



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109715189 B

(45) 授权公告日 2025.01.03

(21) 申请号 201780057896.9

(22) 申请日 2017.07.19

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109715189 A

(43) 申请公布日 2019.05.03

(30) 优先权数据
62/364,381 2016.07.20 US
62/377,072 2016.08.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.03.20

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/042855 2017.07.19

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/017714 EN 2018.01.25

(73) 专利权人 视点制药公司
地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 K·彼得斯 迈克尔·艾伦·弗林

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

专利代理师 王玮玮 郑霞

(51) Int.Cl.
A61K 38/02 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 51/10 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)
C12N 9/96 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)

(56) 对比文件
US 2016082129 A1, 2016.03.24

审查员 姜紫耀

权利要求书1页 说明书51页
序列表54页 附图15页

(54) 发明名称

靶向VE-PTP (HPTP-β) 的人源化单克隆抗体

(57) 摘要

本公开内容提供了用于治疗与血管生成有关的眼部病况的组合物和方法,其包括在受试者中施用靶向酪氨酸磷酸酶抑制剂的抗体。

1 50
(SEQ ID NO: 50) VH0 EVQLVETGGGLVQPKGSKMLSCAASGFTFNANAMNWRQAPGKLEWVAR
(SEQ ID NO: 9) VH1 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNANAMNWRQASGKLEWVGR
(SEQ ID NO: 10) VH2 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFNANAMNWRQAPGKLEWVGR
(SEQ ID NO: 11) VH3 EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCTASGFTFNANAMNWRQAPGKLEWVGR
(SEQ ID NO: 12) VH4 LVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFNANAMNWRQAPGKLEWVSR
51 100
(SEQ ID NO: 50) VH0 IRTKSNVATYYAGSVKDRFTISRDDAKNMLYLQMNDLKTEDTAVYYCVR
(SEQ ID NO: 9) VH1 IRTKSNVATYYAGSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMSLKTEDTAVYYCVR
(SEQ ID NO: 10) VH2 IRTKSNVATYYAGSVKDRFTISRDDSKNLYLQMSLKTEDTAVYYCVR
(SEQ ID NO: 11) VH3 IRTKSNVATYYAGSVKDRFTISRDDSKNLYLQMSLKTEDTAVYYCVR
(SEQ ID NO: 12) VH4 IRTKSNVATYYAGSVKDRFTISRDNKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCVR
101 122
(SEQ ID NO: 50) VH0 DYGSSAWITYWGQGLTVTVSA
(SEQ ID NO: 9) VH1 DYGSSAWITYWGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO: 10) VH2 DYGSSAWITYWGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO: 11) VH3 DYGSSAWITYWGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO: 12) VH4 DYGSSAWITYWGQGLTVTVSS

1. 抗体,其包含:
 - (a) 重链,所述重链包含SEQ ID NO:10或12的序列;以及
 - (b) 轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:20、22和23中任一个的序列。
2. 如权利要求1所述的抗体,其中所述轻链包含SEQ ID NO:20的序列。
3. 如权利要求1所述的抗体,其中所述轻链包含SEQ ID NO:22的序列。
4. 如权利要求1所述的抗体,其中所述轻链包含SEQ ID NO:23的序列。
5. 如权利要求1所述的抗体,其包含:
 - (a) 重链,所述重链包含SEQ ID NO:10的序列;以及
 - (b) 轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:23的序列。
6. 药物组合物,其包含治疗有效量的权利要求1-5中任一项所述的抗体以及药学上可接受的载体。
7. 权利要求1-5中任一项所述的抗体在制备用于治疗有需要的受试者的病况的药物中的应用,其中所述病况是糖尿病视网膜病变、视网膜新血管形成、缺血性视网膜病变、视网膜血管瘤增生、脉络膜新血管形成或湿型年龄相关性黄斑变性。
 8. 如权利要求7所述的应用,其中所述药物配制为向受试者的眼睛给药。
 9. 如权利要求7所述的应用,其中所述药物用于玻璃体内施用。
 10. 如权利要求7所述的应用,其中所述药物用于皮下施用。
 11. 如权利要求7所述的应用,其中所述药物用于局部施用。
 12. 如权利要求7所述的应用,其中所述受试者是人。
 13. 如权利要求7所述的应用,其中所述药物包含为0.25mg至200mg的所述抗体的量。
 14. 如权利要求7所述的应用,其中所述药物包含为1mg/kg至10mg/kg的所述抗体的量。
 15. 如权利要求7所述的应用,其中所述药物包含为1mg至50mg的所述抗体的量。
 16. 如权利要求7所述的应用,其中所述药物包含为50mg至200mg的所述抗体的量。

靶向VE-PTP (HPTP- β)的人源化单克隆抗体

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求于2016年7月20日提交的美国临时申请号62/364,381和于2016年8月19日提交的美国临时申请号62/377,072的权益,上述临时申请中的每一个均通过引用以其全文并入本文。

背景技术

[0003] 产生于非人类生物体的单克隆抗体在施用于人类时可引发免疫应答。这些非人单克隆抗体的区段可通过人源化过程被人源化序列代替,以降低药物免疫原性的可能性,同时保持靶标特异性。

[0004] 援引并入

[0005] 本申请中引用的每个专利、出版物和非专利文献均通过引用以其全文并入于此,如同每一个单独通过引用而并入。

发明内容

[0006] 在一些实施方案中,本发明提供了一种化合物,其包含与SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:12至少80%相同的序列。

[0007] 在一些实施方案中,本发明提供了一种化合物,其包含与SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23至少80%相同的序列。

[0008] 在一些实施方案中,本发明提供了一种化合物,其包含:a)包含与SEQ ID NO:30至少80%相同的序列的重链;和b)包含与SEQ ID NO:34至少80%相同的序列的轻链。

[0009] 在一些实施方案中,本发明提供了一种化合物,其包含:a)包含与SEQ ID NO:29至少80%相同的序列的重链;和b)包含与SEQ ID NO:35至少80%相同的序列的轻链。

[0010] 在一些实施方案中,本发明提供了一种化合物,其包含:a)包含与SEQ ID NO:30至少80%相同的序列的重链;和b)包含与SEQ ID NO:37至少80%相同的序列的轻链。

附图说明

[0011] 图1示出了鼠 V_H 序列(截短的 V_{H0} ;SEQ ID NO:47)与四种人源化变体SEQ ID NO:9 (V_{H1})、SEQ ID NO:10 (V_{H2})、SEQ ID NO:11 (V_{H3})和SEQ ID NO:12 (V_{H4})的序列比对。

[0012] 图2示出了鼠 V_L 序列(截短的 V_{L0} ;SEQ ID NO:48)与四种人源化 V_L 变体SEQ ID NO:20 (V_{L1})、SEQ ID NO:21 (V_{L2})、SEQ ID NO:22 (V_{L3})和SEQ ID NO:23 (V_{L4})的序列比对。

[0013] 图3概述了用于产生抗HPTP- β 胞外域(VE-PTP/HPTP- β ECD)的单克隆抗体的杂交瘤技术。

[0014] 图4图示了R15E6与人内皮细胞中的内源人VE-PTP (HPTP- β)结合的免疫沉淀western印迹(左图)和流式细胞术结果(右图)。

[0015] 图5图示了通过western印迹的R15E6与重组的6-His标记的人VE-PTP (HPTP- β)、食蟹猴PTP- β 和人PTP- η 胞外域蛋白质的结合特异性。

[0016] 图6图示了通过R15E6的Tie2的浓度依赖性磷酸化的western印迹(图A)和定量(图B)以及增强的内皮细胞活力(图C)。

[0017] 图7图示了通过western印迹测定的大鼠抗小鼠VE-PTP单克隆抗体109.1对小鼠内皮细胞中的Tie2(左上图)、小鼠VE-PTP表达(左下图)和Akt(右图)的影响。

[0018] 图8图示了在小鼠内皮细胞中温育1小时(图A)和温育3分钟(图B)后,抗小鼠VE-PTP ECD的多克隆抗体的Tie2激活。

[0019] 图9图示了小鼠VE-PTP ECD多克隆抗体对凝血酶诱导的和VEGF诱导的内皮细胞通透性的体外抑制。

[0020] 图10图示了通过静脉内施用单克隆抗体109.1(图A)和小鼠VE-PTP ECD多克隆抗体(PTP1-8)(图B)对VEGF诱导的皮肤血管通透性的体内抑制,以及来自对照IgG(-)或抗VE-PTP抗体注射的小鼠(+)的肺裂解物的Tie2的免疫沉淀(图C)。

[0021] 图11描绘了眼内施用抗小鼠VE-PTP单克隆抗体109.1后对视网膜新血管形成(图A和图B)和脉络膜新血管形成(图C)的影响。

[0022] 图12示出了眼内施用抗小鼠VE-PTP单克隆抗体109.1后视网膜新血管形成(图A和图B)和脉络膜新血管形成(图C)的平均面积的定量。

[0023] 图13描绘了R15E6的抗人VE-PTP(抗HPTP- β)人源化变体的还原性(图A)和非还原性(图B)SDS-PAGE。

[0024] 图14图示了R15E6的HC1变体和HC0LC0与HPTP- β 的结合。

[0025] 图15图示了R15E6的HC2变体和HC0LC0与HPTP- β 的结合。

[0026] 图16图示了R15E6的HC3变体和HC0LC0与HPTP- β 的结合。

[0027] 图17图示了R15E6的HC4变体和HC0LC0与HPTP- β 的结合。

[0028] 图18图示了通过western印迹测定的各种人源化抗体在Ang1不存在的情况下的Tie2磷酸化(左图)和Akt激活(右图)。

[0029] 图19图示了通过western印迹测定的HC2LC4和HC2LC1在配体不存在的情况下的浓度依赖性Tie2激活(上图)和Akt激活(下图)。

[0030] 图20图示了通过western印迹测定的HC2LC4和HC2LC1在Ang1和Ang2存在的情况下的Tie2磷酸化(左图)和Akt激活(右图)。

[0031] 图21图示了通过western印迹测定的HC2LC4和HC2LC1在Ang1和/或Ang2存在的情况下的Tie2磷酸化(图A)、人VE-PTP(HPTP- β)表达(图B)和Akt激活(图C)。

[0032] 图22图示了通过western印迹测定的单独的HC2LC1和HC2LC1伴随过量重组人VE-PTP胞外域蛋白质(β ECD 6His或 β ECD Fc)的Akt激活。

[0033] 图23图示了与肠胃外抗体(R15E6)和小鼠IgG1对照相比,通过HC2LC1和HC0LC0增强的内皮细胞活力。

[0034] 图24图示了小鼠模型中抗小鼠VE-PTP抗体/阿柏西普联合疗法对于视网膜脱离治疗的增强疗效。

[0035] 图25图示了与施用媒介物相比,皮下施用单克隆抗体109.1减少了小鼠的缺血性新血管形成。

具体实施方式

[0036] 本公开内容提供了用于靶向血管内皮蛋白酪氨酸磷酸酶 (VE-PTP或VEPTP) 或人蛋白酪氨酸磷酸酶- β (HPTP- β) 的组合物和方法,用于治疗特征在于例如血管不稳定、血管生成、新血管形成、血管渗漏和水肿的眼部病症。本文公开的组合物可通过促进蛋白质磷酸化如Tie2蛋白的磷酸化来激活Tie2信号传导。

[0037] VE-PTP是蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTPase) 的受体样家族的成员。VE-PTP是一种主要在血管内皮细胞中发现的跨膜蛋白质,其表现出与细胞粘附分子在结构和功能上的相似性。VE-PTP存在于多种物种中,包括例如斑马鱼、鸡、犬、小鼠、狨猴、猴和人。VE-PTP的人类直系同源物是HPTP- β 。

[0038] Tie2(具有免疫球蛋白和表皮生长因子同源结构域2的酪氨酸激酶)是在整个发育期间主要在血管内皮细胞中表达的膜受体酪氨酸激酶。Tie2磷酸化的主要调节因子是血管生成素1 (Ang1) 和血管生成素2 (Ang2)。Ang1是Tie2的激动剂,并且Ang1与Tie2的结合促进受体磷酸化。Ang2起到Tie2的环境依赖性拮抗剂或激动剂的作用。Ang1与Tie2的结合提高内源Tie2受体磷酸化的水平并启动下游信号传导,以通过高度组织化的血管生成、内皮细胞连接的紧缩(内皮细胞接近)、增强的内皮活力、减少的内皮炎症和改善的内皮功能来诱导血管稳定。在血管生成期间,Ang2充当Ang1-Tie2信号传导的负调节物。

[0039] 在生理条件下,Tie2磷酸化的持续时间受VE-PTP (HPTP- β) 的调节,其从Tie2受体去除磷酸。通过抑制VE-PTP (HPTP- β),Tie2磷酸化的水平大幅增加,从而恢复血管稳定性。VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂,例如与VE-PTP (HPTP- β) 结合的抗体,可通过抑制VE-PTP (HPTP- β) 来激活Tie2下游信号传导。通过抑制剂抑制VE-PTP (HPTP- β) 可在患有本文所述的眼部病症的受试者中提供血管稳定性。

[0040] 本公开内容的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可包括由杂交瘤细胞系ATCC号PTA-7580产生的鼠单克隆抗体R15E6,其对人VE-PTP (HPTP- β) 的胞外域 (SEQ ID NO.45) 具有免疫反应性,对人VE-PTP (HPTP- β) 的第一个FN3重复序列 (SEQ ID NO.46) 具有免疫反应性。VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可包括具有与R15E6相同或基本相同的生物特征的抗体、R15E6的抗体片段(其中该片段包含重链和轻链可变区中的一者或两者)、R15E6的F(ab')₂、Fab、Fv、scFv的二聚体或三聚体、以及衍生自R15E6的双抗体、三抗体或四抗体中。在一些实施方案中,可以分析本文所述的化合物的片段的本文所述的任何生物活性。在一些实施方案中,本文所述的化合物的片段可激活Tie2,或以等效、升高或降低的水平提供相应的完整抗体的生物活性。

[0041] 人VE-PTP (HPTP- β) 的胞外域 (SEQ ID NO:45):

[0042] MLSHGAGLALWITLSLLQTGLAEPERCNFTLAESKASSHSVSIQWRILGSPCNFSLIYSSDTLGAALCP
 TFRIDNTTYGCNLQDLQAGTIYNFRIISLDEERTVVLQTDPLPPARFGVSKEKTTSTSLHVWWTSSGKVTSEYVQL
 FDENNQKIQGVQIQESTSWNEYTFFNLTAGSKYNIAITAVSGGKRSFSVYTNGSTVPSVKDIGISTKANLLISWS
 HGSGNVERYRLMLMDKGILVHGGVVDKHATSIAFHGLTPGYLYNLVMTAAGLQNYRWKLVRTAPMEVSNLKVNTD
 GSLTSLKVKWQRPPGNVDSYNITLSHGKTIKESRVLAPWITETHFKELVPGRLYQVTVSCVSGELSAQKMAVGRTFP
 DKVANLEANNNGRMRSLVVSWSPAGDWEQYRILLFNDSVLLNITVGKEETQYVMDDTGLVPGRQYEVEVIVESGN
 LKNSERCQGRTPPLAVLQLRVKHANETSLSIMWQTPVAWEKYIISLADRLLL IHKSLSKDAKEFTFTDLVPRKY
 MATVTSISGDLKNSSSVKGRTPVAQVTDLHVAHQGMTSSLFTNWTQAQGDVEFYQVLLIHENVV IKNESISSETSR
 SFHSLKSGSLYSVVVTTVSGGISSRQVVVEGRTVPSSVSGVTVNNSGRNDYLSVSWLLAPGDVDNYEVTLSHDGKVV

QSLVIAKSVRECSFSSLTPGRLYTVTITTRSGKYENHSFSQERTVPDKVQGVSVSNSARSVDYLRVSWHATGDFDHY
 EVTIKNNFIQTKSIPKSENECVFVQLVPGRLYSVTVTTKSGQYEANEQNGRTIPEPVKDLTLRNRSTEDLHVTW
 SGANGDVDQYEIQLLFNDMKVFPFHLVNTATEYRFTSLTPGRQYKILVLTISGDVQQSAFIEGFTVPSAVKNIHIS
 PNGATDSLTVNWTGPGGDVDSYTVSAFRHSQKVDSQTI PKHVFEHTFHRLEAGEQYQIMIASVSGSLKNQINVVGR
 VPASVQGVADNAYSSYSLIVSWQKAAGVAERYDILLTENGILLRNTSEPATTKQHKFEDLTPGKYYKIQILTVSG
 GLFSKEAQTEGRTVPAAVTDLRITENSTRHLSFRWTASEGELSWYNIFLYNPDGNLQERAQVDPLVQSFSFQNLQ
 RMYKMVIVTHSGELSNESFIFGRTVPASVSHLRGNSNRNTDSLWFNWPASGDFDFYELILYNPNGTKKENWKDKDL
 TEWRFQGLVPRKYVLWVVTHTSGDLSNKVTAESRTAPSPPSLMSFADIANTSLAITWKGPPDWTDYNDFELQWLPRD
 ALTVPFNPNRNRKSEGRIVYGLRPGRSYQFNVKTVSGDSWKTYSKPIFGSVRTKPKIQNLHCRPQNSTAIACSWIPP
 DSDFDGYSIECRKMDTQEVEFSRKLEKEKSLNIMMLVPHKRYLVS IKVQSAGMTSEVVEDSTITMIDRPPPPPHI
 RVNEKDVLSKSSINFTVNCWFSDTNGAVKYFTVVVREADGSDELKPEQQHPLPSYLEYRHNASIRVYQTNFYASK
 CAENPNSNSKSFNIKLGAEEMSLGGKCDPTQQKFCDGPLKPHYAYRISIRAFQTQLFDEDLKEFTKPLYSDTFFSLPI
 TTESEPLFGAIE

[0043] 人VE-PTP (HPTP- β) 的第一个FN3重复序列 (SEQ ID NO:46) :

[0044] LAEPERCNFTLAESKASSHSVSIQWRILGSPCNFSLIYSSDTLGAALCPTFRIDNTTYGCNLQDLQAGT
 IYNFRIISLDEERTVVLQTD

[0045] 本公开内容的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可包括抗体或抗体片段、其变体或衍生物，单独或与其他氨基酸序列结合。抑制剂可被修饰，例如酶促切割和翻译后修饰。

[0046] 本公开内容的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可与VE-PTP (HPTP- β) 的显性负性同种型结合。在一些实施方案中，该显性负性同种型可对应于能够与内源VE-PTP (HPTP- β) 竞争的磷酸酶活性缺陷的VE-PTP (HPTP- β) 形式。通过递送转基因并测定对Tie2磷酸化的作用，可进行显性阴性VE-PTP (HPTP- β) 的功能评估。

[0047] 本公开内容的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可具有多个VE-PTP (HPTP- β) 结合位点。在一些实施方案中，VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可同时与两个VE-PTP (HPTP- β) 分子结合，从而使该两个VE-PTP (HPTP- β) 分子紧密接近。VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可同时与三个VE-PTP (HPTP- β) 分子结合，从而使该三个VE-PTP (HPTP- β) 分子紧密接近。

[0048] 本公开内容的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可与另一部分或媒介物共价或非共价地缀合。例如，对于该抑制剂，部分或媒介物可抑制降解、增加半衰期、增强吸收、降低毒性、降低免疫原性和/或增加生物活性。该部分的非限制性实例包括免疫球蛋白的Fc结构域，聚合物如聚乙二醇 (PEG)、聚赖氨酸和葡聚糖，脂质，胆固醇类如类固醇，碳水化合物，树状聚体，寡糖和肽。

[0049] 本发明的化合物可用于靶向VE-PTP (HPTP- β) 以恢复Tie2活性并启动下游信号级联，包括例如Akt/PI3-K信号传导、Rac1信号传导、MAPK/Ras信号传导。在一些实施方案中，本发明的化合物可抑制NF- κ B信号传导。Tie2的激活可导致血管稳定，这可有益于治疗糖尿病相关的病况和眼部病况，包括例如视网膜病变、糖尿病视网膜病变、视网膜灌注、眼部新血管形成、眼部血管渗漏、眼部水肿、眼内压、高眼压症、眼部炎症、青光眼和眼部出血。该化合物还可有效治疗外周动脉疾病，包括例如伤口愈合、血流量不稳定、心脏纤维化、勃起功能障碍、心肌病、缺血性损伤、心脏肥大、间质纤维化、肾病、蛋白尿、肾小球硬化、肾纤维化、神经病和神经元炎症。

[0050] 抗体

[0051] 抗体包含两个相同的重链(H)多肽序列和两个相同的轻链(L)多肽序列。每条重链包含一个N末端可变(V_H)区和三个C末端恒定(C_{H1} 、 C_{H2} 和 C_{H3})区。每条轻链包含一个N末端可变(V_L)区和一个C末端恒定(C_L)区。轻链可变区与重链可变区对齐,轻链恒定区与重链恒定区 C_{H1} 对齐。重链可变区和轻链可变区的配对一起形成单个抗原结合位点。每条轻链通过一个共价二硫键与重链连接。根据重链同种型,两条重链通过一个或多个二硫键相互连接。每条重链和轻链还包含规则间隔的链内二硫桥。

[0052] 来自任何脊椎动物物种的轻链可根据恒定区的氨基酸序列被指定为 κ 或 λ 。根据重链恒定区的氨基酸序列,免疫球蛋白可分为五类免疫球蛋白(IgA、IgD、IgE、IgG和IgM),每类免疫球蛋白分别具有称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 的重链。基于重链恒定区的序列和功能的差异, α 和 γ 类进一步分为亚类。由人表达的IgA和IgG的亚类包括IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。

[0053] 可变(V)区包含在抗体之间序列可广泛不同的区段。可变区介导抗原结合并限定特定抗体针对其抗原的特异性。然而,可变性在可变区的跨度上并非均匀分布。相反,可变区由15-30个氨基酸的被称为框架区(FR)的相对不变的片段组成,框架区被各自长度为9-12个氨基酸的被称为高变区的极大变异性的较短区域间隔开。天然重链和轻链的可变区各自包含四个框架区,主要采用f3折叠构型,由三个高变区连接,该高变区形成连接f3折叠构型的环,并且在一些情况下形成f3折叠构型的一部分。每条链中的高变区通过框架区紧密接近保持在一起,并且与来自另一条链的高变区一起有助于形成抗体的抗原结合位点。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合,但表现出各种效应子功能,诸如抗体参与抗体依赖的细胞毒性(ADCC)。

[0054] 高变区可包含来自互补决定区(CDR)的氨基酸残基,例如,轻链可变区中的约残基24-34(L1)、50-56(L2)和89-97(L3)周围,以及重链可变区中的约1-35(H1)、50-65(H2)和95-102(H3)周围,以及/或者来自高变环的残基。

[0055] 单克隆抗体可以从基本上同质的抗体群体获得,即,除了可以以少量存在的可能的天然发生的突变之外,构成该群体的各个抗体是相同的。与包含针对不同表位的不同抗体的多克隆抗体制品相反,每种单克隆抗体针对单一表位。除了特异性之外,单克隆抗体的优点在于每种抗体的合成可不受其他抗体污染。

[0056] 本文使用的单克隆抗体可以是例如嵌合抗体,其中重链和/或轻链的一部分与衍生自特定物种或属于特定抗体种类或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的其余部分与衍生自另一物种或属于另一抗体种类或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,以及这样的抗体的抗原结合片段。

[0057] 抗体片段可包含多聚体抗体的一部分,例如完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的非限制性实例包括Fab、Fab'、 $F(ab')_2$ 、Fab缀合物的二聚体和三聚体、Fv、scFv、微抗体、双抗体、三抗体和四抗体以及线性抗体。

[0058] 表位的非限制性实例包括氨基酸、糖、脂质、磷酸基基团和磺酰基基团。表位可具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特征。表位可以是构象的或线性的。

[0059] 人源化单克隆抗体

[0060] 可以使用多种技术鉴别靶向VE-PTP的合适的抗体。例如,可筛选候选药剂与VE-

PTP的结合。可筛选与VE-PTP结合的药剂的活性,例如对VE-PTP介导的Tie2的去磷酸化的抑制。在一些实施方案中,首先筛选候选药剂在体内的活性。

[0061] 用于鉴别特定抑制剂的合适检测的选择取决于待筛选的候选药剂的性质。例如,在候选物是包含Fc部分的抗体或肽体的情况下,荧光激活细胞分选(FACS)分析允许基于与表达VE-PTP的细胞结合的能力来选择候选药剂。细胞可内源性表达VE-PTP或可以被基因工程化以表达VE-PTP。对于其他候选药剂如适体,可使用其他技术。例如,可使用指数富集的配体系统进化(SELEX)来选择与VE-PTP特异性结合的适体,SELEX通过重复多轮的体外选择来选择特异性适体。

[0062] 可筛选VE-PTP抑制剂的VE-PTP介导的活性,例如,抑制Tie2去磷酸化。在一种基于western印迹的合适的测定中,在存在或不存在多种浓度的候选药剂的情况下在无血清培养基中培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC),制备细胞裂解物,用Tie2抗体免疫沉淀,通过聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)溶解,并转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。然后用抗磷酸酪氨酸抗体对膜结合的免疫沉淀蛋白进行连续western印迹以定量Tie2磷酸化,然后用Tie2抗体进行western印迹以定量总Tie2。Tie2磷酸化表示为抗磷酸酪氨酸信号与总Tie2信号之比。更高水平的抗磷酸酪氨酸信号表明候选药剂对VE-PTP更强的抑制。

[0063] 杂交瘤技术是用于产生大量靶向特定抗原的单克隆抗体的方法。通过用引起免疫应答的抗原注射哺乳动物宿主如小鼠(鼠科动物)或兔来起始杂交瘤发育。宿主中的B淋巴细胞(B细胞)响应于抗原产生与抗原结合的抗体。然后从宿主收获B细胞并与无限增殖B细胞癌细胞(骨髓瘤细胞)融合以产生被称为杂交瘤的杂交细胞系。杂交瘤保留了B细胞的抗体产生能力以及骨髓瘤的超常的寿命和繁殖力。杂交瘤可从一个活的杂交瘤细胞开始在培养基中生长,以产生由遗传上相同的杂交瘤组成的新培养物,所述新培养物转而产生每种培养物一种抗体(单克隆)或不同抗体的混合物(多克隆)。选择在该过程中使用的骨髓瘤细胞系在组织培养中生长的能力和不存在合成抗体的能力。培养后,进行初步筛选过程以鉴别并选择产生具有最高特异性的抗体的杂交瘤。抗体筛选技术的非限制性实例包括ELISA和免疫细胞化学筛选。然后可表征从筛选中鉴别的前导(lead)杂交瘤的反应性、结合亲和力、特异性和交叉反应性。

[0064] 在一些实施方案中,本公开内容的化合物对HPTP- β 的结合亲和力(K_D)为约70pM至约70nM、1nM至约70nM或至少强度如约1nM。在一些实施方案中,本公开内容的化合物对HPTP- β 的结合亲和力(K_D)为约4nM至约70nM。

[0065] 其他重组抗体工程化技术涉及使用病毒或酵母而不是哺乳动物。这些技术依赖于免疫球蛋白基因区段的快速克隆以产生具有略有不同的氨基酸序列的抗体库,从中可以选择具有所需特异性的抗体。抗体库可用于增强对靶抗原的特异性、在各种环境条件下的稳定性、治疗效果和在诊断应用中的可检测性。

[0066] 对于人类施用,可以通过人源化过程进一步优化由非人类物种产生的单克隆抗体,以在降低免疫原性的可能性的同时保持靶标特异性。人源化过程涉及将人DNA掺入产生单独的抗体的基因的基因序列中。然后克隆重组DNA并在细胞中表达,以大规模生产新的人源化抗体。

[0067] 人源化抗体的实例是修饰的嵌合抗体。如上所述产生嵌合抗体。嵌合抗体在CDR外进一步突变,以用同源人序列置换可变区中的非人序列。人源化抗体的另一个实例是CDR移

植的抗体,其中将非人CDR序列引入人抗体支架的人重链和轻链可变序列中以替代相应的人CDR序列。

[0068] 人源化抗体可在哺乳动物细胞、生物反应器或转基因动物如小鼠、鸡、绵羊、山羊、猪和狨猴中产生。转基因动物可具有插入动物基因组中的相当大部分产生人抗体的基因组。

[0069] 完全人单克隆抗体对应于抗原结合残基完全来源于经历过选择的人免疫球蛋白序列或其片段的抗体。在一些实施方案中,该选择可以使用噬菌体展示技术进行,其中一系列可变抗体结构域在丝状噬菌体外壳蛋白上表达并富集以结合靶抗原。在一些实施方案中,该选择可使用转基因动物例如小鼠、大鼠或兔进行,其中整套内源免疫球蛋白基因被整套人免疫球蛋白基因替代。在一些实施方案中,可将整套人免疫球蛋白基因引入动物的基因组中,并在抗体的产生过程中使内源抗体产生变得不足。

[0070] 靶向VE-PTP (HPTP- β) 的人源化单克隆抗体

[0071] 本文所述的靶向VE-PTP (HPTP- β) 的鼠单克隆抗体的人源化过程利用与抗体结构相结合的CDR移植技术和成熟人IgG序列的数据库的组合。人框架序列用作CDR序列的受体框架。这些受体序列均来源于来自人源的成熟人IgG,而不是来自噬菌体展示。

[0072] 为针对人VE-PTP (HPTP- β) 的重组胞外域产生的鼠单克隆抗体的重链和轻链可变结构域设计了四种人源化变体。该设计基于包括同源性、T细胞表位、关键残基和预测结构等因素。

[0073] 使用来自IMGT和Kabat的抗体编号系统鉴别本文公开的序列。这两种编号系统将鼠抗体的不同残基鉴别为属于CDR,并且组合的IMGT/Kabat序列用于CDR环构象的最佳保留。

[0074] 重链序列

[0075] SEQ ID NO:1是靶向人VE-PTP (HPTP- β) 的鼠单克隆抗体R15E6 (V_{H0}) 的 V_H 结构域,其包括鼠信号肽序列(下划线)。SEQ IDNO:47是没有鼠信号肽序列的R15E6的 V_H 结构域的截短序列。SEQ ID NO:2是与R15E6的鼠 V_H 结构域最接近的人类种系基因V区,智人(Homo sapiens)IGHV3-73。SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4分别是智人IGHV3-72和智人IGHV3-48,它们是与SEQ ID NO:2相似的另外的种系V区。SEQ ID NO:1-4的肽序列在表1中示出。

[0076] 表1

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
1	V _{H0}	MDFGLSWVFFVVFYQGVHCEVQLVETGGGLVQPKGS MKLSCAASGFTFNANAMNWIRQAPGKGLEWVARIRTK SNNYATYYAGSVKDRFTISRDDAQNMLYLQMNDLKTE DTAMYYCVRDYYGSSAWITYWGQGLTVTVSA
[0077] 47	截短的 V _{H0}	EVQLVETGGGLVQPKGSMKLSCAASGFTFNANAMNWI RQAPGKGLEWVARIRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISR DAQNMLYLQMNDLKTEDTAMYYCVRDYYGSSAWITY WGQGLTVTVSA
2	IGHV3-73	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSGSAMHWV RQASGKLEWVGRIRSKANSYATAYAASVKGRFTISR DSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR
[0078] 3	IGHV3-72	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMDWV RQAPGKLEWVGRTRNKANSYTTEYAASVKGRFTISR DDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR
4	IGHV3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVR QAPGKLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

[0079] 使用BLAST搜索算法搜索人IgG序列的在线数据库以与鼠V_H结构域进行比较,并且从前200个BLAST结果中选择候选人可变结构域。基于框架同源性、维持框架残基和规范环结构的组合,将并列的人可变结构域减少至四种候选物。表2列出了四种选定的受体框架SEQ ID NO:5-8。SEQ ID NO:5是AEX29600,SEQ ID NO:6是AAC51024,SEQ ID NO:7是AEX29289,并且SEQ ID NO:8是ABA26204。

[0080] 表2

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
5	AEX29600	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSGSAMHWVR QASGKGLEWVGRIRSKANNYATAYAASVKGRFTISRDDS KNTAYLQMNSLKTEDTAAYYCIRDYYGATRQFHWGQ GTLVTVSS
6	AAC51024	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS AASGFTFS DHYMDWVR QAPGKGLEWVGRTRNKANSYTTEYAASVKGRFTISRDDS KNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARYVVGATLDYWGQGT LTVSS
7	AEX29289	EVQLVESGGGLVQGRSLRLSCTASGFSFGDYAMNWVR QAPGKGLEWVGFIRSKTYGGTTEYAASVKGRFTISRDDS KNIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDPADFYSSSGQTGW FDPWGQGT LTVSS
8	ABA26204	LVQLVESGGGLVKPGGSLRLS AASGFTFS DYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTAVHYCARDGYSSSWYVDYWGQGT L V
		TVSS

[0083] 将鼠 V_H 的CDR移植到受体框架 (SEQ ID NO:5-8) 从而将这些序列转化为人源化变体,其在表3中示出。SEQ ID NO:9是 V_{H1} ,SEQ ID NO:10是 V_{H2} ,SEQ ID NO:11是 V_{H3} ,并且SEQ ID NO:12是 V_{H4} 。

[0084] 表3

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
9	V_{H1}	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNANAMNWVRQAS GKGLEWVGRIRTKSN NYATYYAGSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNSLKTEDTAAYYCVRDYYGSSAWITYWGQGT LTVSS
10	V_{H2}	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS AASGFTFNANAMNWVRQAP GKGLEWVGRIRTKSN NYATYYAGSVKDRFTISRDDSKNSLYL QMNSLKTEDTAVYYCVRDYYGSSAWITYWGQGT LTVSS
11	V_{H3}	EVQLVESGGGLVQGRSLRLSCTASGFTFNANAMNWVRQAP GKGLEWVGRIRTKSN NYATYYAGSVKDRFTISRDDSKNIAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRDYYGSSAWITYWGQGT LTVSS
12	V_{H4}	LVQLVESGGGLVKPGGSLRLS AASGFTFNANAMNWIRQAP GKGLEWVSRIRTKSN NYATYYAGSVKDRFTISRDNKNSLYL QMNSLRAEDTAVHYCVRDYYGSSAWITYWGQGT LTVSS

[0086] 图1示出了鼠 V_H 序列(截短的 V_{H0} ;SEQ ID NO:47)与四种人源化变体SEQ ID NO:9(V_{H1})、SEQ ID NO:10(V_{H2})、SEQ ID NO:11(V_{H3})和SEQ ID NO:12(V_{H4})的序列比对。保留了对 V_H/V_K 界面和规范环结构重要的残基。

[0087] 人源化变体与鼠 V_H 的同源性百分比在表4中示出。人源化变体的同源性的排序顺序是 $V_{H2} > V_{H1} > V_{H3} > V_{H4}$ 。

[0088] 表4

人源化变体	相同氨基酸	共有氨基酸
V_{H1} (SEQ ID NO:9)	89.3%	94.3%
V_{H2} (SEQ ID NO:10)	90.2%	96.7%
V_{H3} (SEQ ID NO:11)	87.7%	95.1%
V_{H4} (SEQ ID NO:12)	86.9%	93.4%

[0090] 轻链序列

[0091] 在下表5中,SEQ ID NO:13是R15E6的鼠 V_L 结构域(V_{L0}),其包括鼠信号肽序列(下划线)。SEQ ID NO:48是没有鼠信号肽序列的R15E6的 V_L 结构域的截短序列。SEQ ID NO:14是与R15E6的鼠 V_L 结构域最接近的人类种系基因V区,智人IGKV1-16。SEQ ID NO:15是IGKV4-1,并且与IGKV1-16非常相似。

[0092] 表5

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
13	V_{L0}	<u>MESQTQVFVYMLLWLSGVEGDIVMTQSHKFMSTSVGDR</u> VSITCKASQHVGTAVAWYQQKPDQSPKQLIYWASTRHT GVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPF TFGSGTKLEIK
48	截短的 V_{L0}	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQHVGTAVAWYQQ KPDQSPKQLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTISNV QSEDLADYFCQQYSSYPFTFGSGTKLEIK
14	IGKV1-16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKP GKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPE DFATYYCQYNSYP
15	IGKV4-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFLT TISSLQAEDVAVYYCQYYSTP

[0093] 使用BLAST搜索算法搜索人IgK序列的在线数据库以与鼠 V_L 结构域进行比较,并且从前200个BLAST结果中选择候选人可变结构域。基于框架同源性、维持框架残基和规范环结构的组合,将这些并列的人可变结构域减少至四种候选物。表6列出了四种选定的受体框架。SEQ ID NO:16是AF234256_1,SEQ ID NO:17是AAD03722,SEQ ID NO:18是AAY33352,并且SEQ ID NO:19是AAZ09113。

[0095] 表6

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
16	AF234256_1	DVVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWYQQ RPGKAPKLLIYAASLTQTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL QPEDFATYFCQQLGGYPLTFGGGKLEIK
17	AAD03722	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYL AWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGGGKLEIK
18	AAZ33352	DIQMTQSPFSLASVGDRVTITCRASQGIGSSLAWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYFCLQHHDYPLTFGGGKLEIK
19	AAZ09113	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYL AWYQQKPEQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF LTISSLQAEDVAVYYCQQYYSSPLTFGGGKVEIK

[0097] 将鼠 V_L 的CDR移植到这些受体框架中从而将这些序列转化为人源化变体,其在表7中示出。SEQ ID NO:20是 V_{L1} ,SEQ ID NO:21是 V_{L2} ,SEQ ID NO:22是 V_{L3} ,并且SEQ ID NO:23是 V_{L4} 。

[0098] 表7

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
20	V_{L1}	DVVMTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQHVGTAVAWYQQRPGK APKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYF CQQYSSYPFTFGGGKLEIK
21	V_{L2}	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQHVGTAVAWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRHTGVDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQYSSYPFTFGGKLEIK
22	V_{L3}	DIQMTQSPFSLASVGDRVTITCKASQHVGTAVAWYQQKPGK APKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYF CQQYSSYPFTFGGGKLEIK
23	V_{L4}	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQHVGTAVAWYQQKPEQ PPKLLIYWASTRHTGVDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQYSSYPFTFGGKVEIK

[0101] 图2示出了鼠 V_L 序列(截短的 V_{L0} ;SEQ ID NO:48)与四种人源化变体SEQ ID NO:20(V_{L1})、SEQ ID NO:21(V_{L2})、SEQ IDNO:22(V_{L3})和SEQ ID NO:23(V_{L4})的序列比对。保留了对 V_L/V_K 界面和规范环结构重要的残基。

[0102] 人源化变体与鼠 V_L 的同源性百分比在表8中示出。人源化变体的同源性的排序顺序是 $V_{L3} > V_{L1} > V_{L2} > V_{L4}$ 。

[0103] 表8

人源化变体	同一氨基酸	共有氨基酸
V _{L1} (SEQ ID NO:20)	81.3%	88.8%
V _{L2} (SEQ ID NO:21)	79.4%	88.8%
V _{L3} (SEQ ID NO:22)	82.2%	86.9%
V _{L4} (SEQ ID NO:23)	78.5%	89.7%

[0105] 人源化抗体的设计:4个V_H和4个V_L链的组合

[0106] 如上所述,在IgG4重链的背景下通过将鼠CDR序列移植到合适的人抗体供体序列上来人源化小鼠可变链,以表达完整抗体蛋白。然后对一组全长人源化抗体进行密码子优化以在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系中表达。使用不同的人供体序列为每个可变链设计的四种变体产生用于表达的16种人抗体的基质,其重链和轻链配对在表9中示出。产生具有移植到人IgG4恒定结构域的完整小鼠可变结构域(V_{H0}-V_{L0})的嵌合变体作为结合和功能测定中的阳性对照。

[0107] 表9

V _{H1} -V _{L1}	SEQ ID NO:9-SEQ ID NO:20	V _{H3} -V _{L1}	SEQ ID NO:11-SEQ ID NO:20
V _{H1} -V _{L2}	SEQ ID NO:9-SEQ ID NO:21	V _{H3} -V _{L2}	SEQ ID NO:11-SEQ ID NO:21
V _{H1} -V _{L3}	SEQ ID NO:9-SEQ ID NO:22	V _{H3} -V _{L3}	SEQ ID NO:11-SEQ ID NO:22
V _{H1} -V _{L4}	SEQ ID NO:9-SEQ ID NO:23	V _{H3} -V _{L4}	SEQ ID NO:11-SEQ ID NO:23
V _{H2} -V _{L1}	SEQ ID NO:10-SEQ ID NO:20	V _{H4} -V _{L1}	SEQ ID NO:12-SEQ ID NO:20
V _{H2} -V _{L2}	SEQ ID NO:10-SEQ ID NO:21	V _{H4} -V _{L2}	SEQ ID NO:12-SEQ ID NO:21
V _{H2} -V _{L3}	SEQ ID NO:10-SEQ ID NO:22	V _{H4} -V _{L3}	SEQ ID NO:12-SEQ ID NO:22
V _{H2} -V _{L4}	SEQ ID NO:10-SEQ ID NO:23	V _{H4} -V _{L4}	SEQ ID NO:12-SEQ ID NO:23

[0109] T细胞表位筛选

[0110] 重链

[0111] 肽序列在MHC II类分子的沟中的呈递引起CD8+T细胞的活化和免疫原性应答。为了减少这种应答,可设计治疗性蛋白质以避免掺入能够通过降低与MHC II类分子结合的亲合力来活化T细胞的T细胞表位。

[0112] 筛选针对MHC II结合肽的鼠抗体V_H和V_L以及人源化变体序列,以使用计算机(in silico)算法确定人源化过程已经去除了具有高亲和力的肽序列。表10示出了筛选结果,高亲合力T细胞表位核心用粗体表示(IC₅₀<50nM)。还分析了人种系序列ICHV3-73、ICHV3-72和ICHV3-48用于比较。存在于种系序列中并且在人源化变体中匹配的任何潜在T细胞表位用斜体表示。CDR用下划线表示。

[0113] 表10

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
2	IGHV3-73	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSGSAMHWVR QASGKGLEWVGRIRSKANSYATAYAASVKGRFTISRDDSK NTAYLQMN SLK TEDTAVYYC TR
3	IGHV3-72	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDHYMDWVR QAPGKGLEWVGRTRNKANSYTTEYAASVKGRFTISRDDSK NSLYLQMN SLK TEDTAVYYC AR
4	IGHV3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYSMNWVR QAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLY LQMN SLRAEDTAVYYCAR
47	截短的 V _{H0}	EVQLVETGGGLVQPKGSMKLS CAASGFTFNANAMNWIR QAPGKGLEWVAR IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDD AQNMLYLQMNDLK TEDTAMYYC VRDYYGSSAWITY WGQGLTVTSA
9	V _{H1}	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNANAMNWVR QASGKGLEWVGR IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMN SLK TEDTAAYYC VRDYYGSSAWITYWGQG TLVTVSS
10	V _{H2}	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFNANAMNWVR QAPGKGLEWVGR IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDDS KNSLYLQMN SLK TEDTAVYYC VRDYYGSSAWITYWGQG TLVTVSS
11	V _{H3}	EVQLVESGGGLVQGRSLRLS CTASGFTFNANAMNWVR QAPGKGLEWVGR IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDDS KNIAYLQMN SLK TEDTAVYYC VRDYYGSSAWITYWGQG TLVTVSS
12	V _{H4}	LVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFNANAMNWIR QAPGKGLEWVSR IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDN A KNSLYLQMN SLRAEDTAVHYCVRDYYGSSAWITYWGQG TLVTVSS

[0114]

[0115] 轻链序列

[0116] 表11示出了筛选结果,高亲和力T细胞表位核心用粗体表示(IC₅₀<50nM)。还分析了人种系序列IGKV1-16和IGKV4-1用于比较,存在于种系序列中并且在人源化变体中匹配的任何潜在T细胞表位用斜体表示。CDR用下划线表示。

[0117] 表11

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
14	IGKV1-16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPG KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSYP
15	IGKV4-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFLTI SSLQAE DVAVYYCQQYYSTP
48	截短的 V _{L0}	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQHVGTAVAWYQQK PDQSPKQLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQS EDLADYFCQQYSSYPFTFGSGTKLEIK
20	V _{L1}	DVVM TQSPSFLSASVGDRVTITCKASQHVGTAVAWYQQ RPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQP EDFATYFCQQYSSYPFTFGGGTKLEIK
21	V _{L2}	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQHVGTAVAWYQQK PGQPPKLLIYWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAE DVAVYYCQQYSSYPFTFGQGTKLEIK
22	V _{L3}	DIQMTQSPFSLASVGDRVTITCKASQHVGTAVAWYQQK GKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFLTISSLQPE DFATYFCQQYSSYPFTFGGGTKLEIK
23	V _{L4}	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQHVGTAVAWYQQK PEQPPKLLIYWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAE DVAVYYCQQYSSYPFTFGGGTKVEIK

[0119] 鼠V_{L0}在轻链的CDR3/框架区4内含有T细胞表位,其不存在于3种人源化变体中。

[0120] 翻译后修饰

[0121] Fv糖基化

[0122] N连接的糖基化基序是NXS/T,其中X是除脯氨酸外的任何氨基酸。该基序不存在于R15E6 V_H或V_L的鼠或人源化变体中。

[0123] 脱酰胺作用

[0124] 氨基酸基序SNG、ENN、LNG和LNN可易于发生天冬酰胺的脱酰胺作用以提供天冬氨酸。这四种基序都不存在于R15E6 V_H或V_L的鼠或人源化变体中。

[0125] 信号肽

[0126] 鼠抗体信号肽可导致在CHO细胞中更高水平的表达。以下信号肽可掺入人源化变体中。

[0127] 重链信号肽(SEQ ID NO:24):MGWTLVFLFLLSVTAGVHS

[0128] 轻链信号肽(SEQ ID NO:25):MVSSAQFLGLLLLCFQGTRC

[0129] 每个V_H结构域都可用具有稳定的S228P突变的人IgG4同种型恒定结构域序列框内

合成。可对整个重链序列进行密码子优化,并且可验证DNA序列。具有S228P突变的IgG4恒定结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:26)是:ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK。

[0130] 每个V_L结构域可用人IgK同种型恒定结构域序列框内合成。可以整个轻链序列进行密码子优化,并且可验证DNA序列。IgK恒定结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:27)是:TVA APSVFIFFPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC。

[0131] 每种变体链均可通过DNA测序分析进行验证。然后,可继续进行瞬时转染和每种人源化抗体的表达。一种嵌合抗体可被表达用作阳性对照,并且可具有鼠可变结构域、人Ig恒定结构域。16种人源化变体仅具有人源化可变结构域和人Ig恒定结构域。表12示出了重链和轻链配对,其提供了具有人源化可变结构域和人Ig恒定结构域的16种人源化变体。

[0132] 表12

	嵌合抗体	HC0-LC0			
[0133]	人源化变体	HC1-LC1	HC1-LC2	HC1-LC3	HC1-LC4
		HC2-LC1	HC2-LC2	HC2-LC3	HC2-LC4
		HC3-LC1	HC3-LC2	HC3-LC3	HC3-LC4
		HC4-LC1	HC4-LC2	HC4-LC3	HC4-LC4

[0134] 表13和表14列出了每种人源化重链和轻链的完整氨基酸序列。

[0135] 表13

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
28	HC0	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVETGGGLVQPKGSMKLSCA ASGFTFNANAMNWIRQAPGKGLEWVARIRTKSNNYATYYAGS VKDRFTISRDDAQNMLYLQMNDLKTEDTAMYYCVRDYYGSS AWITYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
29	HC1	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNANAMNWVRQASGKGLEWVGRIRTKSNNYATYYAG SVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAAYYCVRDYYGSS AWITYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL

[0137]

		VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
30	HC2	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNANAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRTKSNNYATYYAG SVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRDYYGSS AWITYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
31	HC3	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCT ASGFTFNANAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRTKSNNYATYYAG SVKDRFTISRDDSKNIAIYLMNSLKTEDTAVYYCVRDYYGSSA WITYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
32	HC4	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSLVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFNANAMNWIRQAPGKGLEWVSRIRTKSNNYATYYAGS VKDRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVHYCVRDYYGSSA WITYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV

[0138]

		KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
--	--	--

[0139] 表14

[0140]

SEQ ID NO:	名称	氨基酸序列
33	LC0	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSI TCKASQHVGTAVAWYQQKPDQSPKQLIYWASTRHTGVPDR FTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPFTFGSGTK LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
34	LC1	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDVVMQSPSFLSASVGDRVTIT CKASQHVGTAVAWYQQRPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRF SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYFCQQYSSYPFTFGGGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
35	LC2	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CKASQHVGTAVAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRHTGVPDRF SGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVYYCQQYSSYPFTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
36	LC3	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQSPFSLSASVGDRVTIT CKASQHVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRF SGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYFCQQYSSYPFTFGGGTKLE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ

		WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLISKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
[0141]	37 LC4	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CKASQHVGTAVAWYQQKPEQPPKLLIYWASTRHTGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYSSYPFTFGGGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLISKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0142] 靶序列可与本文提供的氨基酸序列具有至少约80%同源性、至少约81%同源性、至少约82%同源性、至少约83%同源性、至少约84%同源性、至少约85%同源性、至少约86%同源性、至少约87%同源性、至少约88%同源性、至少约89%同源性、至少约90%同源性、至少约91%同源性、至少约92%同源性、至少约93%同源性、至少约94%同源性、至少约95%同源性、至少约96%同源性、至少约97%同源性、至少约98%同源性、至少约99%同源性、至少约99.1%同源性、至少约99.2%同源性、至少约99.3%同源性、至少约99.4%同源性、至少约99.5%同源性、至少约99.6%同源性、至少约99.7%同源性、至少约99.8%同源性、至少约99.9%同源性、至少约99.91%同源性、至少约99.92%同源性、至少约99.93%同源性、至少约99.94%同源性、至少约99.95%同源性、至少约99.96%同源性、至少约99.97%同源性、至少约99.98%同源性或至少约99.99%同源性。

[0143] 可使用各种方法和软件程序来确定两种或更多种肽或核酸之间的同源性,如NCBI BLAST、Clustal W、MAFFT、Clustal Omega、AlignMe、Praline或者另外的合适的方法或算法。

[0144] 药物组合物

[0145] 本发明的药物组合物可以是本文所述的任何药物化合物与其它化学组分如载体、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂的组合。该药物组合物有助于向生物体施用化合物。药物组合物可通过各种形式和途径作为药物组合物以治疗有效量施用,该途径包括例如,静脉内、肌肉内、口服、肠胃外、眼用和局部给药。

[0146] 药物组合物可通过任何合适的形式或途径施用于眼睛,包括例如局部、口服、全身、玻璃体内、房内、结膜下、眼球筋膜下、眼球后、眼内、近巩膜后、眼周、视网膜下和脉络膜上给药。组合物可通过将制剂注射到包括前房、后房、玻璃体房(玻璃体内)、视网膜本身和/或视网膜下空间在内的眼睛的任何部位中来施用。组合物可通过非侵入性方法递送。施用制剂的非侵入性模式可包括使用无针注射装置。可采用多种给药途径以有效递送药物组合物。

[0147] 药物组合物可靶向任何合适的细胞,包括例如内皮细胞如血管内皮细胞、视网膜细胞如视网膜色素上皮细胞(RPE)、角膜细胞、纤维母细胞、星形胶质细胞、神经胶质细胞、周细胞、虹膜上皮细胞、神经源性细胞、睫状上皮细胞、Müller细胞、眼周围和附着的肌细胞如外直肌细胞、眼眶脂肪细胞、巩膜和巩膜外层细胞、小梁网细胞以及结缔组织细胞。

[0148] 药物组合物可以以局部的方式,例如,经由将化合物直接注射至器官内,任选以储库或持续释放制剂或植入物的形式给药。药物组合物可以以快速释放制剂的形式、以延长

释放制剂的形式或者以中速释放制剂的形式提供。快速释放形式可提供立即释放。延长释放制剂可提供控制释放或持续的延迟释放。

[0149] 用于给药的药物制剂可包括水溶性形式的活性化合物的水溶液。活性化合物的悬浮液可制备成油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或媒介物包括脂肪油如芝麻油,或合成脂肪酸酯如油酸乙酯或甘油三酯,或脂质体。水性注射悬浮液可以含有增加悬浮液的粘度的物质,如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。该悬浮液还可以含有合适的稳定剂或增加化合物的溶解度的试剂以允许制备高度浓缩的溶液。或者,活性成分可以是粉末形式,以供使用之前用合适的媒介物如无菌无热原水重建。

[0150] 在实施本文所提供的治疗或使用方法时,治疗有效量的本文所述化合物以药物组合物的形式向患有待治疗的疾病或病症的受试者施用。在一些实施方案中,该受试者是哺乳动物,诸如人类。治疗有效量可以根据受试者的疾病的严重程度、年龄和相对健康状况、所用化合物的效力以及其它因素而变化很大。

[0151] 在一些实施方案中,本文所述的化合物可单独使用或作为混合物的组分与一种或多种治疗剂联合使用。例如,本公开内容的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂可与抗体例如抗VEGF剂共同配制或共同施用。抗VEGF剂可以是化合物、抗体或者其抗体片段、变体或衍生物。抗VEGF剂的非限制性实例包括贝伐珠单抗 (Avastin®)、雷珠单抗 (Lucentis®) 和阿柏西普 (Eylea®)。在一些实施方案中,本文所述的化合物可在用抗VEGF剂治疗之前、期间或之后使用。

[0152] 药物组合物可以使用一种或多种包含赋形剂和助剂的生理学上可接受的载体进行配制,该载体促进活性化合物加工成可药用的制剂。配制可根据所选的给药途径而改变。包含本文所述化合物的药物组合物可以通过例如,混合、溶解、乳化、包封、包埋或压缩工艺来制备。

[0153] 药物组合物可包含至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂以及作为游离碱或药学上可接受的盐形式的本文所述的化合物。药物组合物可含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲液和防腐剂。

[0154] 包含本文所述化合物的组合物的制备方法包括将所述化合物与一种或多种惰性的、药学上可接受的赋形剂或载体一起配制以形成固体、半固体或液体组合物。固体组合物包括例如,粉末、片剂、可分散颗粒、胶囊和扁囊剂。液体组合物包括例如,化合物溶解在其中的溶液、包含化合物的乳液,或者含有包含如本文所公开的化合物的脂质体、胶束或纳米颗粒的溶液。半固体组合物包括例如,凝胶、悬浮液和乳膏。该组合物可以是液体溶液或悬浮液、适用于在使用前溶解或悬浮在液体中的固体形式,或作为乳液。这些组合物也可含有少量的无毒辅助物质,诸如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂以及其它药学上可接受的添加剂。

[0155] 适用于本发明的剂型的非限制性实例包括液体、粉末、凝胶、纳米悬浮液、纳米颗粒、微凝胶、水性或油性悬浮液、乳液及其任意组合。

[0156] 适用于本发明的药学上可接受的赋形剂的非限制性实例包括结合剂、崩解剂、抗粘剂、抗静电剂、表面活性剂、抗氧化剂、涂层剂、着色剂、增塑剂、防腐剂、悬浮剂、乳化剂、抗微生物剂、滚圆剂及其任意组合。

[0157] 本发明的组合物可以是例如,速释形式或控释制剂。速释制剂可被配制成允许化

合物迅速起作用。速释制剂的非限制性实例包括容易溶解的制剂。控释制剂可以是这样一种药物制剂,其已经调节以使得活性剂的释放速率和释放曲线能够与生理要求和长期治疗要求相匹配,或者已被配制成实现活性剂以程序化速率的释放。控释制剂的非限制性实例包括颗粒、延迟释放颗粒、水凝胶(例如,合成或天然来源的)、其它胶凝剂(例如,形成凝胶的膳食纤维)、基于基质的制剂(例如,包含具有至少一种分散于其中的活性成分的聚合物材料的制剂)、基质内的颗粒、聚合物混合物和粒状物质。

[0158] 在一些实施方案中,控释制剂是延迟释放形式。延迟释放形式可被配制成延迟化合物的作用达延长的一段时间。延迟释放形式可被配制成延迟有效剂量的一种或多种化合物的释放,例如,达约4、约8、约12、约16或约24小时。

[0159] 控释制剂可以是持续释放形式。持续释放形式可被配制成在延长的一段时间内维持例如化合物的作用。持续释放形式可以被配制成在约4、约8、约12、约16或约24小时内提供有效剂量的本文所述的任何化合物(例如,提供生理学上有效的血液曲线)。

[0160] 所公开的组合物可任选地包含药学上可接受的防腐剂。

[0161] 药学上可接受的赋形剂的非限制实例可见于例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy,第19版(Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H. A. 和 Lachman, L. 编著, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N. Y., 1980; 以及 Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 第7版 (Lippincott Williams & Wilkins 1999), 其各自通过引用以其全文并入本文。

[0162] 本文所述的化合物可方便地配制成由一种或多种药学上可接受的载体组成的药物组合物。参见例如, Remington's Pharmaceutical Sciences, 最新版, E. W. Martin Mack Pub. Co., Easton, PA, 通过引用以其全文并入, 其公开了典型的载体和制备药物组合物的常规方法。这样的载体可以是用于向人类和非人类施用组合物的载体, 包括溶液如无菌水、盐水, 以及生理pH下的缓冲溶液。药物组合物还可包含一种或多种另外的活性成分, 诸如抗微生物剂、抗炎剂和麻醉剂。

[0163] 药学上可接受的载体的非限制性实例包括盐水、林格溶液和右旋糖溶液。在一些实施方案中, 溶液的pH值可以是约5至约8, 并且可以是约7至约7.5。另外的载体包括持续释放制剂, 诸如包含该化合物的固体疏水聚合物的半透性基质。该基质可以是成形制品, 例如膜、脂质体、微粒或微胶囊的形式。

[0164] 所公开的方法涉及作为药物组合物的一部分施用靶向VE-PTP (HPTP- β) 的抗体。可使用适合于局部给药的组合物。在一些实施方案中, 本发明的组合物可包含液体, 该液体包含在溶液、悬浮液或两者中的活性剂。液体组合物可包括凝胶。液体组合物可以是例如水性的。组合物是原位可胶凝的水性组合物。在重复(iteration)中, 该组合物是原位可胶凝的水溶液。这样的组合物可包含在与眼睛接触或与眼睛外部的泪液接触时处于有效促进胶凝的浓度的胶凝剂。水性组合物可具有眼相容的pH和重量摩尔渗透压浓度(osmolality)。该组合物可以包括眼用储库制剂, 其包含用于结膜下施用的活性剂。包含活性剂的微粒可以包埋于生物相容的药学上可接受的聚合物中或脂质包封剂中。所述储库制剂可适合于在延长的一段时间内释放所有或基本上所有的活性物质。聚合物或脂质基质(如果存在)可适合

于在释放所有或基本上所有的活性剂后充分降解以从施用部位转移。所述储库制剂可以是包含药学上可接受的聚合物以及溶解或分散的活性剂的液体制剂。在注射时,该聚合物通过例如胶凝或沉淀而在注射部位形成储库。该组合物可包括固体制剂,该固体制剂可插入眼睛中的合适位置,如眼睛与眼睑之间或结膜囊中,在该处制品释放活性剂。适合以这样的方式植入眼睛中的固体制剂可包含聚合物,并且可以是可生物降解的或不可生物降解的。

[0165] 除了本文公开的药剂外,药物制剂还可包含另外的载体,以及增稠剂、稀释剂、缓冲液、防腐剂和表面活性剂。

[0166] 所公开的组合物的pH在约3至约12的范围内。组合物的pH可为例如,约3至约4、约4至约5、约5至约6、约6至约7、约7至约8、约8至约9、约9至约10、约10至约11或约11至约12的pH单位。组合物的pH可为例如,约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11或12的pH单位。组合物的pH可为例如,至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11或至少12的pH单位。组合物的pH可为例如,至多3、至多4、至多5、至多6、至多7、至多8、至多9、至多10、至多11或至多12的pH单位。如果pH在配制者所需的范围之外,则可以通过使用足够的药学上可接受的酸和碱来调节pH。

[0167] 根据预期给药模式,该药物组合物可以是固体、半固体或液体剂型的形式,例如,片剂、栓剂、丸剂、胶囊、粉末、液体、悬浮液、洗剂、乳膏或凝胶,例如,适合于单次施用精确剂量的单位剂型的形式。

[0168] 对于固体组合物,无毒固体载体包括例如药用级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖和碳酸镁。

[0169] 适合与本公开内容的组合物联合的药物活性剂的非限制性实例包括抗感染药(即氨基糖苷类)、抗病毒剂、抗微生物剂、抗胆碱能药/抗痉挛药、抗糖尿病剂、抗高血压剂、抗肿瘤药、心血管药剂、中枢神经系统药剂、凝血调节剂、激素、免疫药剂、免疫抑制剂和眼用制剂。

[0170] 在一些实施方案中,本文提供的药物组合物包含治疗有效量的化合物与药学上可接受的载体和/或赋形剂的混合物,该药学上可接受的载体和/或赋形剂例如盐水、磷酸缓冲液、磷酸盐和氨基酸、聚合物、多元醇、糖、缓冲液、防腐剂和其他蛋白质。示例性药剂包括辛基苯氧基聚乙氧基乙醇化合物、聚乙二醇单硬脂酸酯化合物、聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯、蔗糖、果糖、右旋糖、麦芽糖、葡萄糖、甘露醇、葡聚糖、山梨糖醇、肌醇、半乳糖醇、木糖醇、乳糖、海藻糖、牛或人血清白蛋白、柠檬酸盐、醋酸盐、林格溶液和汉克溶液、半胱氨酸、精氨酸、肉碱、丙氨酸、甘氨酸、赖氨酸、缬氨酸、亮氨酸、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯和乙二醇。

[0171] 施用方法和治疗方法

[0172] 本文所述的药物组合物可以为了预防性和/或治疗性处理而施用。在治疗性应用中,该组合物可以以足以治愈或至少部分阻止疾病或病况的症状的量,或以治愈、痊愈、改善或减轻病况的量施用于已经罹患该疾病或病况的受试者。也可以施用组合物来减小病况发生、感染或恶化的可能性。对于这种用途有效的量可以根据疾病或病况的严重程度和进程、既往疗法、受试者的健康状态、体重和对药物的响应以及治疗医师的判断而改变。

[0173] 多种治疗剂可以以任意顺序施用或同时地施用。如果同时施用,多种治疗剂可以以单一的统一的形式或以多种形式(例如,作为多个分开的药丸)提供。可将药剂一起或分

开包装在单个包装或多个包装中。一种或所有治疗剂可以以多个剂量给予。如果不是同时施用,则多次给药之间的时间选择可有至多约一个月的变化。

[0174] 本文所述的治疗剂可以在疾病或病况出现之前、期间或之后施用,并且施用含有治疗剂的组合物的时间选择可以变化。例如,该组合物可以用作预防剂,并且可以连续地施用于易患病况或疾病的受试者以减小该疾病或病况发生的可能性。该组合物可以在症状发生期间或发生后尽早施用于受试者。治疗剂的施用可以在症状发作的前48小时内、症状发作的前24小时内、症状发作的前6小时内或症状发作的3小时内开始。初始施用可以通过任何实用的途径,诸如通过本文所述的任何途径,使用本文所述的任何制剂来进行。在检测到或怀疑疾病或病况的发作后,一旦治疗剂可用就可以立即施用,并持续治疗该疾病所需的时间长度,例如,约1个月至约3个月。对于每个受试者,治疗的长度可以不同。

[0175] 本文所述的药物组合物可以是适合于单次施用精确剂量的单位剂型。在单位剂型中,制剂被分成含有适量的一种或多种化合物的单位剂量。该单位剂量可以是含有离散量的制剂的包装的形式。非限制性实例是包装的注射剂、小瓶或安瓿。水性悬浮液组合物可以被包装在不可重新密封的单次剂量容器中。可以使用可重新密封的多次剂量容器,例如,与或者不与防腐剂组合。用于注射的制剂可以呈现为单位剂型,例如在安瓿中,或者在含有防腐剂的多次剂量容器中。

[0176] 本文提供的药物组合物可以与其他治疗联合施用,例如化疗、放射、手术、抗炎剂和选定的维生素。其他药剂可以在药物组合物之前、之后或同时施用。

[0177] 剂量

[0178] 所述VE-PTP (HPTP- β) 抗体可以以接受试者重量计约0.01mg/kg至约50mg/kg、约0.1mg/kg至约10mg/kg、约1mg/kg至约10mg/kg、约5mg/kg至约10mg/kg、约1mg/kg至约5mg/kg或约3mg/kg至约7mg/kg的剂量施用。

[0179] 所述VE-PTP (HPTP- β) 抗体可以以任何期望的间隔施用。化合物的施用可具有无规律的给药时间表,以适合施用化合物的人或接受化合物的受试者。例如,化合物可每周1次、每周2次、每周3次、每周4次、每周6次、每周6次、每周7次、每周8次、每周9次或每周10次施用。每日给药间隔可以是任何以小时计的间隔,例如,每小时、每2小时、每3小时、每4小时、每5小时、每6小时、每7小时、每8小时、每9小时、每10小时、每11小时或每12小时。施用VE-PTP (HPTP- β) 抗体的给药方案包括但不限于每日一次、每周三次、每周两次、每周一次、每月三次、每月两次、每月一次、每两月一次、每年一次、每年两次、每年三次或每年四次。在一些实施方案中,VE-PTP (HPTP- β) 抗体可以每隔一周施用。

[0180] 此外,施用的VE-PTP (HPTP- β) 抗体的量在各剂量中可以是相同的量,或者该剂量可在剂量之间有所不同。例如,在早上给予第一量而在晚上施用第二量。施用剂量可根据抗VEGF施用的时间表而变化。

[0181] 所述抗VE-PTP抗体可以与任何抗VEGF剂以任何组合联合施用,例如,已在治疗开始时,在治疗期间的任何时间或在治疗后的任何时间进行了与抗VEGF剂的联合施用。此外,VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂的剂量可以在治疗期间调整。而且,抗VEGF剂的量可以在治疗期间调整。

[0182] VEGF调节剂的进一步的非限制性实例包括非炎性剂,例如地塞米松、氟轻松和曲安西龙。此外,所公开的方法可包括递送抗VEGF剂的植入物。例如,VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂

可在向患有本文所述的疾病或病况的受试者提供植入物之前、期间或之后共同施用。

[0183] 抗VEGF治疗可以例如每月一次、每3个月一次、每6个月一次或每年一次实施,其中VE-PTP(HPTP- β)抑制剂以治疗之间的任何频率施用。

[0184] 本文还公开了用于治疗如本文公开的疾病或病况的方法。该方法包括向受试者施用:

[0185] a) 治疗有效量的VE-PTP(HPTP- β)抑制剂;和

[0186] b) 治疗有效量的抗VEGF剂;

[0187] 其中VE-PTP(HPTP- β)抑制剂和抗VEGF剂的施用可以以施用者期望任何方式进行,例如,如本文进一步描述的。

[0188] VE-PTP(HPTP- β)结合剂或抗VEGF剂可以以任何必需或方便的量施用。例如,本文所述的化合物可通过任何给药途径以每剂量约0.1mg至约300mg、约0.1mg至约200mg、约0.1mg至约100mg、约0.05mg至约1.5mg、0.1mg至约1.5mg、约0.05mg至约1mg或约0.1mg至约1mg、约0.05mg、约0.06mg、约0.07mg、约0.08mg、约0.09mg、约0.1mg、约0.11mg、约0.12mg、约0.13mg、约0.14mg、约0.15mg、约0.16mg、约0.17mg、约0.18mg、约0.19mg、约0.2mg、约0.21mg、约0.22mg、约0.23mg、约0.24mg、约0.25mg、约0.26mg、约0.27mg、约0.28mg、约0.29mg、约0.3mg、约0.31mg、约0.32mg、约0.33mg、约0.34mg、约0.35mg、约0.36mg、约0.37mg、约0.38mg、约0.39mg、约0.4mg、约0.41mg、约0.42mg、约0.43mg、约0.44mg、约0.45mg、约0.46mg、约0.47mg、约0.48mg、约0.49mg、约0.5mg、约0.51mg、约0.52mg、约0.53mg、约0.54mg、约0.55mg、约0.56mg、约0.57mg、约0.58mg、约0.59mg、约0.6mg、约0.61mg、约0.62mg、约0.63mg、约0.64mg、约0.65mg、约0.66mg、约0.67mg、约0.68mg、约0.69mg、约0.7mg、约0.71mg、约0.72mg、约0.73mg、约0.74mg、约0.75mg、约0.76mg、约0.77mg、约0.78mg、约0.79mg、约0.8mg、约0.81mg、约0.82mg、约0.83mg、约0.84mg、约0.85mg、约0.86mg、约0.87mg、约0.88mg、约0.89mg、约0.9mg、约0.91mg、约0.92mg、约0.93mg、约0.94mg、约0.95mg、约0.96mg、约0.97mg、约0.98mg、约0.99mg、约1mg、约1.5mg、约2mg、约2.5mg、约3mg、约3.5mg、约4mg、约4.5mg、约5mg、约5.5mg、约6mg、约6.5mg、约7mg、约7.5mg、约8mg、约8.5mg、约9mg、约9.5mg、约10mg、约15mg、约20mg、约25mg、约30mg、约35mg、约40mg、约45mg、约50mg、约55mg、约60mg、约65mg、约70mg、约75mg、约80mg、约85mg、约90mg、约95mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg、约150mg、约160mg、约170mg、约180mg、约190mg、约200mg、约210mg、约220mg、约230mg、约240mg、约250mg、约260mg、约270mg、约280mg、约290mg或约300mg的量施用于受试者。

[0189] 眼内递送

[0190] 本文公开了将本发明的组合物眼内递送于患有如本文公开的疾病或病况的受试者的方法。递送方法可包括用于将组合物直接递送至眼细胞的侵入性方法。在一些实施方案中,包含抗体的液体药物组合物经由视网膜下注射递送。在一些实施方案中,包含抗体的液体药物组合物经由玻璃体内或皮下注射递送。在一些实施方案中,包含抗体的液体药物组合物经由房内注射递送。在一些实施方案中,组合物经由多种给药途径例如视网膜下和/或玻璃体内来递送,以提高抗体递送的效率。在一些实施方案中,视网膜下和/或玻璃体内注射在玻璃体切除术之前进行。

[0191] 眼内注射可在任何时间间隔内进行,以提高递送效率以及/或者最小化或避免对

周围组织的损伤。眼内注射的时间间隔可以是例如,约1分钟至约60分钟、约1分钟至约5分钟、约5分钟至约10分钟、约10分钟至约15分钟、约15分钟至约20分钟、约20分钟至约25分钟、约25分钟至约30分钟、约30分钟至约35分钟、约35分钟至约40分钟、约40分钟至约45分钟、约45分钟至约50分钟、约50分钟至约55分钟或约55分钟至约60分钟。

[0192] 眼内注射可以以任何速率进行。眼内注射的速率可以是例如,约1 μ L/min至约200 μ L/min、约1 μ L/min至约10 μ L/min、约10 μ L/min至约20 μ L/min、约20 μ L/min至约30 μ L/min、约30 μ L/min至约40 μ L/min、约40 μ L/min至约50 μ L/min、约50 μ L/min至约60 μ L/min、约60 μ L/min至约70 μ L/min、约70 μ L/min至约80 μ L/min、约80 μ L/min至约90 μ L/min、约90 μ L/min至约100 μ L/min、约100 μ L/min至约110 μ L/min、约110 μ L/min至约120 μ L/min、约120 μ L/min至约130 μ L/min、约130 μ L/min至约140 μ L/min、约140 μ L/min至约150 μ L/min、约150 μ L/min至约160 μ L/min、约160 μ L/min至约170 μ L/min、约170 μ L/min至约180 μ L/min、约180 μ L/min至约190 μ L/min或约190 μ L/min至约200 μ L/min。

[0193] 试剂盒

[0194] 本文公开内容进一步涉及含有本公开内容的组合物的试剂盒。试剂盒可包含:

[0195] A) 包含靶向VE-PTP (HPTP- β) 的抗体的组合物;和

[0196] B) 用于将组合物递送至受试者的载体。

[0197] 试剂盒可被改进以适应针对被治疗的受试者开出的给药方案。以下是用于由通过眼内注射接受本公开内容的组合物的受试者使用的试剂盒的非限制性实例:

[0198] A) 水性组合物,含有:

[0199] a) 靶向VE-PTP (HPTP- β) 胞外域的抗体;和

[0200] b) 载体系统,其包含:

[0201] i) 张度剂;和

[0202] ii) 水,

[0203] 其中所述张度剂以使得重建的制剂包含约0.5%至约10%质量体积比的张度剂的量存在;以及

[0204] B) 用于递送水性组合物的组分。

[0205] 在一些实施方案中,本发明的试剂盒包含:

[0206] A) 用于递送抗VE-PTP抗体的组合物;和

[0207] B) 用于递送抗VEGF剂的组合物。

[0208] 试剂盒可被改进以适应针对被治疗的受试者开出的给药方案。以下是用于由接受包含所公开的化合物的静脉内递送组合物以及玻璃体内施用的抗VEGF剂的患者使用的试剂盒的非限制性实例。该实例提供所公开的化合物每日两次持续3个月的给药,并在第12周提供雷珠单抗注射。

[0209] A. 3包,每包含有4小瓶。每小瓶含有足量的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂,以提供每日2次注射5mg所公开的化合物达7天;和

[0210] B. 用于在第12周末注射的雷珠单抗小瓶,该小瓶提供0.5mg的雷珠单抗。

[0211] 试剂盒可包含要素的任何组合。此外,当本文公开的抗VE-PTP抗体口服提供时,有足够剂量的所公开的化合物的单个容器可补充有试剂盒。

[0212] 试剂盒还可提供书面说明以供待递送的组合物的使用和丢弃。试剂盒之间的说明

可以进行修改,以反映所开出的给药方案。该说明可以描述本文所述的任何疗法、化合物、赋形剂或施用方法。

[0213] 所公开的组合物可包含例如,约1.5%至约1.5%质量体积比的载体系统。张度剂的非限制性实例包括右旋糖、甘露醇和甘油。配制者可使用多于一种张度剂。

[0214] 试剂盒可进一步包含用于施用的装置,如注射器、过滤针、延伸管、插管和视网膜下注射器。给药途径的非限制性实例包括眼内、肠胃外和局部。眼内途径的给药可包括例如,玻璃体内、房内、结膜下、眼球筋膜下、眼球后、眼内、近巩膜后、眼周、视网膜下和脉络膜上。可通过例如注射器、针头、输液泵或注入器进行递送。注射器和注入器可以是例如,单次剂量、多次剂量、固定剂量或可变剂量的。注入器的非限制性实例包括但不限于笔注入器(pen injector)、自动注入器和电子贴片注入系统(electronic patch injector system)。

[0215] 试剂盒可包含合适的组分,以供将本发明的组合物施用于受试者。在一些实施方案中,本发明的组合物以单位剂型存在于试剂盒中。如此,配制者可以提供具有更高化合物浓度的递送装置,并调节递送量,以提供少于整个溶液中量的一定量的化合物。

[0216] 一组说明可包含在本文所述的任何试剂盒中。该说明可以涉及给药量、给药时间、当试剂盒含有干组合物时组合物的重建、以及递送媒介物和未使用组合物的丢弃方法。该说明可描述本文所述的任何治疗、化合物、赋形剂或给药方法。

[0217] 方法

[0218] 本发明提供了用于治疗或预防眼部疾病或病况的组合物和方法,该预防眼部疾病或病况例如眼部水肿、糖尿病黄斑水肿、血管渗漏、年龄相关性黄斑变性(湿型)、年龄相关性黄斑变性(干型)、脉络膜新血管形成、糖尿病视网膜病变、眼缺血、葡萄膜炎、视网膜静脉阻塞(中央或分支)、眼部创伤、手术诱导的水肿、手术诱导的新血管形成、囊样黄斑水肿、眼缺血和葡萄膜炎。这些疾病或病况的特征可在于眼部血管系统的变化,无论是进行性的还是非进行性的,是急性疾病或病况的结果还是慢性疾病或病况的结果。这些疾病的特征可在于血管内皮生长因子(VEGF)的血浆水平提高。

[0219] 本公开内容提供了治疗有需要的受试者的眼部新血管形成的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的靶向VE-PTP(HPTP- β)的抗体。

[0220] 在一些实施方案中,所述VE-PTP(HPTP- β)抑制剂稳定血管系统以防止渗漏和新血管形成。

[0221] 临床症状的改善可通过例如检眼镜间接检查、眼底照相、荧光素血管病变(fluorescein angiopathy)、视网膜电描记术、外部眼检查、裂隙灯活组织显微镜检查、压平眼压测量法、厚度测量法、光学相干断层扫描或自动验光进行监测。在一些实施方案中,所公开的方法涉及施用VE-PTP(HPTP- β)抗体,包括施用包含抗VEGF剂的组合物。

[0222] 在一些实施方案中,本公开内容的方法包括VE-PTP(HPTP- β)抗体与一种或多种抗VEGF剂的共同施用,其可稳定血管系统以防止渗漏。

[0223] 在一些实施方案中,本公开内容的方法倾向于抗VE-PTP(HPTP- β)抗体与一种或多种抗VEGF剂的共同施用,其可稳定血管系统以防止新血管形成。

[0224] 在一些实施方案中,所述抗VE-PTP(HPTP- β)抗体可稳定血管系统以防止渗漏和新血管形成。

[0225] 在一些实施方案中,具有至少一只视力受损的眼睛的人类受试者用约0.1mg至约100mg的VE-PTP (HPTP- β) 抗体进行治疗。临床症状的改善可通过例如,检眼镜间接检查、眼底照相、荧光素血管病变、视网膜电描记术、外部眼检查、裂隙灯活组织显微镜检查、压平眼压测量法、厚度测量法、光学相干断层扫描和自动验光来监测。如本文所述,给药可以由施用者确定的任何频率发生。在抗VEGF剂治疗停止后,可根据反应施用后续剂量,例如每周一次或每月一次,例如以每隔约2-8周或约1-12个月的频率。

[0226] 作为糖尿病的直接或间接结果的疾病尤其包括糖尿病黄斑水肿和糖尿病视网膜病变。糖尿病患者的眼血管系统随时间的推移变得不稳定,并导致诸如非增殖性视网膜病变、黄斑水肿和增殖性视网膜病变等病况。随着流体渗漏到黄斑中心(眼中发生清晰的直前视力的部分),流体和相关蛋白质的积聚体开始沉积在黄斑上或黄斑下。这种沉积导致肿胀,其使受试者的中心视力逐渐变得扭曲。这种病况是黄斑水肿。可发生的另一种病况是非增殖性视网膜病变,其中可以观察到眼睛的黄斑区外部的血管变化,如微动脉瘤。

[0227] 这些病况可与糖尿病增殖性视网膜病变有关,其特征就在于新血管形成增多。新血管是脆弱的且容易出血。结果是视网膜的瘢痕形成以及由于新血管的过度形成而引起的通过眼睛的光通路的阻塞或完全堵塞。患有糖尿病黄斑水肿的受试者通常遭受糖尿病视网膜病变的非增殖期;然而,受试者通常仅在增殖期开始时才开始出现黄斑水肿。

[0228] 糖尿病视网膜病变是劳动年龄的美国人中视力损失的最常见原因。严重视力损失的发生是由于的牵引性视网膜脱离,其使视网膜新血管形成复杂化,但中度视力损失的最常见原因是糖尿病黄斑水肿(DME)。

[0229] VEGF是一种缺氧调节基因,并且VEGF水平在缺氧性或缺血性视网膜中增加。在大多数情况下,Ang2与Tie2结合但不刺激磷酸化,并充当Tie2拮抗剂。在眼内,Ang2在新血管形成的部位被上调,并充当对VEGF的容许因子。VEGF在视网膜中增加的表达不刺激从视网膜或脉络膜血管层的浅表或中间毛细血管床萌生新血管形成,但刺激从Ang2发生组成型表达的深毛细血管床的萌生。在视网膜表面的VEGF和Ang2的共表达导致从浅表的视网膜毛细血管萌生新血管形成。

[0230] 血管生成是从预先存在的血管生成新血管的过程,对于大范围的生理和病理事件是必要的,这些事件包括胚胎发育、月经、伤口愈合和肿瘤生长。大多数(若不是全部)肿瘤需要血管生成以进行生长和增殖。通过增加血管渗透性和毛细血管数,VEGF可以是血管生成的主要因素。

[0231] VEGF是主要见于内皮细胞的蛋白,并在血管发生、血管生成和血管通透性方面具有功能。VEGF的表达由缺氧、激活的癌基因和细胞因子诱导。VEGF激活不仅可导致正常人类细胞和组织中的血管生成,还可导致肿瘤中的血管生成,并允许肿瘤进展和生长。VEGF的抑制可抑制肿瘤生长,导致肿瘤消退。各种视网膜病变都与VEGF水平的提高相关;眼睛的缺血导致由于缺乏氧气而诱导VEGF产生。这种VEGF的增加可导致视网膜中血管的过度增殖,并且可导致失明。所公开的抗VE-PTP (HPTP- β) 可用于稳定眼部血管系统,并且可对抗通过VEGF和存在于患病视网膜中的其他炎性药剂的刺激。在一些实施方案中,在向受试者的抗VEGF药物施用撤回后,向受试者施用抗VE-PTP (HPTP- β) 可维持疾病逆转的水平。

[0232] 黄斑变性的特征在于由视网膜中心的黄斑区的细胞和组织变性而导致的视力逐渐损失或受损。黄斑变性通常表征为两种类型之一:非渗出性(干型)或渗出性(湿型)。虽然

这两种类型是双向的和进行性的,但每种类型可反映不同的病理过程。湿型年龄相关性黄斑变性(AMD)是脉络膜新血管形成的最常见形式,且为老年人中失明的首要原因。AMD影响了数以百万计的60岁以上的美国人,并且是老年人中新发失明的主要原因。

[0233] 脉络膜新生血管膜(CNVM)是与多种视网膜疾病有关的问题,但最常与年龄相关性黄斑变性相关联。由于CNVM,从脉络膜(就在视网膜下面的血管丰富的组织层)起源的异常血管生长通过视网膜层。这些新血管非常脆弱且容易破裂,并使血液和流体在视网膜层内汇集。

[0234] 糖尿病是由胰腺无法产生或使用胰岛素引起的代谢疾病。糖尿病最常见的类型是1型糖尿病(通常被称为青少年发作型糖尿病)和2型糖尿病(通常被称为成年发作型糖尿病)。1型糖尿病起因于由于胰岛素产生细胞的缺失而导致身体不能产生胰岛素,并且目前需要患者注射胰岛素。2型糖尿病通常起因于胰岛素抗性,这是其中细胞不能正常使用胰岛素的状况。糖尿病可与大量的其它病况有关,包括眼睛的病况或疾病,其包括糖尿病视网膜病变和糖尿病黄斑水肿(DME)。

[0235] 糖尿病视网膜病变是由在眼(视网膜)的背面的感光组织的血管的损害所导致的糖尿病的并发症。起初,糖尿病视网膜病变可不导致症状或仅导致轻微的视力问题。最终,糖尿病视网膜病变可导致失明。糖尿病视网膜病变可在具有1型糖尿病或2型糖尿病的任何人中发生。

[0236] 在非增殖性视网膜病变的早期阶段,微动脉瘤在视网膜的微小血管中发生。随着病情的发展,更多的这些血管变得损坏或堵塞,并且视网膜的这些区域向区域组织中发送信号以为了营养而生长新血管。这个阶段被称为增殖性视网膜病变。新血管生长沿着视网膜生长,并沿着填充所述眼睛内部的清晰玻璃状凝胶的表面生长。这些血管具有薄、脆的壁,并且在没有及时治疗的情况下,这些新血管可能泄漏血液(例如,全血或其一些成分),并可能导致严重的视力损失甚至失明。此外,流体可渗漏到黄斑的中心,即眼中发生清晰的直前视力的部分。流体和相关蛋白开始沉积在或黄斑溶胀物上或下,受试者的中心视力变得扭曲。这种情况被称为黄斑水肿,并且可发生在糖尿病视网膜病变的任何阶段,但是其更可能随着病情的发展发生。

[0237] 葡萄膜炎是其中葡萄膜发炎的病征。眼睛在内部是中空的,三个不同的组织层围绕中央腔体。最外是巩膜(眼睛的白色外层)且最内是视网膜。巩膜与视网膜之间的中间层被称为葡萄膜。葡萄膜包含许多滋养眼的血管。葡萄膜炎的并发症包括青光眼、白内障和新的血管形成(新血管形成)。

[0238] 眼外伤是对眼睛的任何形式的物理或化学损伤。眼外伤可影响任何人,主要症状包括在受影响的眼睛中的红肿或疼痛。如果微小的投射物造成外伤,则不易出现该症状。

[0239] 手术诱导的水肿是在视网膜上或眼睛的其它部分上的手术后眼组织的肿胀发生。囊样黄斑水肿(CME)是此现象的实例。CME不仅可在已经进行白内障手术的人中发生,还可在患有糖尿病、色素性视网膜炎、AMD或引起眼中的慢性炎症的病况的那些人中发生。CME的主要症状是中心视力模糊或下降。

[0240] 眼缺血综合征(OIS)包括由慢性血管功能不全所造成的体征和症状。这种病况起因于由颈总动脉或颈内动脉的阻塞或狭窄引起的眼灌注不足。OIS通常影响年龄50-80岁通常显示出全身性疾病如高血压或糖尿病的受试者。OIS的主要症状是眼眶疼痛、视力损失、

视野变化、不对称性白内障和对光的反应迟钝。

[0241] 视网膜静脉阻塞 (RVO) 是糖尿病视网膜病变后最常见的视网膜血管疾病。根据视网膜静脉引流被有效阻塞的区域,该病况大体上分类为视网膜中央静脉阻塞 (CRVO)、半球视网膜静脉阻塞 (HRVO) 或视网膜分支静脉阻塞 (BRVO)。RVO的表现是具有多变的无痛视力损失伴随由以下组成的眼底表现的任意组合:视网膜血管扭曲、视网膜出血(斑点形和火焰形)、棉絮状渗出点、视盘肿胀和黄斑水肿。在CRVO中,视网膜出血可见于眼底的全部四个象限中,而在HRVO中,这种出血局限于上部或下部眼底半球。在BRVO中,出血主要局限于由闭塞的视网膜分支静脉引流的区域。继发于黄斑水肿或缺血发生视力损失。

[0242] 本公开内容的组合物用于稳定眼部血管系统,并且在一些实施方案中,本公开内容的药剂可对抗由VEGF和可存在于病变视网膜中的其它炎性药剂引起的刺激。在一些实施方案中,在向受试者的抗VEGF药物施用撤回后,向受试者施用本公开内容的抗体可用于维持疾病逆转的水平。

[0243] 受试者的治疗

[0244] 在一些实施方案中,在患有如本文公开的疾病或病况的受试者中单次施用本公开内容的组合物导致VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂以足以长期抑制眼部新血管形成的水平持续进行眼内表达。

[0245] 例如,宿主眼部细胞中产生的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂的水平可以是至少100pg/mL、至少200pg/mL、至少300pg/mL、至少400pg/mL、至少500pg/mL、至少600pg/mL、至少700pg/mL、至少800pg/mL、至少900pg/mL、至少1000pg/mL、至少2000pg/mL、至少3000pg/mL、至少4000pg/mL、至少5000pg/mL、至少6000pg/mL、至少7000pg/mL、至少8000pg/mL、至少9000pg/mL或至少10,000pg/mL。宿主眼部细胞中产生的VE-PTP (HPTP- β) 抑制剂的水平可以是至多100pg/mL、至多200pg/mL、至多300pg/mL、至多400pg/mL、至多500pg/mL、至多600pg/mL、至多700pg/mL、至多800pg/mL、至多900pg/mL、至多1000pg/mL、至多2000pg/mL、至多3000pg/mL、至多4000pg/mL、至多5000pg/mL、至多6000pg/mL、至多7000pg/mL、至多8000pg/mL、至多9000pg/mL或至多10,000pg/mL。

[0246] 在施用本公开内容的药物组合物后至少约0.1、至少约0.2、至少约0.3、至少约0.4、至少约0.5、至少约0.6、至少约0.7、至少约0.8、至少约0.9、至少约1、至少约2、至少约3、至少约4、至少约5、至少约6、至少约7、至少约14、至少约21、至少约30、至少约50、至少约75、至少约100、至少约125、至少约150、至少约175、至少约200、至少约225、至少约250、至少约275、至少约300、至少约325、至少约350或至少约365天可测量蛋白质水平。在施用本公开内容的药物组合物后至多约0.1、至多约0.2、至多约0.3、至多约0.4、至多约0.5、至多约0.6、至多约0.7、至多约0.8、至多约0.9、至多约1、至多约2、至多约3、至多约4、至多约5、至多约6、至多约7、至多约14、至多约21、至多约30、至多约50、至多约75、至多约100、至多约125、至多约150、至多约175、至多约200、至多约225、至多约250、至多约275、至多约300、至多约325、至多约350或至多约365天可测量蛋白质水平。

[0247] 中心凹厚度

[0248] 本文还公开了用于减小患有如本文公开的疾病或病况的受试者的中心凹厚度 (CFT) 的方法。该方法包括向眼睛施用靶向VE-PTP (HPTP- β) 的抗体,其中该抗体的施用可以以任何方式进行。

[0249] 中心凹厚度的减小水平可为例如约 $50\mu\text{m}$ 至约 $1000\mu\text{m}$ 。中心凹厚度的减小水平可为例如约 $50\mu\text{m}$ 至约 $500\mu\text{m}$ 、约 $50\mu\text{m}$ 至约 $750\mu\text{m}$ 、约 $150\mu\text{m}$ 至约 $500\mu\text{m}$ 、约 $200\mu\text{m}$ 至约 $500\mu\text{m}$ 、约 $200\mu\text{m}$ 至约 $1000\mu\text{m}$ 、约 $250\mu\text{m}$ 至约 $650\mu\text{m}$ 或约 $400\mu\text{m}$ 至约 $700\mu\text{m}$ 。

[0250] 视敏度

[0251] 本文进一步公开了用于提高患有如本文公开的疾病或病况的受试者的视敏度的方法。

[0252] 视敏度是视力的敏锐度或清晰度,其依赖于眼内视网膜聚焦的敏锐度和大脑的解释能力的灵敏度。视敏度是视觉处理系统的空间分辨率的量度。通过要求受试者识别在设定距离处的图表上的字符(通常为数字或字母)来测试视敏度。图字字符表示为在白色背景上的黑色符号。受试者的眼睛与测试图表之间的距离被设定在以晶状体尝试聚焦的方式近似无限远的足够的距离处。二十英尺或6米从光学角度来看基本上是无限远。在本发明中,视敏度的改善通过可从图表读取的字母的数目的增加来评估。

[0253] 用于测量视敏度的一个非限制性测试是利用ESV-3000ETDRS测试装置和自校准测试照明。该ESV-3000装置结合了LED光源技术。自校准电路持续监测LED光源并校准 $85\text{cd}/\text{m}^2$ 或 $3\text{cd}/\text{m}^2$ 的测试亮度。

[0254] 虽然设计了其中在4米时进行大幅面ETDRS测试(高达20/200)的临床试验,但该装置可以在非研究环境(即其中进行眼部疾病监测的医院或诊所)中使用。为正确地评价ETDRS,测试应在标准光照条件,例如, $85\text{cd}/\text{m}^2$ 的明视测试级下进行。视敏度的评分可以以监测者选择的任何方式来完成。在提供基线评价后,治疗期间可由测试受试者识别的字母的数目的增加或减少提供了视力提高或降低的量度。

[0255] 本文公开了用于提高患有本文公开的眼部疾病或病况的受试者的视敏度的方法。该方法包括向患有眼部疾病或状况的受试者施用靶向VE-PTP(HPTP- β)的抗体,其中该抗体的施用可以以本文所述的任何方式进行。经治疗的眼睛识别的字母数目的增加可以是例如约1至约30个字母、约5至约25个字母、约5至约20个字母、约5至约15个字母、约5至约10个字母、约10至约25个字母、约15至约25个字母或约20至约25个字母。视敏度的增加可以是约1个字母、约5个字母、约10个字母、约15个字母、约20个字母或约25个字母。

[0256] 实施例

[0257] 实施例1:使用杂交瘤技术产生针对VE-PTP(HPTP- β)胞外域的单克隆抗体。

[0258] 杂交瘤技术用于产生抗人VE-PTP(HPTP- β)或小鼠VE-PTP的N末端胞外域(ECD)的单克隆抗体,如图3的示意图所示。用人VE-PTP(HPTP- β)ECD蛋白攻击小鼠以产生抗靶蛋白的抗体。然后从脾脏和淋巴结收获B细胞并与骨髓瘤细胞融合以产生杂交瘤细胞系。融合的细胞在培养基中培养,其中仅具有衍生自抗原暴露小鼠的基因的骨髓瘤细胞能够生长。通过有限稀释产生衍生自单个骨髓瘤细胞的集落。然后通过ELISA筛选由杂交瘤集落产生的抗体与人VE-PTP(HPTP- β)ECD的结合。一种杂交瘤R15E6被选择用于进一步分析。R15E6抗体与来自人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的内源人VE-PTP(HPTP- β)结合,如图4中的免疫沉淀(IP)western印迹(左图)和流式细胞术(右图)所示。未观察到R15E6与珠子对照(没有抗体的蛋白质A/G珠子;BC)或者VEGFR2或Tie2(R2/T2)的结合。

[0259] 实施例2:用R15E6在HUVEC中进行Tie2激活

[0260] R15E6以浓度依赖性方式激活Tie2,如图6的图A和图B中示出的IP实验所证明的。

如图C所示,抗体还在HUVEC中以浓度依赖性方式增强了血清饥饿内皮细胞的活力。

[0261] 实施例3:用鼠单克隆和多克隆抗小鼠VE-PTP ECD抗体进行Tie2激活和细胞通透性实验。

[0262] 为了表征VE-PTP抗体的体外治疗效果,使用抗小鼠VE-PTP抗体进行Tie2激活和细胞通透性实验。通过用胞外域N末端的8个FN3重复序列的VE-PTP-Fc融合蛋白免疫大鼠,从而产生抗小鼠VE-PTP ECD的单克隆和多克隆抗体。如上所述进行免疫、杂交瘤融合和筛选。在实施例3中,单克隆抗体109.1 (mAb 109.1) 和抗小鼠VE-PTP的胞外纤连蛋白III型(FN3)样结构域1-8的多克隆抗体(pAb)被选择用于进一步分析。

[0263] 图7图示了通过western印迹测定的mAb 109.1在小鼠内皮细胞(bEnd)中对Tie2激活(左上图)、小鼠VE-PTP表达(左下图)和Akt(右图)的影响。如Tie2磷酸化所示,用mAb 109.1处理导致Tie2的激活(pTyr;左上图)。如通过磷酸化未增加而抗体浓度增加所证实,Akt在测试的小鼠内皮细胞中被组成型激活(右图)。

[0264] 用小鼠pAb 1-8进行的体外实验也增强了内皮细胞中的Tie2 (Tie-2) 激活和下游信号传导。用pAb 1-8或免疫前(对照)抗体处理培养的小鼠内皮细胞(bEnd.5)1小时,随后针对Tie2进行免疫沉淀,然后用抗磷酸酪氨酸抗体(pTyr)和抗Tie2抗体进行免疫印迹。将具有相同蛋白质含量的细胞裂解物的等分试样直接针对VE-PTP和Tie2进行免疫印迹(下图)。图8图示了免疫沉淀实验,其中pAb在用抗小鼠VE-PTP多克隆抗体或免疫前抗体的处理1h(图A)或3min(图B)的bEnd.5细胞中快速诱导Tie2激活。

[0265] 与Tie2激活的血管稳定化作用一致,VE-PTP ECD抗体在体外降低凝血酶和VEGF诱导的内皮单层细胞的通透性,如图9所示。测定在transwell过滤器中生长的培养的HUVEC单层细胞对250kD FITC-葡聚糖的细胞旁通透性。用凝血酶(图A)或VEGF(图B)诱导通透性。将PBS处理的细胞的通透性设定为100%。对于VE-PTP靶向,用抗VE-PTP pAb处理细胞。作为对照,用免疫前抗体(对照Ab)处理细胞。数据代表两个独立的实验。

[0266] 与Tie2激活的血管稳定化作用一致,VE-PTP ECD抗体还在体内阻断VEGF诱导的皮肤血管通透性,如图10所示。如Miles测定所证明的,单克隆和多克隆VE-PTP ECD抗体mAb 109.1(图A)和pAb PTP 1-8(图B)均抑制VEGF诱导的皮肤血管通透性。Miles测定可用作血管通透性的体内模型,其具有血管渗漏和新血管形成的特征。在开始Miles测定之前30分钟,用100 μ g对照IgG或抗小鼠VE-PTP抗体对小鼠进行静脉内注射。然后将伊文思蓝静脉内注射至小鼠,10分钟后皮内注射VEGF(条纹条)或PBS(实心黑条)。30分钟后,处死小鼠并从皮肤样品提取染料并定量。检查数据集的正态性和等方差。值表示为平均值 \pm 平均值的标准误差(SEM)。如图C所示,如用pAb PTP 1-8处理的小鼠的肺组织中所证明的,通透性的阻断与Tie2磷酸化相关。

[0267] 实施例4:小鼠VE-PTP ECD单克隆抗体对小鼠视网膜和脉络膜新血管形成的影响。

[0268] 在模拟增殖性糖尿病视网膜病变方面的缺血性视网膜病变模型中,VE-PTP ECD单克隆抗体(mAb 109.1)在施用该抗体后显著减少视网膜新血管形成,如图11(图A)所示并如图12(图A)所定量。在P12,患有缺血性视网膜病变的小鼠被施用玻璃体内注射的0.1、0.5或2 μ g的mAb 109.1或者2 μ g IgG同种型对照(每组n \geq 12)。在P17,在对照IgG注射的眼中观察到广泛的GSA染色的视网膜新血管形成,而在用2 μ g抗VE-PTP注射的眼中观察到显著减少的视网膜新血管形成。*P<0.001。

[0269] 类似地,在模拟湿型年龄相关性黄斑水肿(视网膜血管瘤增生和脉络膜新生血管形成)的不同方面的两个模型中,单次2 μ g玻璃体内施用VE-PTP ECD单克隆抗体(mAb 109.1)显著减少两个模型中的视网膜新血管形成(图11的图B,并在图12的图B中定量)。在P15,六只Rho-VEGF转基因小鼠在一只眼中给予玻璃体内注射0.5或2 μ g的mAb 109.1,并在对侧眼中给予相应剂量的对照IgG。在P21,在用0.5或2 μ g的mAb 109.1处理的眼中观察到比对照IgG处理的眼中显著减少的GSA染色的视网膜下新血管形成。与IgG对照的对侧眼进行比较,非配对t检验得到* $P=0.01$ 。比例尺:100 μ m。

[0270] 与对照IgG相比,玻璃体内注射2 μ g的mAb 109.1显著减少了布鲁赫膜破裂部位的脉络膜新血管形成的面积(图11的图C,并在图12的图C中定量)。通过Bonferroni校正,由单向ANOVA得到* $P<0.001$ 。比例尺:100 μ m。

[0271] 皮下施用mAb 109.1还减少了缺血性视网膜病变小鼠模型中的缺血性新血管形成。与媒介物相比,视网膜新血管形成的平均面积减小约30%,如图25所示。患有缺血性视网膜病变的小鼠被施用3次皮下注射的2mg/kg q.o.d.(每隔一日)。

[0272] 实施例5:小鼠VE-PTP ECD单克隆抗体与抗VEGF剂组合对小鼠视网膜脱离的影响。

[0273] 为了评价使用本文公开的抗VE-PTP抗体的联合治疗的效果,使用Tet/视蛋白/VEGF小鼠模型。Tet/视蛋白/VEGF转基因小鼠患有严重的视网膜下新血管形成和血管渗漏,并且导致由人VEGF的诱导型视黄醛过表达介导的渗出性视网膜脱离。图24示出了与任一单独治疗相比,抗小鼠VE-PTP抗体(mAb 109.1)与阿柏西普的组合对防止小鼠中的视网膜脱离的增强效果,如双星号所示。大鼠IgG用作对照。

[0274] 实施例6:来自R15E6抗人VE-PTP(HPTP- β)的人源化抗体的产生和纯化。

[0275] R15E6是含有重链和轻链的150kDa抗体。使用如表12所示的重链序列与轻链序列的不同组合合成16种不同的人源化抗体变体。

[0276] 将如实施例1中所述的R15E6人源化变体克隆到pVitro DHFR3哺乳动物表达载体中。进行中等规模的瞬时转染表达分析以确定来自CHO细胞的表达产量。在500mL通气烧瓶中,悬浮适应的CHO细胞以2.0-3.0 $\times 10^5$ 个细胞/mL,在85%CO₂,37 $^{\circ}$ C,150rpm下,在添加8mL L-谷氨酰胺和10mL/L次黄嘌呤/胸苷的Pro CHO4无血清培养基中培养。根据制造商的说明,使用Nucleobond pc500试剂盒制备每种构建体的最大制备物。使用NanoDrop LiteTM分光光度计定量载体DNA。

[0277] 在500mL通气烧瓶中,在添加8mL L-谷氨酰胺和10mL/L次黄嘌呤/胸苷的Pro CHO4无血清培养基中,用1.25 μ g/mL的质粒DNA瞬时转染终浓度为1.0 $\times 10^6$ 个细胞/mL的100mL细胞。将转染的培养物在85%CO₂,37 $^{\circ}$ C,150rpm下温育8至11天,然后通过4,000rpm,4 $^{\circ}$ C下离心40min来收获。

[0278] 离心后,培养基通过0.8 μ m醋酸纤维素过滤器过滤。每批使用Amersham Biosciences AKTA色谱系统纯化。表达的人源化抗体通过蛋白A亲和色谱纯化。使用1-mL HiTrap蛋白A柱进行所有人源化抗体纯化。所有纯化都使用Fusion Antibodies内部洗涤和洗脱缓冲液进行。在将蛋白质加载到柱中后,使用甘氨酸/Tris缓冲液(pH 3)洗脱任何结合的抗体。用100 μ L Tris缓冲液(pH 8.5)中和所有洗脱的1mL部分。选择对应于洗脱峰的洗脱部分在PBS中渗析过夜。渗析后,用NanoDrop LiteTM分光光度计测量抗体浓度。

[0279] 实施例7:抗人VE-PTP(HPTP- β)的人源化抗体的评价。

[0280] 通过还原性和非还原性SDS-PAGE(图13)分析人源化抗体的样品,以确定重链和轻链的存在以及抗体的纯度。小鼠/人嵌合抗体HC0LC0通过将鼠重链和轻链可变区与人Fc区融合而衍生自R15E6。在两种SDS-PAGE凝胶中,泳道1:SeeBlue Plus2预染色的蛋白质标准;泳道2:HC0LC0#1;泳道3:HC1LC1#2;泳道4:HC1LC2#1;泳道5:HC1LC3#1;泳道6:HC1LC3#2;泳道7:HC1LC4#1;泳道8:HC2LC1#1;泳道9:HC2LC2#1;泳道10:HC2LC3#1;泳道11:HC2LC3#2;泳道12:HC2LC4#1;泳道13:HC3LC1#1;泳道14:HC3LC2#1;泳道15:HC3LC3#1;泳道16:HC3LC4#1;泳道17:HC4LC1#1;泳道18:HC4LC1#2;泳道19:HC4LC2#1;泳道20:HC4LC3#1;泳道21:HC4LC3#2;泳道22:HC4LC4#1;泳道23:HC4LC4#2;以及泳道24:SeeBlue Plus2预染色的蛋白质标准。SDS-PAGE凝胶分析显示,所有分析样品具有高纯度。在还原性SDS-PAGE中,重链和轻链是可见的,并且重链在50kDa的预期分子量处,轻链在25kDa的预期分子量处。在非还原性SDS-PAGE中,在约50kDa或25kDa处分别未观察到游离的重链或轻链。对于所有HC4变体以及HC1LC3、HC2LC3和HC3LC3变体,该凝胶显示少量的蛋白质。

[0281] 使用13.7的消光系数作为IgG的标准参考,使用NanoDrop Lite™分光光度计在280nm处定量纯化的R15E6。表16总结了SDS-PAGE分析的结果。与SDS-PAGE分析一致,所有重链4变体表达很少甚至不表达抗体。

[0282] 表16

R15E6变体	体积	浓度 (mg/ml)	总产量 (mg)	SDS PAGE
HC0LC0#1	100ml	0.403	0.85	HC和LC存在
HC1LC1#1	100ml	0	0	无纯化抗体
HC1LC1#2	160ml	0.141	0.28	HC和LC存在
HC1LC2#1	100ml	0.127	0.23	HC和LC存在
HC1LC3#1	100ml	0.045	0.086	HC和LC微弱存在
HC1LC3#2	160ml	0.175	0.39	HC和LC存在
HC1LC4#1	100ml	0.1	0.18	HC和LC存在
HC2LC1#1	100ml	0.147	0.28	HC和LC存在
HC2LC2#1	100ml	0.538	1.08	HC和LC存在
HC2LC3#1	100ml	0.034	0.068	HC和LC微弱存在
HC2LC3#2	160ml	0.591	1.18	HC和LC存在
HC2LC4#1	100ml	0.165	0.39	HC和LC存在
HC3LC1#1	100ml	0.078	0.16	HC和LC存在
HC3LC2#1	100ml	0.264	0.53	HC和LC存在
HC3LC3#1	100ml	0.043	0.07	HC和LC非常微弱
HC3LC4#1	100ml	0.406	0.812	HC和LC存在
HC4LC1#1	100ml	0.025	0.06	无条带
HC4LC1#2	160ml	0.051	0.11	无条带
HC4LC2#1	100ml	0.051	0.11	无条带
HC4LC3#1	100ml	0.053	0.13	无条带
HC4LC3#2	160ml	0.035	0.07	无条带
HC4LC4#1	100ml	0.041	0.09	无条带
HC4LC4#2	160ml	0.031	0.068	无条带

[0283]

[0284] 实施例8:R15E6和人源化变体对人VE-PTP(HPTP- β)、食蟹猴VE-PTP(食蟹猴PTP- β)和人HPTP- η 的选择性。

[0285] 测试含有来自杂交瘤的抗体的组织培养物上清液针对靶人VE-PTP(人 β 1/2 ECD)、

食蟹猴VE-PTP(食蟹猴β)和人HVTP-η(人Eta)以通过ELISA测定结合亲和力。

[0286] 使用HEK293细胞各自产生并纯化人HPTP-β、食蟹猴PTPβ和人HVTP-η。将HEK293细胞在摇瓶中接种24小时,然后用表达物种特异性VE-PTP或HPTP-η的质粒转染。使用无血清化学成分明确的培养基培养HEK293细胞。将物种特异性VE-PTP或HPTP-η构建体的DNA瞬时转染到30mL HEK293悬浮液中。24小时后,对细胞进行计数以评估细胞的活力并确定活细胞计数。在整个瞬时转染过程中获得另外的读数。在瞬时转染的第5天收获细胞培养物。从瞬时转染收获的条件培养基上清液通过离心进行澄清。上清液使用0.2μm膜过滤器过滤。然后通过抗His标签亲和色谱纯化蛋白质。纯化后,进行蛋白质与PBS(pH 7.4)的缓冲液交换。然后,进行SDS-凝胶毛细管电泳(CE-SDS)分析并纯化蛋白质。DNA质粒插入物的氨基酸序列、DNA质粒插入物和相应的野生型序列在下表15中示出。蛋白质序列的信号肽用下划线表示。

[0287] 表15

SEQ ID NO:	名称	序列
38	含有前八个FN3重复序列且具有C末端His ₆ 标签的人VE-PTP(HPTP-β)(人1/2 VE-PTP ECD)的蛋白质序列	<u>MEWSWVFLFFLSVTTGVHSE</u> PERCNFTLAESKASSHSV SIQWRILGSPCNFSLIYSSDTLGAALCPTFRIDNTTYGCN LQDLQAGTIYNFKIISLDEERTVVVLQTDPLPPARFGVSK EKTTSTGLHVWWTPSSGKVTSYEVLFDENNQKIQGV QIQESTSWNEYTFFNLTAGSKYNIATAVSGGKRFSVY TNGSTVPSPVKDIGISTKANLLISWSHGSGNVERYRLM LMDKGILVHGGVVDKHATSYAFHGLTPGYLYNLTVM TEAAGLQNYRWKLVRTAPMEVSNLKVTDGSLTSLK VKWQRPPGNVDSYNITLSHGKTIKESRVLPWITETHF KELVPGRLYQVTVSCVSGELSAQKMAVGRTFPLAVLQ LRVKHANETSLSIMWQTPVAEWEKYIISLADRDLIIH KSLSKDAKEFTFDLVPGRKYMATVTSISGDLKNSSSV KGRTVPAQVTDLHVANQGMTSSLFTNWTQAQGDVEF YQVLLIHENVVIKNESISSETSRYSFHSLKSGSLYSVVVT TVSGGISSRQVVVEGRTVPSSVSGVTVNNSGRNDYLSV SWLLAPGDVDNYEVLTLSDGKVVQSLVIAKSVRECSF SSLTPGRLYTVTITTRSGKYENHSFSQERTVPDKVQGV VSNSARSDYLRSWVHATGDFDHYEVTIKNKNFIQT KSIPKSENECVFVQLVPGRLYSVTVTTKSGQYEANEQG NGRTIPEKGN SADIQHSGGRSSLEGPRFERTGGGHHHH HH
39	人VE-PTP(HPTP-β)的野生型蛋白质序列	MLSHGAGLALWITLSLLQTGLAEPERNFTLAESKASS HSVSIQWRILGSPCNFSLIYSSDTLGAALCPTFRIDNTTY GCNQLQDLQAGTIYNFRIISLDEERTVVVLQTDPLPPARFG VSKEKTTSTSLHVWWTPSSGKVTSYEVLFDENNQKI QGVQIQESTSWNEYTFFNLTAGSKYNIATAVSGGKR

[0288]

[0289]

	<p>FSVYTNGSTVPSPVKDIGISTKANSLLISWSHGSGNVER YRLMLMDKGILVHGGVVDKHATSYAFHGLTPGYLYN LTVMTEAAGLQNYRWKLVRTAPMEVSNLKVTDGSL TSLKVKWQRPPGNVDSYNITLSHKGTIKESRVLAPWIT ETHFKELVPGRLYQVTVSCVSGELSAQKMAVGRTPD KVANLEANNGRMRSVVSWSPAGDWEQYRILLFN DSVLLNITVGKEETQYVMDDTGLVPGRQYEVEVIVE SGNLKNSERCQGRTPPLAVLQLRVKHANETSLSIMWQ TPVAEWEKYIISLADRDLIIHKSLSKDAKEFTFDLVP GRKYMATVTSISGDLKNSSSVKGRTPAQVTDLHVAN QGMTSSLFTNWTQAQGDVEFYQVLLIHENVVIKNESIS SETSRYSFHSLKSGSLYSVVVTTVSGGISSRQVVEGRT VPSSVSGVTVNNSGRNDYLSVSWLLAPGDVDNYEVTL SHDGKVVQSLVIAKSVRECSFSSLTPGRLYTVTITRSG KYENHSFSQERTVPDKVQGVSVNSARSYLRVSWVH ATGDFDHYEVTIKNKNFIQTKSIPKSENECVFVQLVPG RLYSVTVTTKSGQYEANEQGNRTIPEPVKDLTLRNRS TEDLHVTWSEANGDQYEQIQLLFNDMKVFPFHLVN TATEYRFTSLTPGRQYKILVLTISGDVQQSFAIEGFTVPS AVKNIHISPNGATDSLTVNWTPGGGDVDSYTVSAFRHS QKVDSQTIPKHVFEHTFHRLEAGEYQIMIASVSGSLK NQINVVGRTPASVQGVADNAYSSYSLIVSWQKAAG VAERYDILLTENGILLRNTSEPATTKQHKFEDLTPGKK YKIQILTVSGGLFSKEAQTEGRTVPAAVTDLRITENSTR HLSFRWTASEGELSWYNIFLYNPDGNLQERAQVDPLV QSFSFQNLQGRMYKMVIVTHSGELSNESFIFGRTPAS VSHLRGSRNRTTDSLWFWNWPASGDFDFYELILYNPNG TKKENWKDKDLTEWRFQGLVPGRKYVLWVVTHSGD LSNKVTAESRTA PSPPSLMSFADIANTSLAITWKGPPDWDYNDFELQWL PRDALTVFNPNRNRKSEGRIVYGLRPGRSYQFNVKTVS GDSWKTYSKPIFGSVRTKPKIQNLHCRPQNSTAIACS WIPPDSDFDGYSIECRKMDTQEVEFSRKLEKEKSLNI MMLVPHKRYLVSIKVQSAGMTSEVVEDSTITMIDRPPP</p>
--	---

[0290]

		<p>PPPHIRVNEKDVLISKSSINFTVNCSWFSDTNGAVKYFT VVVREADGSDELKPEQQHPLPSYLEYRHNASIRVYQTN YFASKCAENPNSNSKSFNIKLGAEEMESLGGKCDPTQQK FCDGPLKPHTAYRISIRAFQTQFDEDLKEFTKPLYSDTFF SLPITTESEPLFGAIEGVSAAGLFLIGMLVAVVALLICRQK VSHGRERPSARLSIRRRDRPLSVHLNLGQKGNRKTSCPIK INQFEGHFMKLQADSNYLLSKEYEELKDVGRNQSCDIA LLPENRGKNRYNNILPYDATRVKLSNVDDDDPCSDYINA SYIPGNFRREYIVTQGPLPGTKDDFWKMWWEQNVHN IVMVTQCVEKGRVKCDHYWPADQDSLYYGDLILQML SESVLPEWTIREFKICGEEQLDAHRLIRHFHYTVWPDH GVPETTQSLIQFVRTVRDYINRSPGAGPTVVHCSAGVG RTGTFIALDRILQQLDSKDSVDIYGAVHDLRLHRVHMV QTECQYVYLHQCVRDVLRARKLRSEQENPLFPIYENV NPEYHRDPVYSRH</p>
<p>40</p>	<p>含有前八个 FN3 重复序列 的人$\frac{1}{2}$ VE-PTP ECD (SEQ ID NO: 38) 的 DNA 序列</p>	<p>ATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTTCTTCTTCTGTCAG TAACGACTGGTGTCCACTCCGAGCCCGAGAGATGCA ACTTCACCCTGGCCGAGTCCAAGGCCTCTCCCACTC CGTGTCTATCCAGTGGCGGATCCTGGGCTCCCCCTGC AACTTCTCTCTGATCTACTCTCCGACACCCTGGGCG CTGCCCTGTGCCCTACCTTCAGAATCGACAACACCA CCTACGGCTGCAACCTGCAGGATCTGCAGGCCGGCA CCATCTACAACCTCAAGATCATCTCCCTGGACGAGG AACGGACCGTGGTGCTGCAGACCGATCCTCTGCCTC CTGCCAGATTCCGGCGTGCCAAAGAAAAGACCACCT CCACCGGACTGCACGTGTGGTGGACCCCTTCCAGCG GCAAAGTGACCTCCTACGAGGTGCAGCTGTTTCGACG AGAACAACCAGAAAATCCAGGGCGTGCAGATCCAG GAATCCACCTCCTGGAACGAGTACACCTTCTTCAAC CTGACCGCCGGCTCCAAGTACAATATCGCCATCACC GCCGTGTCCGGCGGCAAGAGATCCTTCTCCGTGTAC ACCAACGGCTCCACCGTGCCAGCCCCGTGAAGGAC ATCGGCATCTCCACC AAGGCCAACTCCCTGCTGATCTCCTGGTCCCACGGCT</p>

[0291]

	CCGGCAACGTGGAACGGTACAGACTGATGCTGATGG ACAAGGGCATCCTGGTGCACGGCGGCGTGGTGGATA AGCACGCCACCTCTTACGCCTTCCACGGCCTGACCCC TGGCTACCTGTACAATCTGACCGTGATGACCGAGGC CGCTGGACTGCAGAACTACCGGTGGAAGCTCGTGCG GACCGCCCCATGGAAGTGTCCAACCTGAAAGTGAC CAACGACGGCTCCCTGACCTCTCTGAAAGTGAAGTG GCAGAGGCCCCCTGGCAATGTGGACTCCTACAACAT CACCTGTCCCACAAGGGCACCATCAAAGAATCCCG GGTGCTGGCCCCCTGGATCACCGAGACACACTTCAA AGAACTGGTGCCTGGCCGGCTGTACCAAGTGACCGT GTCCTGTGTGTCTGGCGAGCTGTCCGCCAGAAAAT GGCCGTGGGCAGAACCTTCCCTCTGGCCGTGCTGCA GCTGAGAGTGAAGCACGCTAACGAGACATCCCTGTC CATCATGTGGCAGACCCCCGTGGCCGAGTGGGAGAA GTACATCATCAGCCTGGCCGACCGGGACCTGCTGCT GATCCACAAGTCCCTGAGCAAGGACGCCAAAGAGTT CACCTTACCGACCTGGTGCCCCGGCAGAAAGTACAT GGCCACCGTGACCTCCATCTCCGGCGACCTGAAGAA CTCCTCCAGCGTGAAGGGCAGGACCGTGCCTGCCCA AGTGACAGACCTGCACGTGGCCAACCAGGGCATGAC CTCCTCCCTGTTACCAACTGGACCCAGGCTCAGGG CGACGTGGAATTCTACCAGGTGCTGCTGATTCATGA GAACGTCGTGATCAAGAACGAGTCCATCTCCTCCGA GACAAGCCGGTACTCCTTCCACTCCCTGAAGTCCGG CAGCCTGTACTCCGTGGTCGTGACCACAGTGTCCGG GGGCATCTCCTCTAGACAGGTGGTGGTGGAAAGGCCG CACCGTGCCTAGTTCAGTGTCAGGCGTGACCGTGAA CAACAGCGGCCGGAACGACTACCTGTCCGTGTCTTG GCTGCTGGCTCCTGGGGACGTGGACAACACTACGAAGT GACCCTGAGCCACGACGGCAAGGTGGTGCAGTCTCT CGTGATCGCCAAGTCCGTGCGCGAGTGCTCCTTCAG CTCTCTGACACCTGGCAGACTGTATAACCGTGACCATC ACCACCAGATCCGGGAAGTACGAGAACCACAGCTTC
--	--

[0292]

		TCCCAGGAACGCACAGTGCCCGACAAGGTGCAGGGC GTGTCAGTGTCTAACTCCGCCAGATCTGACTACCTGC GGGTGTCCTGGGTGCACGCTACCGGCGACTTCGACC ATTATGAAGTGACAATCAAGAACAAGAACAACCTTCA TCCAGACCAAGTCCATCCCCAAGTCCGAGAACGAGT GCGTGTTTCGTGCAGCTGGTGCCAGGCAGACTGTACT CTGTGACAGTGACCACCAAGTCCGGCCAGTACGAGG CCAACGAGCAGGGCAACGGCAGGACCATCCCTGAG AAGGGCAACTCCGCCGACATCCAGCACTCTGGCGGC AGATCCTCTCTGGAAGGCCCCAGATTTCGAGAGAACC GGCGGAGGCCACCACCATCATCACCATTGA
41	含有前八个 FN3 重复序列 且具有 C 末端 His ₁₀ 标签的食 蟹猴 VE-PTP (食蟹猴 PTP-β) (食蟹 猴 β _{1/2} VE-PTP ECD) 的蛋白质 序列	<u>MEWSWVFLFFLSVTTGVHS</u> ERCNFTLAESKASSHSVSI RWRIWGSPCNFNLTYSDDLGAASCPFRLDNTTYGCN LQDLQAGTIYNFRIVSLDGEERTVVQLQTDPLPPARFGVS KEKTTSTSLHVWWTPSPGKVTSYEVQLFDENNQKIQG VQIQESTSWNKYTFNLTAGSKYNITITAVSGGKRSSSV YTNGSTVPSVKDIGISTKANSLLVSWSHGSGNVERYR LMLMDKILVHGSVVDQRQATSYTFNGLTPGYLYNLTV VTEAAGLQNYKWKLVRTAPMEVSNLKVTDGSLTSL KVKWQRPPGNVDSYNITLSHKGTIKESRVLAPRVTETH FKELTPGRLYQVTVSCVSGELSAQRMAVGRTFPLPVLQ LRVKHANETSLSIIWQPPVAEWEEYIISLADRDLRLIHK SLSKDAKEFTFTDLVPGRKYMATVTSISGDLKNSSSVK GRTVPAQVTDLHVANQGMTSSLFTNWTQAQGDVEFY QVLLIHENVVIKNESIPSETSGYNFHLKSGSLYSVVVT TVSGGISSRQVVVEGRTVPSSVSGVTVNNSGRNDYLSV SWLPAPGDVDNYEVTLSHDGRVVQSLVIKSVRECSFS SLTPGRLYTVTITTRSGKYENHSFSQERTVPDKVQGV VSNSARSDYLRSWVHATGDFDHYEVTIKNKNNFIET KSIPKSENECVFVQLVPGRLYSVTVTTKSGQYEASEQG NGRTGGGHHHHHHHHHH
42	含有前八个 FN3 重复序列 的食蟹猴 β _{1/2}	ATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTTCTTCTGTCAG TAACGACTGGTGTCCACTCCGAGCGGTGCAACTT CCCTGGCCGAGTCCAAGGCCTCCTCCCACTCCGTGTC

[0293]

	<p>VE-PTP ECD (SEQ ID NO: 41) 的 DNA 序 列</p>	<p>TATCCGGTGGCGGATCTGGGGCTCCCCCTGCAACTTC AACCTGACCTACTCCTCCGATACCCTGGGCGCTGCCT CCTGTCTCCTTTCCGGCTGGACAACACCACCTACGG CTGCAACCTGCAGGATCTGCAGGCCGGCACCATCTA CAACTTCCGGATCGTGTCCCTGGACGGCGAGGAACG GACAGTGGTGTGCAGACCGATCCTCTGCCCCCTGC CAGATTCGGCGTGTCCAAAGAAAAGACCACCTCCAC CTCCCTGCACGTGTGGTGGACCCCTAGCCCTGGCAA AGTGACCTCCTACGAGGTGCAGCTGTTGACGAGAA CAACCAGAAAATCCAGGGCGTGCAGATCCAGGAATC CACCTCCTGGAACAAGTACACCTTCTTCAATCTGACC GCCGGCTCCAAGTACAACATCACCATCACCGCCGTG TCCGGCGGCAAGAGATCCTCCTCCGTGTACACCAAC GGCTCCACCGTGCCCAGCCCCGTGAAGGACATCGGC ATCTCCACCAAGGCCAACTCCCTGCTGGTGTCTGGT CCCACGGCTCCGGCAACGTGGAACGGTACAGACTGA TGCTGATGGACAAGGGCATCCTGGTGCACGGCAGCG TGGTGGATAGACAGGCCACCTCCTACACCTTCAACG GCCTGACCCCCGGCTACCTGTATAACCTGACCGTCGT GACCGAGGCCGCTGGACTGCAGAACTACAAGTGGAA AGCTCGTGCAGGACCGCCCCATGGAAGTGTCCAACC TGAAAGTGACCAACGACGGCTCCCTGACCTCTCTGA AAGTGAAGTGGCAGAGGCCCCCTGGCAATGTGGACA GCTACAATATCACCTGTCCCACAAGGGCACCATCA AAGAATCCCGGGTGTGGCCCCAGAGTGACCGAGA CACACTTCAAAGAGCTGACCCCTGGCCGGCTGTACC AAGTGACCGTGTCTGTGTGTCTGGCGAGCTGTCTGC CCAGAGAATGGCCGTGGGCAGAACCTTCCCTCTGCC CGTGCTGCAGCTGAGAGTGAAGCACGCCAACGAGAC ATCCCTGTCCATCATCTGGCAGCCCCCTGTGGCCGAG TGGGAAGAGTACATCATCAGCCTGGCCGACCGGGAC CTGCGGCTGATCCACAAGTCCCTGAGCAAGGACGCC AAAGAGTTACCTTACCGACCTGGTGCCTGGCCGG AAGTACATGGCCACCGTGACCTCCATCTCCGGCGAC</p>
--	---	--

[0294]

		<p>CTGAAGAACTCCTCCAGCGTGAAGGGCAGGACCGTG CCTGCCCAAGTGACAGACCTGCATGTGGCCAACCAG GGCATGACCTCCAGCCTGTTACCAACTGGACCCAG GCTCAGGGCGACGTGGAATTCTACCAGGTGCTGCTG ATCCATGAGAACGTTCGTGATCAAGAACGAGTCCATC CCCTCCGAGACAAGCGGCTACAACCTTCTACTTCTCTG AAGTCCGGCAGCCTGTACTCCGTGGTTCGTGACCACA GTGTCCGGGGGCATCTCCTCTAGAAGGTGGTGGTGG AAGGCCGCACCGTGCCTAGTTCAGTGTGAGGCGTGA CCGTGAACAACAGCGGCCGGAACGACTACCTGTCCG TGTCTTGGCTGCCTGCCCTGGGGACGTGGACAACCT ACGAAGTGACCCTGTCTCACGACGGCCGGGTGGTGC AGTCTCTCGTGATCGCTAAGTCCGTGCGGAGTGCTC CTCAGCAGCCTGACACCTGGCAGACTGTATAACCGT GACCATCACCACCAGATCCGGGAAGTACGAGAACCA CAGCTTCTCCAGGAACGAACCGTGCCCGACAAGGT GCAGGGCGTGTGAGTGTCTAACTCCGCCAGATCTGA CTACCTGAGAGTGTCTGGGTGCACGCCACCGGCCGA CTTCGACCATTATGAAGTGACAATCAAGAACAAGAA CAACTTCATCGAGACAAAGAGCATCCCCAAGTCCGA GAACGAGTGCCTGTTCTGTCAGCTGGTGCCAGGCAG GCTGTATTCTGTGACAGTGACCACCAAGTCCGGCCA GTACGAGGCCCTCTGAGCAGGGCAATGGCAGAACCG GCGGTGGACACCACCATCATCACCATCACCACCATC ACTAG</p>
<p>43</p>	<p>具有 C 末端 His₁₀ 标签的人 HPTP-η (人 HPTP-η ECD) 的蛋白质序列</p>	<p><u>MEWSWVFLFFLSVTTGVHS</u>AGGTPSPIPDPSVATVATG ENGITQISSTAESFHKQNGTGTPQVETNTSEDESSGAN DSLRTPEQGSNGTDGASQKTPSSTGSPVFDIKAVSISPT NVILTWKSNDAASEYKYVVKHKMENEKTITVVHQP WCNITGLRPATSYVFSITPGIGNETWGDPRVIKVITEPIP VSDLRVALTGVRKAALSWSNNGTASCRVLLESIGSH EELTQDSRLQVNISGLKPGVQYNINPYLLQSNKTKGDP LGTEGGLDASNTERS RAGSPTAPVHDESLVGPVDPSSG QQSRDTEVLLVGLPEGTRYNATVYSQAANGTEGQPQA</p>

[0295]

		<p>IEFRTNAIQVFDVTAVNISATSLTLIWKVSDNESSNYT YKIHVAGETDSSNLNVSEPRVIPGLRSSTFYNITVCPV LGDIEGTPGFLQVHTPPVPVSDFRVTVVSTTEIGLAWSS HDAESFQMHIQTQEGAGNSRVEITTNQSIIGGLFPGTKY CFEIVPKGPNGTEGASRTVCNRTVPSAVFDIHVVYVTT TEMWLDWKSPDGASEYVYHLVIESKHGSNHTSTYDK AITLQGLIPGTLYNITISPEVDHVWGDPNSTAQYTRPSN VSNIDVSTNTTAATLSWQNFDDASPTYSYCLLIEKAGN SSNATQVVTDIGITDATVTELIPGSSYTVEIFAQVGDGIK SLEPGRKSFCTDPASMASFDCEVVPKEPALVLKWTCP GANAGFELEVSSGAWNNATHLESCSSENGTEYRTEVT YLNFSTSYNISITTVSCGKMAAPTRNTCTTGITDPPPPD GSPNITSVSHNSVKVKFSGFEASHGPIKAYAVILTTGEA GHPSADVLKYTYEDFKKGASDTYVTYLIRTEEKGRSQS LSEVLKYEIDVGNESTTLGYYNGKLEPLGSYRACVAGF TNITFHPQNKGLIDGAESYVSFSRYSDAVSLPQDPGVIC GGGHHHHHHHHHH</p>
<p>44</p>	<p>具有 C 末端 His₁₀ 标签的人 HPTP-η (SEQ ID NO: 43) 的 DNA 序列</p>	<p>ATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTTCTTCTGTCAG TAACGACTGGTGTCCACTCCGCAGGTGGCACCCCTA GTCCAATTCCTGACCCTCAGTAGCAACTGTTGCCAC AGGGGAAAATGGCATAACGCAGATCAGCAGTACAG CAGAATCCTTTCATAAACAGAATGGAACCTGGAACAC CTCAGGTGGAAACAAACACCAGTGAGGATGGTGAA AGCTCTGGAGCCAACGATAGTTAAGAACACCTGAA CAAGGATCTAATGGGACTGATGGGGCATCTCAAAAA ACTCCCAGTAGCACTGGGCCAGTCCTGTGTTTGAC ATTAAAGCTGTTTCCATCAGTCCAACCAATGTGATCT TAACTTGGAAAAGTAATGACACAGCTGCTTCTGAGT ACAAGTATGTAGTAAAGCATAAGATGGAAAATGAG AAGACAATTACTGTTGTGCATCAACCATGGTGTAAC ATCACAGGCTTACGTCCAGCGACTTCATATGTATTCT CCATCACTCCAGGAATAGGCAATGAGACTTGGGGAG ATCCCAGAGTCATAAAAGTCATCACAGAGCCGATCC CAGTTTCTGATCTCCGTGTTGCCCTCACGGGTGTGAG</p>

[0296]

		GAAGGCTGCTCTCTCCTGGAGCAATGGCAATGGCAC TGCCTCCTGCCGGGTTCTTCTTGAAAGCATTGGAAGC CATGAGGAGTTGACTCAAGACTCAAGACTTCAGGTC AATATCTCGGGCCTGAAGCCAGGGGTTCAATACAAC ATCAACCCGTATCTTCTACAATCAAATAAGACAAAG GGAGACCCCTTGGGCACAGAAGGTGGCTTGGATGCC AGCAATACAGAGAGAAGCCGGGCAGGGAGCCCCAC CGCCCCTGTGCATGATGAGTCCCTCGTGGGACCTGT GGACCCATCCTCCGGCCAGCAGTCCCGAGACACGGA AGTCCTGCTTGTCGGGTTAGAGCCTGGCACCCGATA CAATGCCACCGTTTATTCCCAAGCAGCGAATGGCAC AGAAGGACAGCCCCAGGCCATAGAGTTCAGGACAA ATGCTATTCAGGTTTTTGACGTCACCGCTGTGAACAT CAGTGCCACAAGCCTGACCCTGATCTGAAAAGTCAG CGATAACGAGTCGTCATCTAACTATACTACAAGAT ACATGTGGCGGGGGAGACAGATTCTTCCAATCTCAA CGTCAGTGAGCCTCGCGCTGTCATCCCCGGACTCCG CTCCAGCACCTTCTACAACATCACAGTGTGTCCTGTC CTAGGTGACATCGAGGGCACGCCGGGCTTCCTCCAA GTGCACACCCCCCTGTTCCAGTTTCTGACTTCCGAG TGACAGTGGTCAGCACGACGGAGATCGGCTTAGCAT GGAGCAGCCATGATGCAGAATCATTTCAGATGCATA TCACACAGGAGGGAGCTGGCAATTCTCGGGTAGAAA TAACCACCAACCAAAGTATTATCATTGGTGGCTTGTT CCCTGGAACCAAGTATTGCTTTGAAATAGTTCCAAA AGGACCAAATGGGACTGAAGGGGCATCTCGGACAG TTTGCAATAGAACTGTTCCAGTGCAGTGTGTTGACAT CCACGTGGTCTACGTCACCACCACGGAGATGTGGCT GGACTGGAAGAGCCCTGACGGTGCTTCCGAGTATGT CTACCATTTAGTCATAGAGTCCAAGCATGGCTCTAA CCACACAAGCACGTATGACAAAGCGATTACTCTCCA GGGCCTGATTCCGGGCACCTTATATAACATCACCAT CTCTCCAGAAGTGGACCACGTCTGGGGGGACCCCAA CTCCACTGCACAGTACACACGGCCCAGCAATGTGTC
--	--	---

[0297]

		CAACATTGATGTAAGTACCAACACCACAGCAGCAAC TTTAAGTTGGCAGAACTTTGATGACGCCTCTCCCACG TACTCCTACTGCCTTCTTATTGAGAAGGCTGGAAATT CCAGCAACGCAACACAAGTAGTCACGGACATTGGAA TTAAGTACGCTACAGTCACTGAATTAATACCTGGCTC ATCATAACAGTGGAGATCTTTGCACAAGTAGGGGA TGGGATCAAGTCACTGGAACCTGGCCGGAAGTCATT CTGTACAGATCCTGCGTCCATGGCCTCCTTCGACTGC GAAGTGGTCCCCAAAGAGCCAGCCCTGGTTCTCAA TGGACCTGCCCTCCTGGCGCCAATGCAGGCTTTGAG CTGGAGGTCAGCAGTGGAGCCTGGAACAATGCGACC CACCTGGAGAGCTGCTCCTCTGAGAATGGCACTGAG TATAGAACGGAAGTCACGTATTTGAATTTTCTACCT CGTACAACATCAGCATCACCCTGTGCTCCTGTGGAA AGATGGCAGCCCCACCCGGAACACCTGCACTACTG GCATCACAGATCCCCCTCCTCCAGATGGATCCCCTA ATATTACATCTGTCAGTCACAATTCAGTAAAGGTCA AGTTCAGTGGATTTGAAGCCAGCCACGGACCCATCA AAGCCTATGCTGTCATTCTCACCACCGGGGAAGCTG GTCACCCCTTCTGCAGATGTCCTGAAATACACGTATG AGGATTTCAAAAAGGGAGCCTCAGATACTTATGTGA CATACTCATAAGAACAGAAGAAAAGGGACGTTCTC AGAGCTTGTCTGAAGTTTTGAAATATGAAATTGACG TTGGGAATGAGTCAACCACACTTGGTTATTACAATG GGAAGCTGGAACCTCTGGGCTCCTACCGGGCTTGTG TGGCTGGCTTCACCAACATTACCTTCCACCCTCAAAA CAAGGGGCTCATTGATGGGGCTGAGAGCTATGTGTC CTTGAGTCGCTACTCAGATGCTGTTTCCTTGCCCCAG GATCCAGGTGTCATCTGTGGCGGTGGACACCACCAT CATCACCATCACCACCATCACTAG
--	--	---

[0298] 在包被缓冲液 (pH 9.4) 中将HPTP-β、食蟹猴PTP-β和HPTP-η蛋白质包被在ELISA板上。将每种蛋白质制备为50mM碳酸盐-碳酸氢盐中的1μg/mL蛋白质储液。将包被的蛋白质以100μL/孔的体积等分到无菌透明的聚苯乙烯平底96孔板中。将板在4℃下温育过夜。在过夜温育后,将板用200μL/孔的1x PBS-T(含有0.05%吐温20的PBS)洗涤3次。免疫蛋白质是人VE-PTP(HPTP-β)。然后用200μL/孔的PBS-T中的5%印迹级封闭剂脱脂奶粉封闭板,并在室温下温育1小时。

[0299] 制备用于人源化变体和阴性对照的第一抗体样品抗hCD20-hIgG4S228P,其在PBS中的5%印迹级封闭剂脱脂奶粉中使用1μg/孔。样品一式三份进行测试。将Fab抗体片段与

IgG抗体相同处理。然后将板用PBS-T洗涤3次,并在每个孔中添加100 μ L的第一抗体制剂。然后将板在室温下温育1小时。

[0300] 通过在PBS中的印迹级封闭剂脱脂奶粉中以1:2,000稀释度稀释过氧化物酶缀合的亲纯化的驴抗人IgG特异性第二抗体来制备第二抗体样品。然后将板用PBS-T洗涤3次,并在每个孔中添加100 μ L的第二抗体制剂。然后将板在室温下温育1小时。温育后,将板用PBS-T洗涤3次。

[0301] 然后,在每个孔中添加75 μ g/1-Step™ Ultra TMB-ELISA,并使板在室温下显影5分钟。5分钟后,向每个孔添加50 μ L的2M硫酸以终止反应。然后在读板器上以450nm的吸收波长分析板。

[0302] 图5图示了针对物种特异性VE-PTP和HPTP- η 筛选的R15E6的western印迹。R15E6对人VE-PTP (HPTP- β ;泳道1和4) 具有较高选择性。未观察到与人PTP- η 或食蟹猴VE-PTP (食蟹猴PTP- β) 的显著结合。用R15E6和可商购的6-His抗体依次探测所示的重组六组氨酸标记的蛋白质(6-His)。可商购的6-His抗体显示出与所有蛋白质靶标的结合,并显示出对人VE-PTP (HPTP- β) 的较差选择性。

[0303] 使用ELISA测量每种人源化变体与抗原人VE-PTP (HPTP- β) 的亲合力。将100mg/孔的VE-PTP (HPTP- β) 抗原在包被缓冲液(0.5mM NaHCO₃,通过添加0.5mM Na₂CO₃使pH达到9.6) 中在96孔Maxisorp板上在4°C下固定过夜。然后去除包被缓冲液并添加200 μ L/孔的封闭溶液(3%w/v半脱脂奶粉,PBS),并在室温下摇动2小时。将板用PBS-T(1%v/v吐温20)洗涤4次。添加100 μ L/孔的纯化的R15E6变体,其在PBS-TB(0.05%v/v吐温20,0.5%w/v BSA)中从10,000ng/mL连续稀释至9.765ng/mL。在室温下摇动2小时后,将板用PBS-T洗涤4次。然后添加100 μ L/孔的以1:60,000PBS的比例稀释的山羊抗人HRP (Fc特异性),并将板在室温下在摇动下再温育1小时。然后将板用PBS-T洗涤6次并在PBS中洗涤1次。接下来,添加100 μ L/孔的TMB底物溶液并在37°C下温育10分钟。每孔添加50 μ L 1M HCl,并将板在Tecan Sunrise读板器上在450nm处立即读数。ELISA结果在图14-图17中示出。与嵌合HC0LC0抗体相比,HC1、HC2和HC3变体通常显示出相似的结合特性。与HC0LC0相比,HC4变体的结合比与其他重链变体的结合低得多(图17)。

[0304] 通过Biacore分析进一步评估每种变体的样品以确定结合亲和力。在25°C下在Biacore 3000™上进行抗体结合实验。测定缓冲液:10mM HEPES缓冲液(pH 7.4)、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05%P20(聚氧乙烯失水山梨醇)。再生缓冲液:10mM甘氨酸HCl(pH 1.75)。缀合缓冲液:10mM醋酸钠缓冲液(pH 5)。用于捕获配体的流速为5 μ L/min。用于动力学分析的流速为50 μ L/min。CM5芯片的流动池1和2用最大量的山羊抗人IgG包被。如所示,在流动池2、3和4上捕获大约150RU的测试抗体。抗原流过芯片。实时监测抗原与抗体的结合。根据观察到的 k_{on} 和 k_{off} 值确定 K_D 。

[0305] 如所示使用单一分析物浓度进行探测分析。在这些浓度下,即使配体结合较弱,也可观察到结合。流动池1响应用于进行参考减法。

[0306] 对具有2倍连续稀释的对照抗体进行完整的动力学分析,分析物的浓度范围如所示:50、25、12.5、6.25、3.125和0nM。

[0307] 表17示出了每种人源化抗体与VE-PTP (HPTP- β) ECD结合的结合动力学参数,包括通过Biacore结合测定所确定的结合速率(k_a)、解离速率(k_d)、最大结合能力(R_{max})、结合常

数 (K_A) 和解离常数 (K_D)。 R_{max} 测量为相对响应。所有人源化候选物表现出与小鼠/人嵌合抗体 HC0LC0 相似的结合亲和力。

[0308] 表17

配体	分析物	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	R_{max} (RU)	分析物的浓度	K_A (1/M)	K_D (M)
HC0:LC0 (150RU)	½ VE- PTP ECD	2.09×10^5	6.56×10^{-4}	27.2	50-0 nM	3.18×10^8	3.14×10^{-9}
		6.71×10^4	4.17×10^{-4}	69.6	100 nM	1.61×10^8	6.22×10^{-9}
HC2:LC4 (145RU)	½ VE- PTP ECD	9.86×10^5	4.29×10^{-4}	13.9	50-0 nM	2.30×10^9	4.36×10^{-10}
		5.15×10^4	6.68×10^{-4}	67.3	100 nM	7.72×10^7	1.30×10^{-8}
HC2:LC1 (140RU)	½ VE- PTP ECD	1.08×10^6	7.23×10^{-5}	8.38	50-0 nM	1.5×10^{10}	6.68×10^{-11}
		4.98×10^4	6.88×10^{-4}	54.2	100 nM	7.24×10^7	1.38×10^{-8}
HC1:LC2 (150RU)	½ VE- PTP ECD	4.10×10^5	9.47×10^{-4}	29.6	50-0 nM	4.33×10^8	2.31×10^{-9}
		2.51×10^5	7.69×10^{-4}	52.4	100 nM	3.27×10^8	3.06×10^{-9}
HC2:LC3 (145RU)	½ VE- PTP ECD	8.90×10^5	1.23×10^{-3}	22.6	25-0 nM	6.75×10^8	1.48×10^{-9}
		2.22×10^5	6.62×10^{-4}	38.8	100 nM	3.36×10^8	2.98×10^{-9}
HC3:LC2 (140RU)	½ VE- PTP ECD	5.39×10^4	1.23×10^{-3}	104	25-0 nM	4.30×10^7	2.32×10^{-8}
		2.05×10^5	9.93×10^{-4}	36.8	100 nM	2.06×10^8	4.84×10^{-9}
HC1:LC4 (150RU)	½ VE- PTP ECD	5.96×10^5	1.34×10^{-3}	24.6	50-0 nM	4.44×10^8	2.25×10^{-9}
		1.79×10^5	7.92×10^{-4}	49	100 nM	2.26×10^8	4.42×10^{-9}
HC2:LC2 (145RU)	½ VE- PTP ECD	4.25×10^4	2.15×10^{-3}	313	25-0 nM	1.98×10^7	5.06×10^{-8}
		1.49×10^5	5.24×10^{-4}	40.8	100 nM	2.85×10^8	3.51×10^{-9}
HC3:LC4 (140RU)	½ VE- PTP ECD	1.34×10^5	1.09×10^{-3}	42.8	25-0 nM	1.23×10^8	8.14×10^{-9}
		1.39×10^5	8.87×10^{-4}	44.7	100 nM	1.59×10^8	6.29×10^{-9}

[0309]

[0310] 表18示出了通过ELISA测定的人源化抗体与亲本抗体 (R15E6) 和无活性对照 (IgG4) 相比的结合选择性。小于或等于0.2的值表示没有结合。与人PTP- η 和食蟹猴PTP- β 没有显著结合表明,人源化抗体候选物、亲本R15E6和小鼠/人嵌合抗体 (HC0:LC0) 均表现出对人VE-PTP (HPTP- β) 具有较高选择性。

[0311] 表18

克隆 (1 μ g/孔)	人 VE-PTP	人 PTP η	全鼠嵌 VE-PTP
HC0:LC0	1.80	0.16	0.12
HC1:LC2	1.75	0.12	0.13
HC1:LC4	1.74	0.12	0.19
HC2:LC1	1.81	0.13	0.18
[0312] HC2:LC2	1.92	0.12	0.12
HC2:LC3	1.55	0.12	0.13
HC2:LC4	1.65	0.11	0.13
HC3:LC4	2.00	0.11	0.14
亲本	2.43	0.14	0.17
IgG4	0.20	0.13	0.16

[0313] 用于靶向人VE-PTP (HPTP- β) 的人源化抗体可通过自身磷酸化恢复Tie2活性并启动下游效应物, 包括例如PI3K-Akt途径中的蛋白质。除了评估抗体与人VE-PTP (HPTP- β) 的结合外, 还测量了抗体激活这些效应蛋白的能力。图18图示了通过western印迹测定的人源化变体在Tie2配体 (例如, Ang1或Ang2) 不存在的情况下对Tie2 (左图) 和Akt (右图) 的激活。人源化变体的活性与亲本鼠抗体R15E6和嵌合抗体HC0LC0的活性相似。使用人IgG4作为对照。所有抗体均在50nM下测试。上图中的每个印记示出了Tie2或Akt的磷酸化, 表明Tie2或Akt激活。Tie2和Akt在用人源化抗体处理的样品中比在用对照抗体处理的那些样品中表现出更强的磷酸化, 并表明即使在不存在配体的情况下, 人源化抗体也对激活Tie2和Akt有效。

[0314] 图19图示了通过western印迹测定的人源化抗体HC2LC4和HC1LC1在Tie2配体 (例如, Ang1或Ang2) 不存在的情况下对Tie2 (上图) 和Akt (下图) 的浓度依赖性激活。在低纳摩尔浓度的人源化变体下观察到Tie2和Akt信号传导活性。上图中的每个印记示出了Tie2或Akt的磷酸化, 表明Tie2或Akt激活。Tie2和Akt在用人源化抗体处理的样品中表现出比用对照抗体处理的样品中表现出的更强的磷酸化。该结果表明即使在不存在Ang1的情况下, 人源化抗体也对激活Tie2和Akt有效。

[0315] 图20图示了通过western印迹测定的人源化抗体候选物HC2LC4和HC1LC1在Ang1和Ang2存在的情况下对Tie2 (左图) 和Akt (右图) 的激活。Tie2和Akt磷酸化的增加分别表明HC2LC4和HC1LC1在Ang2存在的情况下激活Tie2和Akt两者, 并且增强Ang1介导的Tie2和Akt激活。所有抗体均在10nM下测试。

[0316] 图21图示了通过western印迹测定的人源化抗体候选物HC2LC1和HC2LC4在Ang1或Ang2存在的情况下对Tie2 (图A)、人VE-PTP (HPTP- β) 表达 (图B) 和Akt (图C) 的激活。HC2LC1和HC2LC4在Ang1单独存在、Ang2单独存在和Ang1和Ang2均存在的情况下激活Tie2。将抗体预温育15分钟, 然后通过Ang1或Ang2以600ng/mL的浓度刺激10min。所有抗体均在10nM下测试。

[0317] 图22图示了使用人源化抗体候选物HC2LC1对HUVEC中的Akt的激活。上图中的前三个印迹示出了在HC2LC1浓度增加时Akt的磷酸化,表明Akt激活。与结合亲和力研究一致,HC2LC1在纳摩尔浓度的抗体下激活Akt。通过将抗体与人VE-PTP (HPTP- β) 胞外域(β ECD 6His和 β ECD Fc) 预温育来阻断HC2LC1对Akt的激活。该结果表明,HC2LC1介导的Akt激活通过HC2LC1与人VE-PTP (HPTP- β) 胞外域的结合而发生。

[0318] 图23图示了与亲本抗体R15E6和mIgG1对照相比,使用人源化抗体候选物HC2LC1和HC0LC0增强了血清饥饿HUVEC的活力。

[0319] 实施方案

[0320] 实施方案1.一种化合物,其包含与SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:12至少80%相同的序列。

[0321] 实施方案2.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:12至少85%相同。

[0322] 实施方案3.如实施方案1-2中任一项所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:12至少90%相同。

[0323] 实施方案4.如实施方案1-3中任一项所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:12至少95%相同。

[0324] 实施方案5.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:9至少80%相同。

[0325] 实施方案6.如实施方案1-5中任一项所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:9。

[0326] 实施方案7.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:10至少80%相同。

[0327] 实施方案8.如实施方案1-4和7中任一项所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:10。

[0328] 实施方案9.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:11至少80%相同。

[0329] 实施方案10.如实施方案1-4和9中任一项所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:11。

[0330] 实施方案11.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:12至少80%相同。

[0331] 实施方案12.如实施方案1-4和11中任一项所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:12。

[0332] 实施方案13.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:29至少80%相同。

[0333] 实施方案14.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:29。

[0334] 实施方案15.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:30至少80%相同。

[0335] 实施方案16.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:30。

[0336] 实施方案17.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:31至少80%

相同。

[0337] 实施方案18.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:31。

[0338] 实施方案19.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:32至少80%相同。

[0339] 实施方案20.如实施方案1所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:32。

[0340] 实施方案21.如实施方案1-20中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制酪氨酸磷酸酶。

[0341] 实施方案22.如实施方案1-21中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制HPTP- β 。

[0342] 实施方案23.如实施方案1-22中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制VE-PTP。

[0343] 实施方案24.如实施方案1-23中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Tie2。

[0344] 实施方案25.如实施方案1-24中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Akt。

[0345] 实施方案26.如实施方案1-25中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域结合。

[0346] 实施方案27.如实施方案1-26中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域的第一个FN3重复序列结合。

[0347] 实施方案28.如实施方案1-27中任一项所述的化合物,其中所述化合物与所述HPTP- β 的胞外域的结合亲和力(K_D)为约70pM至约70nM。

[0348] 实施方案29.一种化合物,其包含与SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23至少80%相同的序列。

[0349] 实施方案30.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23至少85%相同。

[0350] 实施方案31.如实施方案29-30中任一项所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23至少90%相同。

[0351] 实施方案32.如实施方案29-31中任一项所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23至少95%相同。

[0352] 实施方案33.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:20至少80%相同。

[0353] 实施方案34.如实施方案29-33中任一项所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:20。

[0354] 实施方案35.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:21至少80%相同。

[0355] 实施方案36.如实施方案29-32和35中任一项所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:21。

[0356] 实施方案37.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:22至少80%相同。

[0357] 实施方案38.如实施方案29-32和37中任一项所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:22。

- [0358] 实施方案39.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:23至少80%相同。
- [0359] 实施方案40.如实施方案29-32和39中任一项所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:23。
- [0360] 实施方案41.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:34至少80%相同。
- [0361] 实施方案42.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:34。
- [0362] 实施方案43.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:35至少80%相同。
- [0363] 实施方案44.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:35。
- [0364] 实施方案45.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:36至少80%相同。
- [0365] 实施方案46.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:36。
- [0366] 实施方案47.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列与SEQ ID NO:37至少80%相同。
- [0367] 实施方案48.如实施方案29所述的化合物,其中所述序列是SEQ ID NO:37。
- [0368] 实施方案49.如实施方案29-48中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制酪氨酸磷酸酶。
- [0369] 实施方案50.如实施方案29-49中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制HPTP- β 。
- [0370] 实施方案51.如实施方案29-50中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制VE-PTP。
- [0371] 实施方案52.如实施方案29-51中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Tie2。
- [0372] 实施方案53.如实施方案29-52中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Akt。
- [0373] 实施方案54.如实施方案29-53中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域结合。
- [0374] 实施方案55.如实施方案29-54中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域的第一个FN3重复序列结合。
- [0375] 实施方案56.如实施方案29-55中任一项所述的化合物,其中所述化合物与所述HPTP- β 的胞外域的结合亲和力(K_D)为约70pM至约70nM。
- [0376] 实施方案57.一种化合物,其包含:a)包含与SEQ ID NO:30至少80%相同的序列的重链;和b)包含与SEQ ID NO:34至少80%相同的序列的轻链。
- [0377] 实施方案58.如实施方案57所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:30至少85%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:34至少85%相同。
- [0378] 实施方案59.如实施方案57-58中任一项所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:30至少90%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:34至少90%相同。
- [0379] 实施方案60.如实施方案57-59中任一项所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:30至少95%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:34至少95%相同。

- [0380] 实施方案61.如实施方案57-60中任一项所述的化合物,其中所述重链是SEQ ID NO:30并且所述轻链是SEQ ID NO:34。
- [0381] 实施方案62.如实施方案57-61中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制酪氨酸磷酸酶。
- [0382] 实施方案63.如实施方案57-62中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制HPTP- β 。
- [0383] 实施方案64.如实施方案57-63中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制VE-PTP。
- [0384] 实施方案65.如实施方案57-64中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Tie2。
- [0385] 实施方案66.如实施方案57-65中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Akt。
- [0386] 实施方案67.如实施方案57-66中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域结合。
- [0387] 实施方案68.如实施方案57-67中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域的第一个FN3重复序列结合。
- [0388] 实施方案69.如实施方案57-68中任一项所述的化合物,其中所述化合物与所述HPTP- β 的胞外域的结合亲和力(K_D)为约70pM至约70nM。
- [0389] 实施方案70.一种化合物,其包含:a)包含与SEQ ID NO:29至少80%相同的序列的重链;和b)包含与SEQ ID NO:35至少80%相同的序列的轻链。
- [0390] 实施方案71.如实施方案70所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:29至少85%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:35至少85%相同。
- [0391] 实施方案72.如实施方案70-71中任一项所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:29至少90%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:35至少90%相同。
- [0392] 实施方案73.如实施方案70-72中任一项所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:29至少95%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:35至少95%相同。
- [0393] 实施方案74.如实施方案70-73中任一项所述的化合物,其中所述重链是SEQ ID NO:29并且所述轻链是SEQ ID NO:35。
- [0394] 实施方案75.如实施方案70-74中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制酪氨酸磷酸酶。
- [0395] 实施方案76.如实施方案70-75中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制HPTP- β 。
- [0396] 实施方案77.如实施方案70-76中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制VE-PTP。
- [0397] 实施方案78.如实施方案70-77中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Tie2。
- [0398] 实施方案79.如实施方案70-78中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Akt。
- [0399] 实施方案80.如实施方案70-79中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域结合。
- [0400] 实施方案81.如实施方案70-80中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β

的胞外域的第一个FN3重复序列结合。

[0401] 实施方案82.如实施方案70-81中任一项所述的化合物,其中所述化合物与所述HPTP- β 的胞外域的结合亲和力(K_p)为约70pM至约70nM。

[0402] 实施方案83.一种化合物,其包含:a)包含与SEQ ID NO:30至少80%相同的序列的重链;和b)包含与SEQ ID NO:37至少80%相同的序列的轻链。

[0403] 实施方案84.如实施方案83所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:30至少85%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:37至少85%相同。

[0404] 实施方案85.如实施方案83-84中任一项所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:30至少90%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:37至少90%相同。

[0405] 实施方案86.如实施方案83-85中任一项所述的化合物,其中所述重链与SEQ ID NO:30至少95%相同;并且所述轻链与SEQ ID NO:37至少95%相同。

[0406] 实施方案87.如实施方案83-86中任一项所述的化合物,其中所述重链是SEQ ID NO:30并且所述轻链是SEQ ID NO:37。

[0407] 实施方案88.如实施方案83-87中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制酪氨酸磷酸酶。

[0408] 实施方案89.如实施方案83-88中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制HPTP- β 。

[0409] 实施方案90.如实施方案83-89中任一项所述的化合物,其中所述化合物抑制VE-PTP。

[0410] 实施方案91.如实施方案83-90中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Tie2。

[0411] 实施方案92.如实施方案83-91中任一项所述的化合物,其中所述化合物激活Akt。

[0412] 实施方案93.如实施方案83-92中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域结合。

[0413] 实施方案94.如实施方案83-93中任一项所述的化合物,其中所述化合物与HPTP- β 的胞外域的第一个FN3重复序列结合。

[0414] 实施方案95.如实施方案83-94中任一项所述的化合物,其中所述化合物与所述HPTP- β 的胞外域的结合亲和力(K_p)为约70pM至约70nM。

[0415] 实施方案96.一种治疗有需要的受试者的病况的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案1-95中任一项所述的化合物。

[0416] 实施方案97.如实施方案96所述的方法,其中所述病况是眼部病况。

[0417] 实施方案98.如实施方案96或97所述的方法,其中所述病况是糖尿病视网膜病变。

[0418] 实施方案99.如实施方案96-97中任一项所述的方法,其中所述病况是新血管形成。

[0419] 实施方案100.如实施方案96-97中任一项所述的方法,其中所述病况是血管渗漏。

[0420] 实施方案101.如实施方案96-97中任一项所述的方法,其中所述病况是眼内压增加。

[0421] 实施方案102.如实施方案96-97中任一项所述的方法,其中所述病况是眼部水肿。

[0422] 实施方案103.如实施方案96或97所述的方法,其中所述病况是糖尿病黄斑水肿。

- [0423] 实施方案104.如实施方案96或97中任一项所述的方法,其中所述病况是高眼压症。
- [0424] 实施方案105.如实施方案96或97所述的方法,其中所述病况是眼部炎症。
- [0425] 实施方案106.如实施方案96-105中任一项所述的方法,其中所述施用是向所述受试者的眼睛施用。
- [0426] 实施方案107.如实施方案96-106中任一项所述的方法,其中所述施用是玻璃体内施用。
- [0427] 实施方案108.如实施方案96-105中任一项所述的方法,其中所述施用是皮下施用。
- [0428] 实施方案109.如实施方案96-106中任一项所述的方法,其中所述施用是局部施用。
- [0429] 实施方案110.如实施方案96-109中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。
- [0430] 实施方案111.如实施方案96-110中任一项所述的方法,其中所述化合物的治疗有效量为约0.25mg至约200mg。
- [0431] 实施方案112.如实施方案96-110中任一项所述的方法,其中所述化合物的治疗有效量为约1mg/kg至约10mg/kg。
- [0432] 实施方案113.如实施方案96-110中任一项所述的方法,其中所述化合物的治疗有效量为约1mg至约50mg。
- [0433] 实施方案114.如实施方案96-110中任一项所述的方法,其中所述化合物的治疗有效量为约50mg至约200mg。

[0001] 序列表

[0002] <110> 爱尔皮奥治疗有限公司

[0003] <120> 靶向VE-PTP (HPTP- β) 的人源化单克隆抗体

[0004] <130> 45725-724.201

[0005] <140> 15/654,289

[0006] <141> 2017-07-19

[0007] <150> 62/377,072

[0008] <151> 2016-08-19

[0009] <150> 62/364,381

[0010] <151> 2016-07-20

[0011] <160> 56

[0012] <170> PatentIn 版本3.5

[0013] <210> 1

[0014] <211> 141

[0015] <212> PRT

[0016] <213> 人工序列

[0017] <220>

[0018] <223> 人工序列的描述:合成的

[0019] 多肽

[0020] <400> 1

[0021] Met Asp Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Gly

[0022] 1 5 10 15

[0023] Val His Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln

[0024] 20 25 30

[0025] Pro Lys Gly Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe

[0026] 35 40 45

[0027] Asn Ala Asn Ala Met Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

[0028] 50 55 60

[0029] Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr

[0030] 65 70 75 80

[0031] Tyr Ala Gly Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala

[0032] 85 90 95

[0033] Gln Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr

[0034] 100 105 110

[0035] Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile

[0036] 115 120 125

[0037] Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

[0038] 130 135 140

[0039] <210> 2

[0040] <211> 100

[0041] <212> PRT

[0042] <213> 智人
 [0043] <400> 2
 [0044] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0045] 1 5 10 15
 [0046] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
 [0047] 20 25 30
 [0048] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0049] 35 40 45
 [0050] Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
 [0051] 50 55 60
 [0052] Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 [0053] 65 70 75 80
 [0054] Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 [0055] 85 90 95
 [0056] Tyr Cys Thr Arg
 [0057] 100
 [0058] <210> 3
 [0059] <211> 100
 [0060] <212> PRT
 [0061] <213> 智人
 [0062] <400> 3
 [0063] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0064] 1 5 10 15
 [0065] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
 [0066] 20 25 30
 [0067] Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0068] 35 40 45
 [0069] Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
 [0070] 50 55 60
 [0071] Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 [0072] 65 70 75 80
 [0073] Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 [0074] 85 90 95
 [0075] Tyr Cys Ala Arg
 [0076] 100
 [0077] <210> 4
 [0078] <211> 98
 [0079] <212> PRT
 [0080] <213> 智人
 [0081] <400> 4
 [0082] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0083] 1 5 10 15

[0084] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 [0085] 20 25 30
 [0086] Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0087] 35 40 45
 [0088] Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 [0089] 50 55 60
 [0090] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 [0091] 65 70 75 80
 [0092] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0093] 85 90 95
 [0094] Ala Arg
 [0095] <210> 5
 [0096] <211> 122
 [0097] <212> PRT
 [0098] <213> 智人
 [0099] <400> 5
 [0100] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0101] 1 5 10 15
 [0102] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
 [0103] 20 25 30
 [0104] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0105] 35 40 45
 [0106] Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
 [0107] 50 55 60
 [0108] Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 [0109] 65 70 75 80
 [0110] Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ala Tyr
 [0111] 85 90 95
 [0112] Tyr Cys Ile Arg Asp Tyr Tyr Gly Ala Thr Arg Gly Phe Gln His Trp
 [0113] 100 105 110
 [0114] Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 [0115] 115 120
 [0116] <210> 6
 [0117] <211> 120
 [0118] <212> PRT
 [0119] <213> 智人
 [0120] <400> 6
 [0121] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0122] 1 5 10 15
 [0123] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
 [0124] 20 25 30
 [0125] Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0126]	35	40	45
[0127]	Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala		
[0128]	50	55	60
[0129]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser		
[0130]	65	70	75
[0131]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[0132]	85	90	95
[0133]	Tyr Cys Ala Arg Tyr Val Val Gly Ala Thr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln		
[0134]	100	105	110
[0135]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0136]	115	120	
[0137]	<210> 7		
[0138]	<211> 129		
[0139]	<212> PRT		
[0140]	<213> 智人		
[0141]	<400> 7		
[0142]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[0143]	1	5	10
[0144]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Gly Asp Tyr		
[0145]	20	25	30
[0146]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[0147]	35	40	45
[0148]	Gly Phe Ile Arg Ser Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala		
[0149]	50	55	60
[0150]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ile		
[0151]	65	70	75
[0152]	Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[0153]	85	90	95
[0154]	Tyr Cys Thr Arg Asp Pro Ala Asp Phe Tyr Tyr Tyr Ser Ser Gly Gln		
[0155]	100	105	110
[0156]	Thr Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
[0157]	115	120	125
[0158]	Ser		
[0159]	<210> 8		
[0160]	<211> 120		
[0161]	<212> PRT		
[0162]	<213> 智人		
[0163]	<400> 8		
[0164]	Leu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly		
[0165]	1	5	10
[0166]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr		
[0167]	20	25	30

[0168]	Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0169]	35 40 45
[0170]	Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[0171]	50 55 60
[0172]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[0173]	65 70 75 80
[0174]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val His Tyr Cys
[0175]	85 90 95
[0176]	Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Tyr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
[0177]	100 105 110
[0178]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0179]	115 120
[0180]	<210> 9
[0181]	<211> 122
[0182]	<212> PRT
[0183]	<213> 人工序列
[0184]	<220>
[0185]	<223> 人工序列的描述:合成的
[0186]	多肽
[0187]	<400> 9
[0188]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0189]	1 5 10 15
[0190]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ala Asn
[0191]	20 25 30
[0192]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0193]	35 40 45
[0194]	Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Gly
[0195]	50 55 60
[0196]	Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
[0197]	65 70 75 80
[0198]	Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ala Tyr
[0199]	85 90 95
[0200]	Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile Thr Tyr Trp
[0201]	100 105 110
[0202]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0203]	115 120
[0204]	<210> 10
[0205]	<211> 122
[0206]	<212> PRT
[0207]	<213> 人工序列
[0208]	<220>
[0209]	<223> 人工序列的描述:合成的

[0210]	多肽
[0211]	<400> 10
[0212]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0213]	1 5 10 15
[0214]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ala Asn
[0215]	20 25 30
[0216]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0217]	35 40 45
[0218]	Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Gly
[0219]	50 55 60
[0220]	Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
[0221]	65 70 75 80
[0222]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[0223]	85 90 95
[0224]	Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile Thr Tyr Trp
[0225]	100 105 110
[0226]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0227]	115 120
[0228]	<210> 11
[0229]	<211> 122
[0230]	<212> PRT
[0231]	<213> 人工序列
[0232]	<220>
[0233]	<223> 人工序列的描述:合成的
[0234]	多肽
[0235]	<400> 11
[0236]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[0237]	1 5 10 15
[0238]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ala Asn
[0239]	20 25 30
[0240]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0241]	35 40 45
[0242]	Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Gly
[0243]	50 55 60
[0244]	Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ile
[0245]	65 70 75 80
[0246]	Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[0247]	85 90 95
[0248]	Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile Thr Tyr Trp
[0249]	100 105 110
[0250]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0251]	115 120

[0294]	Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
[0295]	85 90 95
[0296]	Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser
[0297]	100 105 110
[0298]	Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0299]	115 120 125
[0300]	<210> 14
[0301]	<211> 95
[0302]	<212> PRT
[0303]	<213> 智人
[0304]	<400> 14
[0305]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0306]	1 5 10 15
[0307]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
[0308]	20 25 30
[0309]	Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
[0310]	35 40 45
[0311]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0312]	50 55 60
[0313]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0314]	65 70 75 80
[0315]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro
[0316]	85 90 95
[0317]	<210> 15
[0318]	<211> 101
[0319]	<212> PRT
[0320]	<213> 智人
[0321]	<400> 15
[0322]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[0323]	1 5 10 15
[0324]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
[0325]	20 25 30
[0326]	Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
[0327]	35 40 45
[0328]	Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
[0329]	50 55 60
[0330]	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
[0331]	65 70 75 80
[0332]	Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
[0333]	85 90 95
[0334]	Tyr Tyr Ser Thr Pro
[0335]	100

[0336] <210> 16
 [0337] <211> 107
 [0338] <212> PRT
 [0339] <213> 智人
 [0340] <400> 16
 [0341] Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0342] 1 5 10 15
 [0343] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 [0344] 20 25 30
 [0345] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 [0346] 35 40 45
 [0347] Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [0348] 50 55 60
 [0349] Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 [0350] 65 70 75 80
 [0351] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Leu Gly Gly Tyr Pro Leu
 [0352] 85 90 95
 [0353] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 [0354] 100 105
 [0355] <210> 17
 [0356] <211> 113
 [0357] <212> PRT
 [0358] <213> 智人
 [0359] <400> 17
 [0360] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 [0361] 1 5 10 15
 [0362] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
 [0363] 20 25 30
 [0364] Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 [0365] 35 40 45
 [0366] Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 [0367] 50 55 60
 [0368] Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 [0369] 65 70 75 80
 [0370] Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 [0371] 85 90 95
 [0372] Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 [0373] 100 105 110
 [0374] Lys
 [0375] <210> 18
 [0376] <211> 107
 [0377] <212> PRT

[0378]	<213>	智人
[0379]	<400>	18
[0380]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[0381]	1	5 10 15
[0382]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gly Ser Ser	
[0383]		20 25 30
[0384]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[0385]		35 40 45
[0386]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[0387]		50 55 60
[0388]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0389]		65 70 75 80
[0390]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln His His Asp Tyr Pro Leu	
[0391]		85 90 95
[0392]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[0393]		100 105
[0394]	<210>	19
[0395]	<211>	113
[0396]	<212>	PRT
[0397]	<213>	智人
[0398]	<400>	19
[0399]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly	
[0400]	1	5 10 15
[0401]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Tyr Ser	
[0402]		20 25 30
[0403]	Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln	
[0404]		35 40 45
[0405]	Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val	
[0406]		50 55 60
[0407]	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr	
[0408]		65 70 75 80
[0409]	Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln	
[0410]		85 90 95
[0411]	Tyr Tyr Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile	
[0412]		100 105 110
[0413]	Lys	
[0414]	<210>	20
[0415]	<211>	107
[0416]	<212>	PRT
[0417]	<213>	人工序列
[0418]	<220>	
[0419]	<223>	人工序列的描述:合成的

- [0420] 多肽
- [0421] <400> 20
- [0422] Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
- [0423] 1 5 10 15
- [0424] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Ala
- [0425] 20 25 30
- [0426] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
- [0427] 35 40 45
- [0428] Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
- [0429] 50 55 60
- [0430] Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
- [0431] 65 70 75 80
- [0432] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
- [0433] 85 90 95
- [0434] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
- [0435] 100 105
- [0436] <210> 21
- [0437] <211> 107
- [0438] <212> PRT
- [0439] <213> 人工序列
- [0440] <220>
- [0441] <223> 人工序列的描述:合成的
- [0442] 多肽
- [0443] <400> 21
- [0444] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
- [0445] 1 5 10 15
- [0446] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Ala
- [0447] 20 25 30
- [0448] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
- [0449] 35 40 45
- [0450] Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
- [0451] 50 55 60
- [0452] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
- [0453] 65 70 75 80
- [0454] Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
- [0455] 85 90 95
- [0456] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
- [0457] 100 105
- [0458] <210> 22
- [0459] <211> 107
- [0460] <212> PRT
- [0461] <213> 人工序列

[0462] <220>
 [0463] <223> 人工序列的描述:合成的
 [0464] 多肽
 [0465] <400> 22
 [0466] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 [0467] 1 5 10 15
 [0468] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Ala
 [0469] 20 25 30
 [0470] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 [0471] 35 40 45
 [0472] Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [0473] 50 55 60
 [0474] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 [0475] 65 70 75 80
 [0476] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
 [0477] 85 90 95
 [0478] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 [0479] 100 105
 [0480] <210> 23
 [0481] <211> 107
 [0482] <212> PRT
 [0483] <213> 人工序列
 [0484] <220>
 [0485] <223> 人工序列的描述:合成的
 [0486] 多肽
 [0487] <400> 23
 [0488] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 [0489] 1 5 10 15
 [0490] Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Ala
 [0491] 20 25 30
 [0492] Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
 [0493] 35 40 45
 [0494] Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 [0495] 50 55 60
 [0496] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
 [0497] 65 70 75 80
 [0498] Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
 [0499] 85 90 95
 [0500] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0501] 100 105
 [0502] <210> 24
 [0503] <211> 19

[0546]	100	105	110
[0547]	Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
[0548]	115	120	125
[0549]	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
[0550]	130	135	140
[0551]	Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
[0552]	145	150	155
[0553]	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
[0554]	165	170	175
[0555]	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
[0556]	180	185	190
[0557]	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
[0558]	195	200	205
[0559]	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
[0560]	210	215	220
[0561]	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
[0562]	225	230	235
[0563]	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
[0564]	245	250	255
[0565]	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
[0566]	260	265	270
[0567]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
[0568]	275	280	285
[0569]	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser		
[0570]	290	295	300
[0571]	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
[0572]	305	310	315
[0573]	Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
[0574]	325		
[0575]	<210> 27		
[0576]	<211> 106		
[0577]	<212> PRT		
[0578]	<213> 人工序列		
[0579]	<220>		
[0580]	<223> 人工序列的描述:合成的		
[0581]	多肽		
[0582]	<400> 27		
[0583]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln		
[0584]	1	5	10
[0585]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr		
[0586]	20	25	30
[0587]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser		

[0588]	35	40	45
[0589]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr		
[0590]	50	55	60
[0591]	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys		
[0592]	65	70	75 80
[0593]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro		
[0594]	85	90	95
[0595]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[0596]	100	105	
[0597]	<210> 28		
[0598]	<211> 468		
[0599]	<212> PRT		
[0600]	<213> 人工序列		
[0601]	<220>		
[0602]	<223> 人工序列的描述:合成的		
[0603]	多肽		
[0604]	<400> 28		
[0605]	Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly		
[0606]	1 5 10 15		
[0607]	Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln		
[0608]	20 25 30		
[0609]	Pro Lys Gly Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe		
[0610]	35 40 45		
[0611]	Asn Ala Asn Ala Met Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
[0612]	50 55 60		
[0613]	Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr		
[0614]	65 70 75 80		
[0615]	Tyr Ala Gly Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala		
[0616]	85 90 95		
[0617]	Gln Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr		
[0618]	100 105 110		
[0619]	Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile		
[0620]	115 120 125		
[0621]	Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr		
[0622]	130 135 140		
[0623]	Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser		
[0624]	145 150 155 160		
[0625]	Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu		
[0626]	165 170 175		
[0627]	Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His		
[0628]	180 185 190		
[0629]	Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser		

[0630]	195	200	205
[0631]	Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys		
[0632]	210	215	220
[0633]	Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu		
[0634]	225	230	235
[0635]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu		
[0636]		245	250
[0637]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		255
[0638]		260	265
[0639]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		270
[0640]		275	280
[0641]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		285
[0642]		290	295
[0643]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		300
[0644]	305	310	315
[0645]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		320
[0646]		325	330
[0647]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser		335
[0648]		340	345
[0649]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		350
[0650]		355	360
[0651]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		365
[0652]		370	375
[0653]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		380
[0654]	385	390	395
[0655]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		400
[0656]		405	410
[0657]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr		415
[0658]		420	425
[0659]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		430
[0660]		435	440
[0661]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		445
[0662]		450	455
[0663]	Ser Leu Gly Lys		460
[0664]	465		
[0665]	<210> 29		
[0666]	<211> 468		
[0667]	<212> PRT		
[0668]	<213> 人工序列		
[0669]	<220>		
[0670]	<223> 人工序列的描述:合成的		
[0671]	多肽		

[0672] <400> 29
 [0673] Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 [0674] 1 5 10 15
 [0675] Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 [0676] 20 25 30
 [0677] Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 [0678] 35 40 45
 [0679] Asn Ala Asn Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu
 [0680] 50 55 60
 [0681] Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
 [0682] 65 70 75 80
 [0683] Tyr Ala Gly Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 [0684] 85 90 95
 [0685] Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
 [0686] 100 105 110
 [0687] Ala Ala Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile
 [0688] 115 120 125
 [0689] Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 [0690] 130 135 140
 [0691] Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
 [0692] 145 150 155 160
 [0693] Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 [0694] 165 170 175
 [0695] Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 [0696] 180 185 190
 [0697] Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 [0698] 195 200 205
 [0699] Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
 [0700] 210 215 220
 [0701] Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
 [0702] 225 230 235 240
 [0703] Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
 [0704] 245 250 255
 [0705] Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 [0706] 260 265 270
 [0707] Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 [0708] 275 280 285
 [0709] Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 [0710] 290 295 300
 [0711] Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 [0712] 305 310 315 320
 [0713] Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

[0714]		325		330		335
[0715]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser					
[0716]		340		345		350
[0717]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln					
[0718]		355		360		365
[0719]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val					
[0720]		370		375		380
[0721]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val					
[0722]		385		390		395
[0723]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro					
[0724]		405		410		415
[0725]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr					
[0726]		420		425		430
[0727]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val					
[0728]		435		440		445
[0729]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu					
[0730]		450		455		460
[0731]	Ser Leu Gly Lys					
[0732]	465					
[0733]	<210> 30					
[0734]	<211> 468					
[0735]	<212> PRT					
[0736]	<213> 人工序列					
[0737]	<220>					
[0738]	<223> 人工序列的描述:合成的					
[0739]	多肽					
[0740]	<400> 30					
[0741]	Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly					
[0742]	1	5		10		15
[0743]	Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln					
[0744]		20		25		30
[0745]	Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe					
[0746]		35		40		45
[0747]	Asn Ala Asn Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu					
[0748]		50		55		60
[0749]	Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr					
[0750]	65	70		75		80
[0751]	Tyr Ala Gly Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser					
[0752]		85		90		95
[0753]	Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr					
[0754]		100		105		110
[0755]	Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile					

[0756]	115	120	125
[0757]	Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr		
[0758]	130	135	140
[0759]	Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser		
[0760]	145	150	155
[0761]	Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu		
[0762]		165	170
[0763]	Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His		175
[0764]		180	185
[0765]	Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser		190
[0766]		195	200
[0767]	Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys		205
[0768]		210	215
[0769]	Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu		220
[0770]		225	230
[0771]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu		235
[0772]		245	250
[0773]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		255
[0774]		260	265
[0775]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		270
[0776]		275	280
[0777]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		285
[0778]		290	295
[0779]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		300
[0780]		305	310
[0781]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		315
[0782]		325	330
[0783]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser		335
[0784]		340	345
[0785]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		350
[0786]		355	360
[0787]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		365
[0788]		370	375
[0789]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		380
[0790]		385	390
[0791]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		395
[0792]		405	410
[0793]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr		415
[0794]		420	425
[0795]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		430
[0796]		435	440
[0797]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		445

[0798]	450	455	460
[0799]	Ser Leu Gly Lys		
[0800]	465		
[0801]	<210> 31		
[0802]	<211> 468		
[0803]	<212> PRT		
[0804]	<213> 人工序列		
[0805]	<220>		
[0806]	<223> 人工序列的描述:合成的		
[0807]	多肽		
[0808]	<400> 31		
[0809]	Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly		
[0810]	1	5	10 15
[0811]	Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln		
[0812]	20	25	30
[0813]	Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe		
[0814]	35	40	45
[0815]	Asn Ala Asn Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
[0816]	50	55	60
[0817]	Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr		
[0818]	65	70	75 80
[0819]	Tyr Ala Gly Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser		
[0820]	85	90	95
[0821]	Lys Asn Ile Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr		
[0822]	100	105	110
[0823]	Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile		
[0824]	115	120	125
[0825]	Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr		
[0826]	130	135	140
[0827]	Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser		
[0828]	145	150	155 160
[0829]	Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu		
[0830]	165	170	175
[0831]	Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His		
[0832]	180	185	190
[0833]	Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser		
[0834]	195	200	205
[0835]	Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys		
[0836]	210	215	220
[0837]	Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu		
[0838]	225	230	235 240
[0839]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu		

[0840]		245		250		255
[0841]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu					
[0842]		260		265		270
[0843]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser					
[0844]		275		280		285
[0845]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu					
[0846]		290		295		300
[0847]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr					
[0848]		305		310		315
[0849]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn					
[0850]		325		330		335
[0851]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser					
[0852]		340		345		350
[0853]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln					
[0854]		355		360		365
[0855]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val					
[0856]		370		375		380
[0857]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val					
[0858]		385		390		395
[0859]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro					
[0860]		405		410		415
[0861]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr					
[0862]		420		425		430
[0863]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val					
[0864]		435		440		445
[0865]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu					
[0866]		450		455		460
[0867]	Ser Leu Gly Lys					
[0868]	465					
[0869]	<210> 32					
[0870]	<211> 468					
[0871]	<212> PRT					
[0872]	<213> 人工序列					
[0873]	<220>					
[0874]	<223> 人工序列的描述:合成的					
[0875]	多肽					
[0876]	<400> 32					
[0877]	Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly					
[0878]		1		5		10
[0879]	Val His Ser Leu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys					
[0880]		20		25		30
[0881]	Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe					

[0882]	35	40	45
[0883]	Asn Ala Asn Ala Met Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
[0884]	50	55	60
[0885]	Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr		
[0886]	65	70	75
[0887]	Tyr Ala Gly Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala		
[0888]	85	90	95
[0889]	Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		
[0890]	100	105	110
[0891]	Ala Val His Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile		
[0892]	115	120	125
[0893]	Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr		
[0894]	130	135	140
[0895]	Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser		
[0896]	145	150	155
[0897]	Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu		
[0898]	165	170	175
[0899]	Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His		
[0900]	180	185	190
[0901]	Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser		
[0902]	195	200	205
[0903]	Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys		
[0904]	210	215	220
[0905]	Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu		
[0906]	225	230	235
[0907]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu		
[0908]	245	250	255
[0909]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
[0910]	260	265	270
[0911]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
[0912]	275	280	285
[0913]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
[0914]	290	295	300
[0915]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
[0916]	305	310	315
[0917]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
[0918]	325	330	335
[0919]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser		
[0920]	340	345	350
[0921]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
[0922]	355	360	365
[0923]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		

[0924]	370	375	380
[0925]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
[0926]	385	390	395 400
[0927]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
[0928]		405	410 415
[0929]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr		
[0930]		420	425 430
[0931]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
[0932]		435	440 445
[0933]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
[0934]		450	455 460
[0935]	Ser Leu Gly Lys		
[0936]	465		
[0937]	<210> 33		
[0938]	<211> 234		
[0939]	<212> PRT		
[0940]	<213> 人工序列		
[0941]	<220>		
[0942]	<223> 人工序列的描述:合成的		
[0943]	多肽		
[0944]	<400> 33		
[0945]	Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln		
[0946]	1	5	10 15
[0947]	Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser		
[0948]		20	25 30
[0949]	Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His		
[0950]		35	40 45
[0951]	Val Gly Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro		
[0952]		50	55 60
[0953]	Lys Gln Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp		
[0954]		65	70 75 80
[0955]	Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
[0956]		85	90 95
[0957]	Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser		
[0958]		100	105 110
[0959]	Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
[0960]		115	120 125
[0961]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln		
[0962]		130	135 140
[0963]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr		
[0964]		145	150 155 160
[0965]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser		

[1008]	195	200	205
[1009]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro		
[1010]	210	215	220
[1011]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[1012]	225	230	
[1013]	<210> 35		
[1014]	<211> 234		
[1015]	<212> PRT		
[1016]	<213> 人工序列		
[1017]	<220>		
[1018]	<223> 人工序列的描述:合成的		
[1019]	多肽		
[1020]	<400> 35		
[1021]	Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln		
[1022]	1	5	10 15
[1023]	Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala		
[1024]	20	25	30
[1025]	Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln His		
[1026]	35	40	45
[1027]	Val Gly Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro		
[1028]	50	55	60
[1029]	Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp		
[1030]	65	70	75 80
[1031]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
[1032]	85	90	95
[1033]	Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser		
[1034]	100	105	110
[1035]	Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
[1036]	115	120	125
[1037]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln		
[1038]	130	135	140
[1039]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr		
[1040]	145	150	155 160
[1041]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser		
[1042]	165	170	175
[1043]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr		
[1044]	180	185	190
[1045]	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys		
[1046]	195	200	205
[1047]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro		
[1048]	210	215	220
[1049]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		

[1050]	225	230
[1051]	<210> 36	
[1052]	<211> 234	
[1053]	<212> PRT	
[1054]	<213> 人工序列	
[1055]	<220>	
[1056]	<223> 人工序列的描述:合成的	
[1057]	多肽	
[1058]	<400> 36	
[1059]	Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln	
[1060]	1 5 10 15	
[1061]	Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser Leu Ser	
[1062]	20 25 30	
[1063]	Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His	
[1064]	35 40 45	
[1065]	Val Gly Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro	
[1066]	50 55 60	
[1067]	Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser	
[1068]	65 70 75 80	
[1069]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser	
[1070]	85 90 95	
[1071]	Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser	
[1072]	100 105 110	
[1073]	Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	
[1074]	115 120 125	
[1075]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln	
[1076]	130 135 140	
[1077]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr	
[1078]	145 150 155 160	
[1079]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser	
[1080]	165 170 175	
[1081]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr	
[1082]	180 185 190	
[1083]	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys	
[1084]	195 200 205	
[1085]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro	
[1086]	210 215 220	
[1087]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[1088]	225 230	
[1089]	<210> 37	
[1090]	<211> 234	
[1091]	<212> PRT	

[1092] <213> 人工序列
 [1093] <220>
 [1094] <223> 人工序列的描述:合成的
 [1095] 多肽
 [1096] <400> 37
 [1097] Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 [1098] 1 5 10 15
 [1099] Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala
 [1100] 20 25 30
 [1101] Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln His
 [1102] 35 40 45
 [1103] Val Gly Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Pro Pro
 [1104] 50 55 60
 [1105] Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp
 [1106] 65 70 75 80
 [1107] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 [1108] 85 90 95
 [1109] Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser
 [1110] 100 105 110
 [1111] Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 [1112] 115 120 125
 [1113] Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 [1114] 130 135 140
 [1115] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 [1116] 145 150 155 160
 [1117] Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 [1118] 165 170 175
 [1119] Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 [1120] 180 185 190
 [1121] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 [1122] 195 200 205
 [1123] His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 [1124] 210 215 220
 [1125] Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 [1126] 225 230
 [1127] <210> 38
 [1128] <211> 760
 [1129] <212> PRT
 [1130] <213> 人工序列
 [1131] <220>
 [1132] <223> 人工序列的描述:合成的
 [1133] 多肽

[1176]		325		330		335
[1177]	Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg Leu Tyr Gln					
[1178]		340		345		350
[1179]	Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln Lys Met Ala					
[1180]		355		360		365
[1181]	Val Gly Arg Thr Phe Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His					
[1182]		370		375		380
[1183]	Ala Asn Glu Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro Val Ala Glu					
[1184]		385		390		395
[1185]	Trp Glu Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu Leu Leu Ile					
[1186]		405		410		415
[1187]	His Lys Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu					
[1188]		420		425		430
[1189]	Val Pro Gly Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile Ser Gly Asp					
[1190]		435		440		445
[1191]	Leu Lys Asn Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val					
[1192]		450		455		460
[1193]	Thr Asp Leu His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr					
[1194]		465		470		475
[1195]	Asn Trp Thr Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu					
[1196]		485		490		495
[1197]	Ile His Glu Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser Ser Glu Thr					
[1198]		500		505		510
[1199]	Ser Arg Tyr Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Ser Val					
[1200]		515		520		525
[1201]	Val Val Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Val					
[1202]		530		535		540
[1203]	Glu Gly Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn					
[1204]		545		550		555
[1205]	Ser Gly Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu Ala Pro Gly					
[1206]		565		570		575
[1207]	Asp Val Asp Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly Lys Val Val					
[1208]		580		585		590
[1209]	Gln Ser Leu Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser Phe Ser Ser					
[1210]		595		600		605
[1211]	Leu Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr Arg Ser Gly					
[1212]		610		615		620
[1213]	Lys Tyr Glu Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val Pro Asp Lys					
[1214]		625		630		635
[1215]	Val Gln Gly Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp Tyr Leu Arg					
[1216]		645		650		655
[1217]	Val Ser Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr Glu Val Thr					

[1260]	Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
[1261]	195 200 205
[1262]	Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His
[1263]	210 215 220
[1264]	Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
[1265]	225 230 235 240
[1266]	Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
[1267]	245 250 255
[1268]	Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
[1269]	260 265 270
[1270]	Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
[1271]	275 280 285
[1272]	Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
[1273]	290 295 300
[1274]	Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
[1275]	305 310 315 320
[1276]	Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
[1277]	325 330 335
[1278]	Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
[1279]	340 345 350
[1280]	Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
[1281]	355 360 365
[1282]	Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Asp Lys Val Ala Asn Leu Glu
[1283]	370 375 380
[1284]	Ala Asn Asn Asn Gly Arg Met Arg Ser Leu Val Val Ser Trp Ser Pro
[1285]	385 390 395 400
[1286]	Pro Ala Gly Asp Trp Glu Gln Tyr Arg Ile Leu Leu Phe Asn Asp Ser
[1287]	405 410 415
[1288]	Val Val Leu Leu Asn Ile Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr Gln Tyr Val
[1289]	420 425 430
[1290]	Met Asp Asp Thr Gly Leu Val Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Val Glu Val
[1291]	435 440 445
[1292]	Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Lys Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly Arg
[1293]	450 455 460
[1294]	Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn Glu
[1295]	465 470 475 480
[1296]	Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro Val Ala Glu Trp Glu Lys
[1297]	485 490 495
[1298]	Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu Leu Leu Ile His Lys Ser
[1299]	500 505 510
[1300]	Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Val Pro Gly
[1301]	515 520 525

[1302]	Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu Lys Asn
[1303]	530 535 540
[1304]	Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp Leu
[1305]	545 550 555 560
[1306]	His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp Thr
[1307]	565 570 575
[1308]	Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His Glu
[1309]	580 585 590
[1310]	Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser Ser Glu Thr Ser Arg Tyr
[1311]	595 600 605
[1312]	Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val Thr
[1313]	610 615 620
[1314]	Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Val Glu Gly Arg
[1315]	625 630 635 640
[1316]	Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly Arg
[1317]	645 650 655
[1318]	Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu Ala Pro Gly Asp Val Asp
[1319]	660 665 670
[1320]	Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly Lys Val Val Gln Ser Leu
[1321]	675 680 685
[1322]	Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr Pro
[1323]	690 695 700
[1324]	Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr Arg Ser Gly Lys Tyr Glu
[1325]	705 710 715 720
[1326]	Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val Pro Asp Lys Val Gln Gly
[1327]	725 730 735
[1328]	Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp Tyr Leu Arg Val Ser Trp
[1329]	740 745 750
[1330]	Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr Glu Val Thr Ile Lys Asn
[1331]	755 760 765
[1332]	Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile Pro Lys Ser Glu Asn Glu
[1333]	770 775 780
[1334]	Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg Leu Tyr Ser Val Thr Val
[1335]	785 790 795 800
[1336]	Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn Glu Gln Gly Asn Gly Arg
[1337]	805 810 815
[1338]	Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr Leu Arg Asn Arg Ser Thr
[1339]	820 825 830
[1340]	Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Gly Ala Asn Gly Asp Val Asp Gln
[1341]	835 840 845
[1342]	Tyr Glu Ile Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met Lys Val Phe Pro Pro Phe
[1343]	850 855 860

[1386]	Ser Leu Trp Phe Asn Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp Phe
[1387]	1190 1195 1200
[1388]	Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu Asn
[1389]	1205 1210 1215
[1390]	Trp Lys Asp Lys Asp Leu Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu Val
[1391]	1220 1225 1230
[1392]	Pro Gly Arg Lys Tyr Val Leu Trp Val Val Thr His Ser Gly Asp
[1393]	1235 1240 1245
[1394]	Leu Ser Asn Lys Val Thr Ala Glu Ser Arg Thr Ala Pro Ser Pro
[1395]	1250 1255 1260
[1396]	Pro Ser Leu Met Ser Phe Ala Asp Ile Ala Asn Thr Ser Leu Ala
[1397]	1265 1270 1275
[1398]	Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp Phe
[1399]	1280 1285 1290
[1400]	Glu Leu Gln Trp Leu Pro Arg Asp Ala Leu Thr Val Phe Asn Pro
[1401]	1295 1300 1305
[1402]	Tyr Asn Asn Arg Lys Ser Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu Arg
[1403]	1310 1315 1320
[1404]	Pro Gly Arg Ser Tyr Gln Phe Asn Val Lys Thr Val Ser Gly Asp
[1405]	1325 1330 1335
[1406]	Ser Trp Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ser Val Arg Thr
[1407]	1340 1345 1350
[1408]	Lys Pro Asp Lys Ile Gln Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn Ser
[1409]	1355 1360 1365
[1410]	Thr Ala Ile Ala Cys Ser Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe Asp
[1411]	1370 1375 1380
[1412]	Gly Tyr Ser Ile Glu Cys Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Val Glu
[1413]	1385 1390 1395
[1414]	Phe Ser Arg Lys Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile Met
[1415]	1400 1405 1410
[1416]	Met Leu Val Pro His Lys Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val Gln
[1417]	1415 1420 1425
[1418]	Ser Ala Gly Met Thr Ser Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile Thr
[1419]	1430 1435 1440
[1420]	Met Ile Asp Arg Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ile Arg Val Asn
[1421]	1445 1450 1455
[1422]	Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr Val
[1423]	1460 1465 1470
[1424]	Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr Phe
[1425]	1475 1480 1485
[1426]	Thr Val Val Val Arg Glu Ala Asp Gly Ser Asp Glu Leu Lys Pro
[1427]	1490 1495 1500

[1428]	Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His Asn
[1429]	1505 1510 1515
[1430]	Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys Cys
[1431]	1520 1525 1530
[1432]	Ala Glu Asn Pro Asn Ser Asn Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys Leu
[1433]	1535 1540 1545
[1434]	Gly Ala Glu Met Glu Ser Leu Gly Gly Lys Cys Asp Pro Thr Gln
[1435]	1550 1555 1560
[1436]	Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr Arg
[1437]	1565 1570 1575
[1438]	Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu Lys
[1439]	1580 1585 1590
[1440]	Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Leu Pro
[1441]	1595 1600 1605
[1442]	Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Ala Ile Glu Gly Val
[1443]	1610 1615 1620
[1444]	Ser Ala Gly Leu Phe Leu Ile Gly Met Leu Val Ala Val Val Ala
[1445]	1625 1630 1635
[1446]	Leu Leu Ile Cys Arg Gln Lys Val Ser His Gly Arg Glu Arg Pro
[1447]	1640 1645 1650
[1448]	Ser Ala Arg Leu Ser Ile Arg Arg Asp Arg Pro Leu Ser Val His
[1449]	1655 1660 1665
[1450]	Leu Asn Leu Gly Gln Lys Gly Asn Arg Lys Thr Ser Cys Pro Ile
[1451]	1670 1675 1680
[1452]	Lys Ile Asn Gln Phe Glu Gly His Phe Met Lys Leu Gln Ala Asp
[1453]	1685 1690 1695
[1454]	Ser Asn Tyr Leu Leu Ser Lys Glu Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Val
[1455]	1700 1705 1710
[1456]	Gly Arg Asn Gln Ser Cys Asp Ile Ala Leu Leu Pro Glu Asn Arg
[1457]	1715 1720 1725
[1458]	Gly Lys Asn Arg Tyr Asn Asn Ile Leu Pro Tyr Asp Ala Thr Arg
[1459]	1730 1735 1740
[1460]	Val Lys Leu Ser Asn Val Asp Asp Asp Pro Cys Ser Asp Tyr Ile
[1461]	1745 1750 1755
[1462]	Asn Ala Ser Tyr Ile Pro Gly Asn Asn Phe Arg Arg Glu Tyr Ile
[1463]	1760 1765 1770
[1464]	Val Thr Gln Gly Pro Leu Pro Gly Thr Lys Asp Asp Phe Trp Lys
[1465]	1775 1780 1785
[1466]	Met Val Trp Glu Gln Asn Val His Asn Ile Val Met Val Thr Gln
[1467]	1790 1795 1800
[1468]	Cys Val Glu Lys Gly Arg Val Lys Cys Asp His Tyr Trp Pro Ala
[1469]	1805 1810 1815

[1470]	Asp Gln Asp Ser Leu Tyr Tyr Gly Asp Leu Ile Leu Gln Met Leu
[1471]	1820 1825 1830
[1472]	Ser Glu Ser Val Leu Pro Glu Trp Thr Ile Arg Glu Phe Lys Ile
[1473]	1835 1840 1845
[1474]	Cys Gly Glu Glu Gln Leu Asp Ala His Arg Leu Ile Arg His Phe
[1475]	1850 1855 1860
[1476]	His Tyr Thr Val Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Thr Thr Gln
[1477]	1865 1870 1875
[1478]	Ser Leu Ile Gln Phe Val Arg Thr Val Arg Asp Tyr Ile Asn Arg
[1479]	1880 1885 1890
[1480]	Ser Pro Gly Ala Gly Pro Thr Val Val His Cys Ser Ala Gly Val
[1481]	1895 1900 1905
[1482]	Gly Arg Thr Gly Thr Phe Ile Ala Leu Asp Arg Ile Leu Gln Gln
[1483]	1910 1915 1920
[1484]	Leu Asp Ser Lys Asp Ser Val Asp Ile Tyr Gly Ala Val His Asp
[1485]	1925 1930 1935
[1486]	Leu Arg Leu His Arg Val His Met Val Gln Thr Glu Cys Gln Tyr
[1487]	1940 1945 1950
[1488]	Val Tyr Leu His Gln Cys Val Arg Asp Val Leu Arg Ala Arg Lys
[1489]	1955 1960 1965
[1490]	Leu Arg Ser Glu Gln Glu Asn Pro Leu Phe Pro Ile Tyr Glu Asn
[1491]	1970 1975 1980
[1492]	Val Asn Pro Glu Tyr His Arg Asp Pro Val Tyr Ser Arg His
[1493]	1985 1990 1995
[1494]	<210> 40
[1495]	<211> 2283
[1496]	<212> DNA
[1497]	<213> 人工序列
[1498]	<220>
[1499]	<223> 人工序列的描述:合成的
[1500]	多核苷酸
[1501]	<400> 40
[1502]	atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa cgactggtgt ccaactccgag 60
[1503]	cccagagat gcaacttcac cctggccgag tccaaggcct cctcccactc cgtgtctatc 120
[1504]	cagtggcgga tcttgggctc ccctgcaac ttctctctga tctactctc cgacaccctg 180
[1505]	ggcgtgccc tgtgccctac cttcagaatc gacaacacca cctacggctg caacctgcag 240
[1506]	gatctgcagg ccggcaccat ctacaacttc aagatcatct ccctggacga ggaacggacc 300
[1507]	gtggtgctgc agaccgatcc tctgctcct gccagattcg gcgtgtccaa agaaaagacc 360
[1508]	acctccaccg gactgcacgt gtggtggacc ctttcagcg gcaaagtgac ctctacgag 420
[1509]	gtcagctgt tcgacgagaa caaccagaaa atccagggcg tgcagatcca ggaatccacc 480
[1510]	tcttgaacg agtacacctt cttcaacctg accgccgct ccaagtacaa tatcgccatc 540
[1511]	accgccgtgt ccggcggcaa gagatccttc tccgtgtaca ccaacggctc caccgtgccc 600

[1512]	agccccgtga aggacatcgg catctccacc aaggccaact ccctgctgat ctcctggtcc	660
[1513]	cacggctccg gcaacgtgga acggtacaga ctgatgctga tggacaaggg catcctggtg	720
[1514]	cacggcggcg tgggtgataa gcacgccacc tcttacgcct tccacggcct gaccctggc	780
[1515]	tacctgtaca atctgaccgt gatgaccgag gccgctggac tgcagaacta ccggtggaag	840
[1516]	ctcgtgcgga ccgccccat ggaagtgtcc aacctgaaag tgaccaacga cggctccctg	900
[1517]	acctctctga aagtgaagtg gcagaggccc cctggcaatg tggactccta caacatcacc	960
[1518]	ctgtcccaca agggcaccaat caaagaatcc cgggtgctgg ccccttggat caccgagaca	1020
[1519]	cacttcaaag aactggtgcc tggccgctg taccaagtga ccgtgtcctg tgtgtctggc	1080
[1520]	gagctgtccg cccagaaaat ggccgtgggc agaaccttcc ctctggccgt gctgcagctg	1140
[1521]	agagtgaagc acgtaacga gacatccctg tccatcatgt ggcagacccc cgtggccgag	1200
[1522]	tgggagaagt acatcatcag cctggccgac cgggacctgc tgctgatcca caagtccctg	1260
[1523]	agcaaggacg ccaaagagtt caccttacc gacctggtgc ccggcagaaa gtacatggcc	1320
[1524]	accgtgacct ccatctccgg cgacctgaag aactcctcca gcgtgaaggg caggacctg	1380
[1525]	cctgcccagg tgacagacct gcacgtggcc aaccagggca tgacctctc cctgttcacc	1440
[1526]	aactggaccc aggtcaggg cgacgtgaa ttctaccagg tgctgctgat tcatgagaac	1500
[1527]	gtcgtgatca agaacgagtc catctctcc gagacaagcc ggtactcctt ccactccctg	1560
[1528]	aagtccggca gcctgtactc cgtggtcgtg accacagtgt ccgggggcat ctctctaga	1620
[1529]	cagtggtgg tggaaggccg caccgtcct agttcagtgt caggcgtgac cgtgaacaac	1680
[1530]	agcggccgga acgactacct gtccgtgtct tggctgctgg ctctgggga cgtggacaac	1740
[1531]	tacgaagtga ccctgagcca cgacggcaag gtggtgagct ctctcgtgat cgccaagtcc	1800
[1532]	gtgcgcgagt gtccttcag ctctctgaca cctggcagac tgtataccgt gaccatcacc	1860
[1533]	accagatccg ggaagtacga gaaccacagc ttctcccagg aacgcacagt gcccgacaag	1920
[1534]	gtgcagggcg tgctcagttc taactccgc agatctgact acctgcgggt gtcctgggtg	1980
[1535]	cacgtaccg gcgacttcca ccattatgaa gtgacaatca agaacaagaa caacttcac	2040
[1536]	cagaccaagt ccatcccaa gtccgagaac gagtgcgtg tcgtgcagct ggtgccaggc	2100
[1537]	agactgtact ctgtgacagt gaccaccaag tccggccagt acgaggcaa cgagcagggc	2160
[1538]	aacggcagga ccatccctga gaaggcaac tccgccgaca tccagcactc tggcggcaga	2220
[1539]	tcctctctgg aaggccccag attcgagaga accggcggag gccaccacca tcatcacat	2280
[1540]	tga	2283
[1541]	<210> 41	
[1542]	<211> 736	
[1543]	<212> PRT	
[1544]	<213> 人工序列	
[1545]	<220>	
[1546]	<223> 人工序列的描述:合成的	
[1547]	多肽	
[1548]	<400> 41	
[1549]	Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly	
[1550]	1 5 10 15	
[1551]	Val His Ser Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala Glu Ser Lys Ala Ser	
[1552]	20 25 30	
[1553]	Ser His Ser Val Ser Ile Arg Trp Arg Ile Trp Gly Ser Pro Cys Asn	

[1554]	35	40	45
[1555]	Phe Asn Leu Thr Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly Ala Ala Ser Cys Pro		
[1556]	50	55	60
[1557]	Pro Phe Arg Leu Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys Asn Leu Gln Asp Leu		
[1558]	65	70	75
[1559]	Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Arg Ile Val Ser Leu Asp Gly Glu		
[1560]		85	90
[1561]	Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro Pro Ala Arg Phe		
[1562]		100	105
[1563]	Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Ser Leu His Val Trp Trp		
[1564]		115	120
[1565]	Thr Pro Ser Pro Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val Gln Leu Phe Asp		
[1566]		130	135
[1567]	Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln Glu Ser Thr Ser		
[1568]		145	150
[1569]	Trp Asn Lys Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly Ser Lys Tyr Asn		
[1570]		165	170
[1571]	Ile Thr Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser Ser Ser Val Tyr		
[1572]		180	185
[1573]	Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp Ile Gly Ile Ser		
[1574]		195	200
[1575]	Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp Ser His Gly Ser Gly Asn		
[1576]		210	215
[1577]	Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly Ile Leu Val His		
[1578]		225	230
[1579]	Gly Ser Val Val Asp Arg Gln Ala Thr Ser Tyr Thr Phe Asn Gly Leu		
[1580]		245	250
[1581]	Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Val Thr Glu Ala Ala Gly		
[1582]		260	265
[1583]	Leu Gln Asn Tyr Lys Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala Pro Met Glu Val		
[1584]		275	280
[1585]	Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr Ser Leu Lys Val		
[1586]		290	295
[1587]	Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr Asn Ile Thr Leu		
[1588]		305	310
[1589]	Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu Ala Pro Arg Val		
[1590]		325	330
[1591]	Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Gln Val		
[1592]		340	345
[1593]	Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln Arg Met Ala Val		
[1594]		355	360
[1595]	Gly Arg Thr Phe Pro Leu Pro Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala		

[1596]	370	375	380
[1597]	Asn Glu Thr Ser Leu Ser Ile Ile Trp Gln Pro Pro Val Ala Glu Trp		
[1598]	385	390	395 400
[1599]	Glu Glu Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu Arg Leu Ile His		
[1600]		405	410 415
[1601]	Lys Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Val		
[1602]		420	425 430
[1603]	Pro Gly Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu		
[1604]		435	440 445
[1605]	Lys Asn Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr		
[1606]		450	455 460
[1607]	Asp Leu His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn		
[1608]		465	470 475 480
[1609]	Trp Thr Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile		
[1610]		485	490 495
[1611]	His Glu Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Pro Ser Glu Thr Ser		
[1612]		500	505 510
[1613]	Gly Tyr Asn Phe His Phe Leu Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val		
[1614]		515	520 525
[1615]	Val Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Val Glu		
[1616]		530	535 540
[1617]	Gly Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser		
[1618]		545	550 555 560
[1619]	Gly Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Asp		
[1620]		565	570 575
[1621]	Val Asp Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly Arg Val Val Gln		
[1622]		580	585 590
[1623]	Ser Leu Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu		
[1624]		595	600 605
[1625]	Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr Arg Ser Gly Lys		
[1626]		610	615 620
[1627]	Tyr Glu Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val Pro Asp Lys Val		
[1628]		625	630 635 640
[1629]	Gln Gly Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp Tyr Leu Arg Val		
[1630]		645	650 655
[1631]	Ser Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr Glu Val Thr Ile		
[1632]		660	665 670
[1633]	Lys Asn Lys Asn Asn Phe Ile Glu Thr Lys Ser Ile Pro Lys Ser Glu		
[1634]		675	680 685
[1635]	Asn Glu Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg Leu Tyr Ser Val		
[1636]		690	695 700
[1637]	Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Ser Glu Gln Gly Asn		

[1638]	705	710	715	720
[1639]	Gly Arg Thr Gly Gly Gly His His His His His His His His His His			
[1640]		725	730	735
[1641]	<210> 42			
[1642]	<211> 2210			
[1643]	<212> DNA			
[1644]	<213> 人工序列			
[1645]	<220>			
[1646]	<223> 人工序列的描述:合成的			
[1647]	多核苷酸			
[1648]	<400> 42			
[1649]	atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa cgactggtgt ccaactccgag			60
[1650]	cggtgcaact ttacctggc cgagtccaag gcctcctccc actcctgtgc tatccggtgg			120
[1651]	cggatctggg gctccccctg caacttcaac ctgacctact cctccgatac cctgggcgct			180
[1652]	gcctctgtc ctctttccg gctggacaac accacctacg gctgcaacct gcaggatctg			240
[1653]	caggccgga ccatctacaa ctccggatc gtgtccctgg acggcgagga acggacagtg			300
[1654]	gtgctgcaga ccgatcctct gccccctgcc agattcggcg tgtccaaaga aaagaccacc			360
[1655]	tccacctccc tgcacgtgtg gtggaccct agccctggca aagtgacctc ctacgaggtg			420
[1656]	cagctgttcg acgagaacaa ccagaaaatc cagggcgtgc agatccagga atccacctcc			480
[1657]	tggaacaagt acaccttctt caatctgacc gccggtcca agtacaacat caccatcacc			540
[1658]	gccgtgtccg gcggcaagag atcctcctcc gtgtacacca acggctccac cgtgccccagc			600
[1659]	cccgtgaagg acatcggcat ctccaccaag gccaaactccc tgctggtgtc ctggtccac			660
[1660]	ggctccggca acgtggaacg gtacagactg atgctgatgg acaagggcat cctggtgca			720
[1661]	ggcagcgtgg tggatagaca ggccacctcc tacacctca acggcctgac ccccggctac			780
[1662]	ctgtataacc tgaccgtcgt gaccgagcc gctggactgc agaactacaa gtggaagctc			840
[1663]	gtgcggaccg ccccatgga agtgtccaac ctgaaagtga ccaacgacgg ctccctgacc			900
[1664]	tctctgaaag tgaagtggca gaggccccct ggcaatgtgg acagctacaa tatcaccctg			960
[1665]	tcccacaagg gcaccatcaa agaatcccgg gtgctggccc ccagagtgc cgagacacac			1020
[1666]	ttcaaagagc tgaccctgg ccggtgtac caagtaccg tgtcctgtgt gtctggcgag			1080
[1667]	ctgtctgccc agagaatggc cgtgggcaga accttccctc tgcccgtgct gcagctgaga			1140
[1668]	gtgaagcacg ccaacgagac atccctgtcc atcatctgc agccccctgt ggccgagtgg			1200
[1669]	gaagagtaca tcatcagcct ggccgaccgg gacctgcgc tgatccacaa gtccctgagc			1260
[1670]	aaggacgcca aagagttcac ctccaccgac ctggtgctg gccggaagta catggccacc			1320
[1671]	gtgacctcca tctccggcga cctgaagaac tctccagcg tgaagggcag gaccgtgct			1380
[1672]	gcccagtga cagacctgca tgtggccaac cagggcatga cctccagcct gttcaccaac			1440
[1673]	tggaccagg ctcaggcga cgtggaattc taccaggtgc tgctgatcca tgagaacgtc			1500
[1674]	gtgatcaaga acgagtccat cccctccgag acaagcggt acaactttca ctctctgaag			1560
[1675]	tccggcagcc tgtactccgt ggtcgtgacc acagtgtccg ggggcatctc ctctagaagg			1620
[1676]	tggtggtgga aggccgcacc gtgcctagtt cagtgtcagg cgtgaccgtg aacaacagcg			1680
[1677]	gccggaacga ctacctgtcc gtgtcttggc tgctgcccc tggggacgtg gacaactacg			1740
[1678]	aagtgacct gtctcacgac ggccgggtgg tgcagtctct cgtgatcgt aagtccgtgc			1800
[1679]	gcgagtgtc ctccagcagc ctgacacctg gcagactgta taccgtgacc atcaccacca			1860

[1680] gatccgggaa gtacgagaac cacagcttct cccaggaacg aaccgtgccc gacaaggtgc 1920
 [1681] agggcgtgtc agtgtctaac tccgccagat ctgactacct gagagtgtcc tgggtgcacg 1980
 [1682] ccaccggcga cttegaccat tatgaagtga caatcaagaa caagaacaac ttcatcgaga 2040
 [1683] caaagagcat cccaagtcc gagaacgagt gcgtgttcgt gcagctggtg ccaggcaggc 2100
 [1684] tgtattctgt gacagtgacc accaagtcg gccagtagca ggcctctgag cagggaatg 2160
 [1685] gcagaaccgg cgggtggacac caccatcatc accatcacca ccatcactag 2210
 [1686] <210> 43
 [1687] <211> 971
 [1688] <212> PRT
 [1689] <213> 人工序列
 [1690] <220>
 [1691] <223> 人工序列的描述:合成的
 [1692] 多肽
 [1693] <400> 43
 [1694] Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
 [1695] 1 5 10 15
 [1696] Val His Ser Ala Gly Gly Thr Pro Ser Pro Ile Pro Asp Pro Ser Val
 [1697] 20 25 30
 [1698] Ala Thr Val Ala Thr Gly Glu Asn Gly Ile Thr Gln Ile Ser Ser Thr
 [1699] 35 40 45
 [1700] Ala Glu Ser Phe His Lys Gln Asn Gly Thr Gly Thr Pro Gln Val Glu
 [1701] 50 55 60
 [1702] Thr Asn Thr Ser Glu Asp Gly Glu Ser Ser Gly Ala Asn Asp Ser Leu
 [1703] 65 70 75 80
 [1704] Arg Thr Pro Glu Gln Gly Ser Asn Gly Thr Asp Gly Ala Ser Gln Lys
 [1705] 85 90 95
 [1706] Thr Pro Ser Ser Thr Gly Pro Ser Pro Val Phe Asp Ile Lys Ala Val
 [1707] 100 105 110
 [1708] Ser Ile Ser Pro Thr Asn Val Ile Leu Thr Trp Lys Ser Asn Asp Thr
 [1709] 115 120 125
 [1710] Ala Ala Ser Glu Tyr Lys Tyr Val Val Lys His Lys Met Glu Asn Glu
 [1711] 130 135 140
 [1712] Lys Thr Ile Thr Val Val His Gln Pro Trp Cys Asn Ile Thr Gly Leu
 [1713] 145 150 155 160
 [1714] Arg Pro Ala Thr Ser Tyr Val Phe Ser Ile Thr Pro Gly Ile Gly Asn
 [1715] 165 170 175
 [1716] Glu Thr Trp Gly Asp Pro Arg Val Ile Lys Val Ile Thr Glu Pro Ile
 [1717] 180 185 190
 [1718] Pro Val Ser Asp Leu Arg Val Ala Leu Thr Gly Val Arg Lys Ala Ala
 [1719] 195 200 205
 [1720] Leu Ser Trp Ser Asn Gly Asn Gly Thr Ala Ser Cys Arg Val Leu Leu
 [1721] 210 215 220

[1722]	Glu Ser Ile Gly Ser His Glu Glu Leu Thr Gln Asp Ser Arg Leu Gln
[1723]	225 230 235 240
[1724]	Val Asn Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Gln Tyr Asn Ile Asn Pro
[1725]	245 250 255
[1726]	Tyr Leu Leu Gln Ser Asn Lys Thr Lys Gly Asp Pro Leu Gly Thr Glu
[1727]	260 265 270
[1728]	Gly Gly Leu Asp Ala Ser Asn Thr Glu Arg Ser Arg Ala Gly Ser Pro
[1729]	275 280 285
[1730]	Thr Ala Pro Val His Asp Glu Ser Leu Val Gly Pro Val Asp Pro Ser
[1731]	290 295 300
[1732]	Ser Gly Gln Gln Ser Arg Asp Thr Glu Val Leu Leu Val Gly Leu Glu
[1733]	305 310 315 320
[1734]	Pro Gly Thr Arg Tyr Asn Ala Thr Val Tyr Ser Gln Ala Ala Asn Gly
[1735]	325 330 335
[1736]	Thr Glu Gly Gln Pro Gln Ala Ile Glu Phe Arg Thr Asn Ala Ile Gln
[1737]	340 345 350
[1738]	Val Phe Asp Val Thr Ala Val Asn Ile Ser Ala Thr Ser Leu Thr Leu
[1739]	355 360 365
[1740]	Ile Trp Lys Val Ser Asp Asn Glu Ser Ser Ser Asn Tyr Thr Tyr Lys
[1741]	370 375 380
[1742]	Ile His Val Ala Gly Glu Thr Asp Ser Ser Asn Leu Asn Val Ser Glu
[1743]	385 390 395 400
[1744]	Pro Arg Ala Val Ile Pro Gly Leu Arg Ser Ser Thr Phe Tyr Asn Ile
[1745]	405 410 415
[1746]	Thr Val Cys Pro Val Leu Gly Asp Ile Glu Gly Thr Pro Gly Phe Leu
[1747]	420 425 430
[1748]	Gln Val His Thr Pro Pro Val Pro Val Ser Asp Phe Arg Val Thr Val
[1749]	435 440 445
[1750]	Val Ser Thr Thr Glu Ile Gly Leu Ala Trp Ser Ser His Asp Ala Glu
[1751]	450 455 460
[1752]	Ser Phe Gln Met His Ile Thr Gln Glu Gly Ala Gly Asn Ser Arg Val
[1753]	465 470 475 480
[1754]	Glu Ile Thr Thr Asn Gln Ser Ile Ile Ile Gly Gly Leu Phe Pro Gly
[1755]	485 490 495
[1756]	Thr Lys Tyr Cys Phe Glu Ile Val Pro Lys Gly Pro Asn Gly Thr Glu
[1757]	500 505 510
[1758]	Gly Ala Ser Arg Thr Val Cys Asn Arg Thr Val Pro Ser Ala Val Phe
[1759]	515 520 525
[1760]	Asp Ile His Val Val Tyr Val Thr Thr Thr Glu Met Trp Leu Asp Trp
[1761]	530 535 540
[1762]	Lys Ser Pro Asp Gly Ala Ser Glu Tyr Val Tyr His Leu Val Ile Glu
[1763]	545 550 555 560

[1764]	Ser Lys His Gly Ser Asn His Thr Ser Thr Tyr Asp Lys Ala Ile Thr
[1765]	565 570 575
[1766]	Leu Gln Gly Leu Ile Pro Gly Thr Leu Tyr Asn Ile Thr Ile Ser Pro
[1767]	580 585 590
[1768]	Glu Val Asp His Val Trp Gly Asp Pro Asn Ser Thr Ala Gln Tyr Thr
[1769]	595 600 605
[1770]	Arg Pro Ser Asn Val Ser Asn Ile Asp Val Ser Thr Asn Thr Thr Ala
[1771]	610 615 620
[1772]	Ala Thr Leu Ser Trp Gln Asn Phe Asp Asp Ala Ser Pro Thr Tyr Ser
[1773]	625 630 635 640
[1774]	Tyr Cys Leu Leu Ile Glu Lys Ala Gly Asn Ser Ser Asn Ala Thr Gln
[1775]	645 650 655
[1776]	Val Val Thr Asp Ile Gly Ile Thr Asp Ala Thr Val Thr Glu Leu Ile
[1777]	660 665 670
[1778]	Pro Gly Ser Ser Tyr Thr Val Glu Ile Phe Ala Gln Val Gly Asp Gly
[1779]	675 680 685
[1780]	Ile Lys Ser Leu Glu Pro Gly Arg Lys Ser Phe Cys Thr Asp Pro Ala
[1781]	690 695 700
[1782]	Ser Met Ala Ser Phe Asp Cys Glu Val Val Pro Lys Glu Pro Ala Leu
[1783]	705 710 715 720
[1784]	Val Leu Lys Trp Thr Cys Pro Pro Gly Ala Asn Ala Gly Phe Glu Leu
[1785]	725 730 735
[1786]	Glu Val Ser Ser Gly Ala Trp Asn Asn Ala Thr His Leu Glu Ser Cys
[1787]	740 745 750
[1788]	Ser Ser Glu Asn Gly Thr Glu Tyr Arg Thr Glu Val Thr Tyr Leu Asn
[1789]	755 760 765
[1790]	Phe Ser Thr Ser Tyr Asn Ile Ser Ile Thr Thr Val Ser Cys Gly Lys
[1791]	770 775 780
[1792]	Met Ala Ala Pro Thr Arg Asn Thr Cys Thr Thr Gly Ile Thr Asp Pro
[1793]	785 790 795 800
[1794]	Pro Pro Pro Asp Gly Ser Pro Asn Ile Thr Ser Val Ser His Asn Ser
[1795]	805 810 815
[1796]	Val Lys Val Lys Phe Ser Gly Phe Glu Ala Ser His Gly Pro Ile Lys
[1797]	820 825 830
[1798]	Ala Tyr Ala Val Ile Leu Thr Thr Gly Glu Ala Gly His Pro Ser Ala
[1799]	835 840 845
[1800]	Asp Val Leu Lys Tyr Thr Tyr Glu Asp Phe Lys Lys Gly Ala Ser Asp
[1801]	850 855 860
[1802]	Thr Tyr Val Thr Tyr Leu Ile Arg Thr Glu Glu Lys Gly Arg Ser Gln
[1803]	865 870 875 880
[1804]	Ser Leu Ser Glu Val Leu Lys Tyr Glu Ile Asp Val Gly Asn Glu Ser
[1805]	885 890 895

[1806] Thr Thr Leu Gly Tyr Tyr Asn Gly Lys Leu Glu Pro Leu Gly Ser Tyr
 [1807] 900 905 910
 [1808] Arg Ala Cys Val Ala Gly Phe Thr Asn Ile Thr Phe His Pro Gln Asn
 [1809] 915 920 925
 [1810] Lys Gly Leu Ile Asp Gly Ala Glu Ser Tyr Val Ser Phe Ser Arg Tyr
 [1811] 930 935 940
 [1812] Ser Asp Ala Val Ser Leu Pro Gln Asp Pro Gly Val Ile Cys Gly Gly
 [1813] 945 950 955 960
 [1814] Gly His His His His His His His His His His
 [1815] 965 970
 [1816] <210> 44
 [1817] <211> 2916
 [1818] <212> DNA
 [1819] <213> 人工序列
 [1820] <220>
 [1821] <223> 人工序列的描述:合成的
 [1822] 多核苷酸
 [1823] <400> 44
 [1824] atggaatgga gctgggtctt tctctcttc ctgtcagtaa cgactggtgt ccaactccgca 60
 [1825] ggtggcacc ctagtccaat tectgaccct tcaagtagca ctgttgccac aggggaaaat 120
 [1826] ggcataacgc agatcagcag tacagcagaa tcctttcata aacagaatgg aactggaaca 180
 [1827] cctcaggtgg aaacaaacac cagtgaggat ggtgaaagct ctggagccaa cgatagttaa 240
 [1828] agaacacctg aacaaggatc taatgggact gatggggcat ctcaaaaaac tcccagtagc 300
 [1829] actgggcccc gtctgtgtt tgacattaaa gctgtttcca tcaagtagca caatgtgatc 360
 [1830] ttaacttga aaagtaata cacagctgct tctgagtaca agtatgtagt aaagcataag 420
 [1831] atggaatag agaagacaat tactgtgtg catcaaccat ggtgtaacat cacaggctta 480
 [1832] cgtccagcga cttcatatgt attctccatc actccaggaa taggcaatga gacttgggga 540
 [1833] gatcccagag tcaataaagt catcacagag ccgatcccag tttctgatct ccgtgttgc 600
 [1834] ctacgggtg tgaggaagc tgctctctc tggagcaatg gcaatggcac tgctctctgc 660
 [1835] cgggtctctc ttgaaagcat tggaagccat gaggagtga ctcaagactc aagacttcag 720
 [1836] gtcaatatct cgggctgaa gccaggggt caatacaaca tcaaccgta tcttctaca 780
 [1837] tcaataaaga caaaggaga ccccttggc acagaagggt gcttgatgc cagcaataca 840
 [1838] gagagaagc gggcaggag cccaccgcc cctgtgcatg atgagtcct cgtgggacct 900
 [1839] gtggaccat cctccgcca gcagtcgca gacacggaag tctgtctgt cgggttagag 960
 [1840] cctggcacc gatacaatgc caccgttat tccaagcag cgaatggcac agaaggacag 1020
 [1841] cccagggca tagagttcag gacaaatgct attcaggtt ttgacgtcac cgctgtgaac 1080
 [1842] atcagtcca caagcctgac cctgatctgg aaagtcagcg ataacgagtc gtcattctaac 1140
 [1843] tatactaca agatacatg ggcgggggag acagattctt ccaatctcaa cgctcagtga 1200
 [1844] cctgcgctg tcatccccg actccgctc agcacctctt acaacatcac agtgtgtctc 1260
 [1845] gtctaggtg acatcaggg cacgccggc ttctccaag tgcacacccc ccctgttcca 1320
 [1846] gttctgact tccagtgac agtggtcagc acgacggaga tcggcttagc atggagcagc 1380
 [1847] catgatgcag aatcatttca gatgcatac acacaggagg gagctggcaa ttctcgggta 1440

[1848]	gaaataacca ccaaccaaag tattatcatt ggtggcttgt tccctggaac caagtattgc	1500
[1849]	tttgaatag ttccaaaagg accaaatggg actgaagggg catctcggac agtttgaat	1560
[1850]	agaactgttc ccagtgcagt gtttgacatc cacgtggtct acgtcaccac cacggagatg	1620
[1851]	tggctggact ggaagagccc tgacggtgct tccgagtatg tctaccattt agtcatagag	1680
[1852]	tccaagcatg gctctaacca cacaagcag tatgacaaag cgattactct ccagggcctg	1740
[1853]	attccgggca cttatataa catcacatc tctccagaag tggaccacgt ctggggggac	1800
[1854]	cccaactcca ctgcacagta cacacggccc agcaatgtgt ccaacattga tgtaagtacc	1860
[1855]	aacaccacag cagcaacttt aagttggcag aactttgatg acgcctctcc cacgtactcc	1920
[1856]	tactgccttc ttattgagaa ggctggaaat tccagcaacg caacacaagt agtcacggac	1980
[1857]	attggaatta ctgacgtac agtcactgaa ttaatacctg gctcatcata cacagtggag	2040
[1858]	atctttgcac aagtagggga tgggatcaag tcaactggaac ctggccggaa gtcattctgt	2100
[1859]	acagatcctg cgtccatgac ctctctgac tgcgaagtgg tccccaaaga gccagccctg	2160
[1860]	gttctcaaat ggacctgccc tcttgccgcc aatgcaggct ttgagctgga ggtcagcagt	2220
[1861]	ggagcctgga acaatgcgac ccacctggag agctgctcct ctgagaatgg cactgagtat	2280
[1862]	agaacggaag tcacgtattt gaatttttct acctcgtaca acatcagcat caccactgtg	2340
[1863]	tctgtggaa agatggcagc cccaccgg aacacctgca ctactggcat cacagatccc	2400
[1864]	cctcctccag atggatcccc taatattaca tctgtcagtc acaattcagt aaaggtcaag	2460
[1865]	ttcagtggat ttgaagccag ccacggacc atcaaagcct atgctgtcat tctcaccacc	2520
[1866]	ggggaagctg gtcacccttc tgcagatgct ctgaaataca cgtatgagga tttcaaaaag	2580
[1867]	ggagcctcag atacttatgt gacatactc ataagaacag aagaaaagg acgttctcag	2640
[1868]	agcttgtctg aagttttgaa atatgaaatt gacgttggga atgagtcaac cacacttgg	2700
[1869]	tattacaatg ggaagctgga acctctgggc tctaccggg cttgtgtggc tggcttcacc	2760
[1870]	aacattacct tccacctca aaacaagggg ctcatgtatg gggctgagag ctatgtgtcc	2820
[1871]	ttcagtcgct actcagatgc tgtttcctg cccaggatc caggtgtcat ctgtggcggt	2880
[1872]	ggacaccacc atcatcacca tcaccaccat cactag	2916
[1873]	<210> 45	
[1874]	<211> 1621	
[1875]	<212> PRT	
[1876]	<213> 智人	
[1877]	<400> 45	
[1878]	Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu	
[1879]	1 5 10 15	
[1880]	Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala	
[1881]	20 25 30	
[1882]	Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu	
[1883]	35 40 45	
[1884]	Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly	
[1885]	50 55 60	
[1886]	Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys	
[1887]	65 70 75 80	
[1888]	Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Arg Ile Ile	
[1889]	85 90 95	

[1890]	Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
[1891]	100 105 110
[1892]	Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Ser Leu
[1893]	115 120 125
[1894]	His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
[1895]	130 135 140
[1896]	Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
[1897]	145 150 155 160
[1898]	Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
[1899]	165 170 175
[1900]	Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
[1901]	180 185 190
[1902]	Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
[1903]	195 200 205
[1904]	Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His
[1905]	210 215 220
[1906]	Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
[1907]	225 230 235 240
[1908]	Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
[1909]	245 250 255
[1910]	Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
[1911]	260 265 270
[1912]	Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
[1913]	275 280 285
[1914]	Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
[1915]	290 295 300
[1916]	Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
[1917]	305 310 315 320
[1918]	Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
[1919]	325 330 335
[1920]	Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
[1921]	340 345 350
[1922]	Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
[1923]	355 360 365
[1924]	Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Asp Lys Val Ala Asn Leu Glu
[1925]	370 375 380
[1926]	Ala Asn Asn Asn Gly Arg Met Arg Ser Leu Val Val Ser Trp Ser Pro
[1927]	385 390 395 400
[1928]	Pro Ala Gly Asp Trp Glu Gln Tyr Arg Ile Leu Leu Phe Asn Asp Ser
[1929]	405 410 415
[1930]	Val Val Leu Leu Asn Ile Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr Gln Tyr Val
[1931]	420 425 430

[1932]	Met Asp Asp Thr Gly Leu Val Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Val Glu Val
[1933]	435 440 445
[1934]	Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Lys Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly Arg
[1935]	450 455 460
[1936]	Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn Glu
[1937]	465 470 475 480
[1938]	Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro Val Ala Glu Trp Glu Lys
[1939]	485 490 495
[1940]	Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu Leu Leu Ile His Lys Ser
[1941]	500 505 510
[1942]	Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Val Pro Gly
[1943]	515 520 525
[1944]	Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu Lys Asn
[1945]	530 535 540
[1946]	Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp Leu
[1947]	545 550 555 560
[1948]	His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp Thr
[1949]	565 570 575
[1950]	Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His Glu
[1951]	580 585 590
[1952]	Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser Ser Glu Thr Ser Arg Tyr
[1953]	595 600 605
[1954]	Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val Thr
[1955]	610 615 620
[1956]	Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Val Glu Gly Arg
[1957]	625 630 635 640
[1958]	Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly Arg
[1959]	645 650 655
[1960]	Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu Ala Pro Gly Asp Val Asp
[1961]	660 665 670
[1962]	Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly Lys Val Val Gln Ser Leu
[1963]	675 680 685
[1964]	Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr Pro
[1965]	690 695 700
[1966]	Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr Arg Ser Gly Lys Tyr Glu
[1967]	705 710 715 720
[1968]	Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val Pro Asp Lys Val Gln Gly
[1969]	725 730 735
[1970]	Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp Tyr Leu Arg Val Ser Trp
[1971]	740 745 750
[1972]	Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr Glu Val Thr Ile Lys Asn
[1973]	755 760 765

[1974]	Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile Pro Lys Ser Glu Asn Glu
[1975]	770 775 780
[1976]	Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg Leu Tyr Ser Val Thr Val
[1977]	785 790 795 800
[1978]	Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn Glu Gln Gly Asn Gly Arg
[1979]	805 810 815
[1980]	Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr Leu Arg Asn Arg Ser Thr
[1981]	820 825 830
[1982]	Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Gly Ala Asn Gly Asp Val Asp Gln
[1983]	835 840 845
[1984]	Tyr Glu Ile Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met Lys Val Phe Pro Pro Phe
[1985]	850 855 860
[1986]	His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Arg Phe Thr Ser Leu Thr Pro
[1987]	865 870 875 880
[1988]	Gly Arg Gln Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr Ile Ser Gly Asp Val Gln
[1989]	885 890 895
[1990]	Gln Ser Ala Phe Ile Glu Gly Phe Thr Val Pro Ser Ala Val Lys Asn
[1991]	900 905 910
[1992]	Ile His Ile Ser Pro Asn Gly Ala Thr Asp Ser Leu Thr Val Asn Trp
[1993]	915 920 925
[1994]	Thr Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr Thr Val Ser Ala Phe Arg
[1995]	930 935 940
[1996]	His Ser Gln Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile Pro Lys His Val Phe Glu
[1997]	945 950 955 960
[1998]	His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Glu Gln Tyr Gln Ile Met Ile
[1999]	965 970 975
[2000]	Ala Ser Val Ser Gly Ser Leu Lys Asn Gln Ile Asn Val Val Gly Arg
[2001]	980 985 990
[2002]	Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Gly Val Ile Ala Asp Asn Ala Tyr Ser
[2003]	995 1000 1005
[2004]	Ser Tyr Ser Leu Ile Val Ser Trp Gln Lys Ala Ala Gly Val Ala
[2005]	1010 1015 1020
[2006]	Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Thr Glu Asn Gly Ile Leu Leu
[2007]	1025 1030 1035
[2008]	Arg Asn Thr Ser Glu Pro Ala Thr Thr Lys Gln His Lys Phe Glu
[2009]	1040 1045 1050
[2010]	Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Ile Gln Ile Leu Thr Val
[2011]	1055 1060 1065
[2012]	Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ala Gln Thr Glu Gly Arg Thr
[2013]	1070 1075 1080
[2014]	Val Pro Ala Ala Val Thr Asp Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser Thr
[2015]	1085 1090 1095

[2016]	Arg His Leu Ser Phe Arg Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu Ser
[2017]	1100 1105 1110
[2018]	Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Gly Asn Leu Gln Glu
[2019]	1115 1120 1125
[2020]	Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln Asn
[2021]	1130 1135 1140
[2022]	Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His Ser
[2023]	1145 1150 1155
[2024]	Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val Pro
[2025]	1160 1165 1170
[2026]	Ala Ser Val Ser His Leu Arg Gly Ser Asn Arg Asn Thr Thr Asp
[2027]	1175 1180 1185
[2028]	Ser Leu Trp Phe Asn Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp Phe
[2029]	1190 1195 1200
[2030]	Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu Asn
[2031]	1205 1210 1215
[2032]	Trp Lys Asp Lys Asp Leu Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu Val
[2033]	1220 1225 1230
[2034]	Pro Gly Arg Lys Tyr Val Leu Trp Val Val Thr His Ser Gly Asp
[2035]	1235 1240 1245
[2036]	Leu Ser Asn Lys Val Thr Ala Glu Ser Arg Thr Ala Pro Ser Pro
[2037]	1250 1255 1260
[2038]	Pro Ser Leu Met Ser Phe Ala Asp Ile Ala Asn Thr Ser Leu Ala
[2039]	1265 1270 1275
[2040]	Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp Phe
[2041]	1280 1285 1290
[2042]	Glu Leu Gln Trp Leu Pro Arg Asp Ala Leu Thr Val Phe Asn Pro
[2043]	1295 1300 1305
[2044]	Tyr Asn Asn Arg Lys Ser Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu Arg
[2045]	1310 1315 1320
[2046]	Pro Gly Arg Ser Tyr Gln Phe Asn Val Lys Thr Val Ser Gly Asp
[2047]	1325 1330 1335
[2048]	Ser Trp Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ser Val Arg Thr
[2049]	1340 1345 1350
[2050]	Lys Pro Asp Lys Ile Gln Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn Ser
[2051]	1355 1360 1365
[2052]	Thr Ala Ile Ala Cys Ser Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe Asp
[2053]	1370 1375 1380
[2054]	Gly Tyr Ser Ile Glu Cys Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Val Glu
[2055]	1385 1390 1395
[2056]	Phe Ser Arg Lys Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile Met
[2057]	1400 1405 1410

[2058]	Met Leu Val Pro His Lys Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val Gln
[2059]	1415 1420 1425
[2060]	Ser Ala Gly Met Thr Ser Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile Thr
[2061]	1430 1435 1440
[2062]	Met Ile Asp Arg Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ile Arg Val Asn
[2063]	1445 1450 1455
[2064]	Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr Val
[2065]	1460 1465 1470
[2066]	Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr Phe
[2067]	1475 1480 1485
[2068]	Thr Val Val Val Arg Glu Ala Asp Gly Ser Asp Glu Leu Lys Pro
[2069]	1490 1495 1500
[2070]	Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His Asn
[2071]	1505 1510 1515
[2072]	Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys Cys
[2073]	1520 1525 1530
[2074]	Ala Glu Asn Pro Asn Ser Asn Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys Leu
[2075]	1535 1540 1545
[2076]	Gly Ala Glu Met Glu Ser Leu Gly Gly Lys Cys Asp Pro Thr Gln
[2077]	1550 1555 1560
[2078]	Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr Arg
[2079]	1565 1570 1575
[2080]	Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu Lys
[2081]	1580 1585 1590
[2082]	Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Leu Pro
[2083]	1595 1600 1605
[2084]	Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Ala Ile Glu
[2085]	1610 1615 1620
[2086]	<210> 46
[2087]	<211> 89
[2088]	<212> PRT
[2089]	<213> 智人
[2090]	<400> 46
[2091]	Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala Glu Ser Lys Ala
[2092]	1 5 10 15
[2093]	Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu Gly Ser Pro Cys
[2094]	20 25 30
[2095]	Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly Ala Ala Leu Cys
[2096]	35 40 45
[2097]	Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys Asn Leu Gln Asp
[2098]	50 55 60
[2099]	Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Arg Ile Ile Ser Leu Asp Glu

[2100]	65	70	75	80
[2101]	Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp			
[2102]	85			
[2103]	<210> 47			
[2104]	<211> 122			
[2105]	<212> PRT			
[2106]	<213> 人工序列			
[2107]	<220>			
[2108]	<223> 人工序列的描述:合成的			
[2109]	多肽			
[2110]	<400> 47			
[2111]	Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly			
[2112]	1	5	10	15
[2113]	Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ala Asn			
[2114]	20		25	30
[2115]	Ala Met Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[2116]	35		40	45
[2117]	Ala Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Gly			
[2118]	50		55	60
[2119]	Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Gln Asn Met			
[2120]	65	70	75	80
[2121]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr			
[2122]	85		90	95
[2123]	Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile Thr Tyr Trp			
[2124]	100		105	110
[2125]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala			
[2126]	115		120	
[2127]	<210> 48			
[2128]	<211> 107			
[2129]	<212> PRT			
[2130]	<213> 人工序列			
[2131]	<220>			
[2132]	<223> 人工序列的描述:合成的			
[2133]	多肽			
[2134]	<400> 48			
[2135]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly			
[2136]	1	5	10	15
[2137]	Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Val Gly Thr Ala			
[2138]	20		25	30
[2139]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Gln Leu Ile			
[2140]	35		40	45
[2141]	Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly			

[2142]	50	55	60
[2143]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser		
[2144]	65	70	75 80
[2145]	Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe		
[2146]		85	90 95
[2147]	Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[2148]		100	105
[2149]	<210> 49		
[2150]	<400> 49		
[2151]	000		
[2152]	<210> 50		
[2153]	<211> 122		
[2154]	<212> PRT		
[2155]	<213> 人工序列		
[2156]	<220>		
[2157]	<223> 人工序列的描述:合成的		
[2158]	多肽		
[2159]	<400> 50		
[2160]	Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly		
[2161]	1	5	10 15
[2162]	Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ala Asn		
[2163]		20	25 30
[2164]	Ala Met Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[2165]		35	40 45
[2166]	Ala Arg Ile Arg Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Gly		
[2167]		50	55 60
[2168]	Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Gln Asn Met		
[2169]	65	70	75 80
[2170]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr		
[2171]		85	90 95
[2172]	Tyr Cys Val Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Ala Trp Ile Thr Tyr Trp		
[2173]		100	105 110
[2174]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala		
[2175]		115	120
[2176]	<210> 51		
[2177]	<211> 107		
[2178]	<212> PRT		
[2179]	<213> 人工序列		
[2180]	<220>		
[2181]	<223> 人工序列的描述:合成的		
[2182]	多肽		
[2183]	<400> 51		


```

1
50
(SEQ ID NO: 50) VH0 EVQLVETGGGLVQPKGSMKLSAASGFTFNANAMNWIRQAPGKGLEWVAR
(SEQ ID NO: 9)  VH1 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNANAMNWVRQASGKGLEWVGR
(SEQ ID NO: 10) VH2 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNANAMNWVRQAPGKGLEWVGR
(SEQ ID NO: 11) VH3 EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCTASGFTFNANAMNWVRQAPGKGLEWVGR
(SEQ ID NO: 12) VH4 LVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNANAMNWIRQAPGKGLEWVSR

51
100
(SEQ ID NO: 50) VH0 IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDDAQNMLYLQMNDLKTEDTAMYYCVR
(SEQ ID NO: 9)  VH1 IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAAYYCVR
(SEQ ID NO: 10) VH2 IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVR
(SEQ ID NO: 11) VH3 IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDDSKNIAYLQMNSLKTEDTAVYYCVR
(SEQ ID NO: 12) VH4 IRTKSNNYATYYAGSVKDRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVHYCVR

101
122
(SEQ ID NO: 50) VH0 DYYGSSAWITYWGQGLVTVSA
(SEQ ID NO: 9)  VH1 DYYGSSAWITYWGQGLVTVSS
(SEQ ID NO: 10) VH2 DYYGSSAWITYWGQGLVTVSS
(SEQ ID NO: 11) VH3 DYYGSSAWITYWGQGLVTVSS
(SEQ ID NO: 12) VH4 DYYGSSAWITYWGQGLVTVSS

```

图1

```

1
50
(SEQ ID NO: 51) VL0 DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQHVGTAVAWYQQKPDQSPKQLIYW
(SEQ ID NO: 20) VL1 DVVMTQSPSFLSASVGDVRTITCKASQHVGTAVAWYQQRPGKAPKLLIYW
(SEQ ID NO: 21) VL2 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQHVGTAVAWYQQKPGQPPKLLIYW
(SEQ ID NO: 22) VL3 DIQMTQSPFSLSASVGDVRTITCKASQHVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYW
(SEQ ID NO: 23) VL4 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQHVGTAVAWYQQKPEQPPKLLIYW

51
100
(SEQ ID NO: 51) VL0 ASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPFTFGS
(SEQ ID NO: 20) VL1 ASTRHTGVPSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYFCQQYSSYPFTFGG
(SEQ ID NO: 21) VL2 ASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYSSYPFTFGQ
(SEQ ID NO: 22) VL3 ASTRHTGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQYSSYPFTFGG
(SEQ ID NO: 23) VL4 ASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYSSYPFTFGG

101
(SEQ ID NO: 51) VL0 GTKLEIK
(SEQ ID NO: 20) VL1 GTKLEIK
(SEQ ID NO: 21) VL2 GTKLEIK
(SEQ ID NO: 22) VL3 GTKLEIK
(SEQ ID NO: 23) VL4 GTKVEIK

```

图2

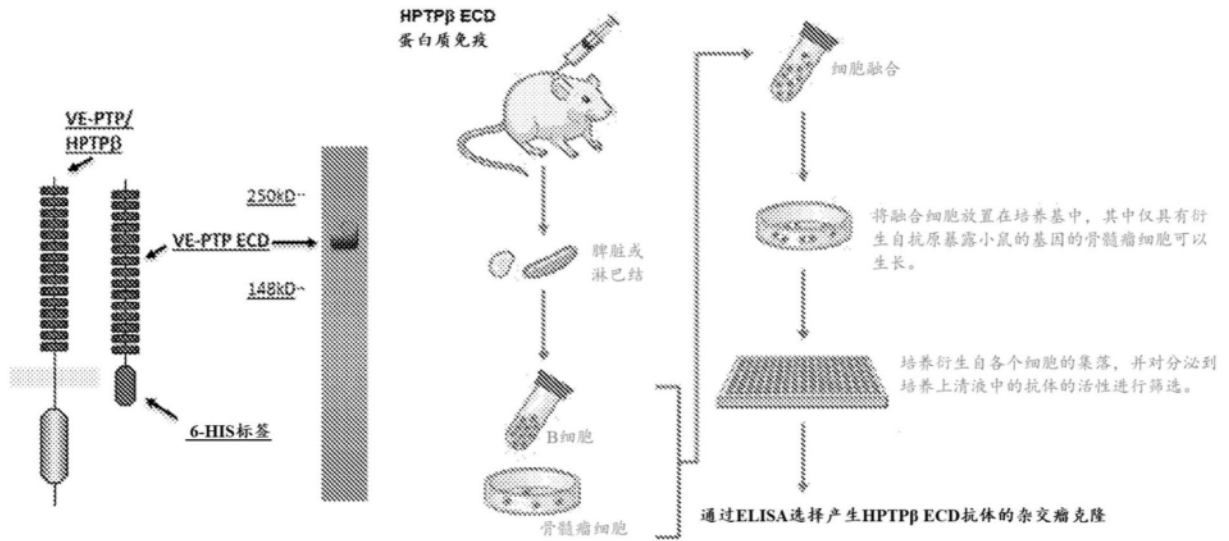


图3

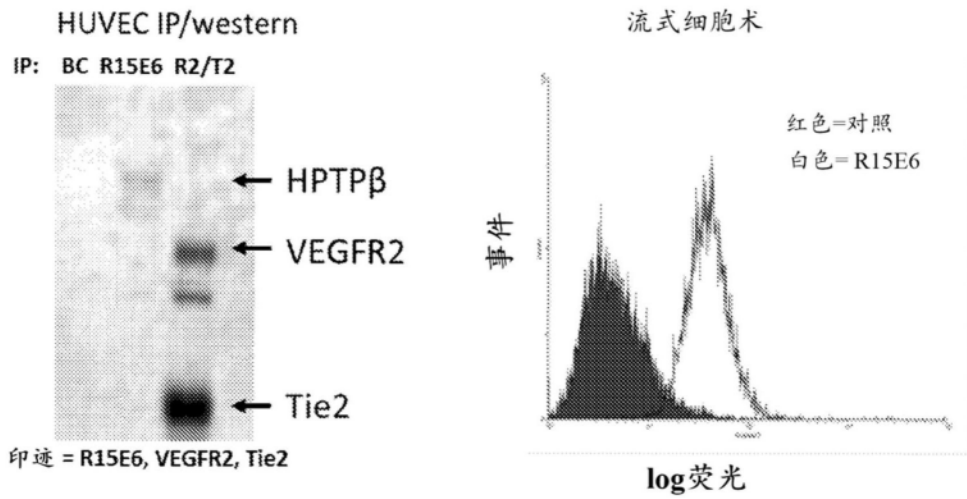


图4

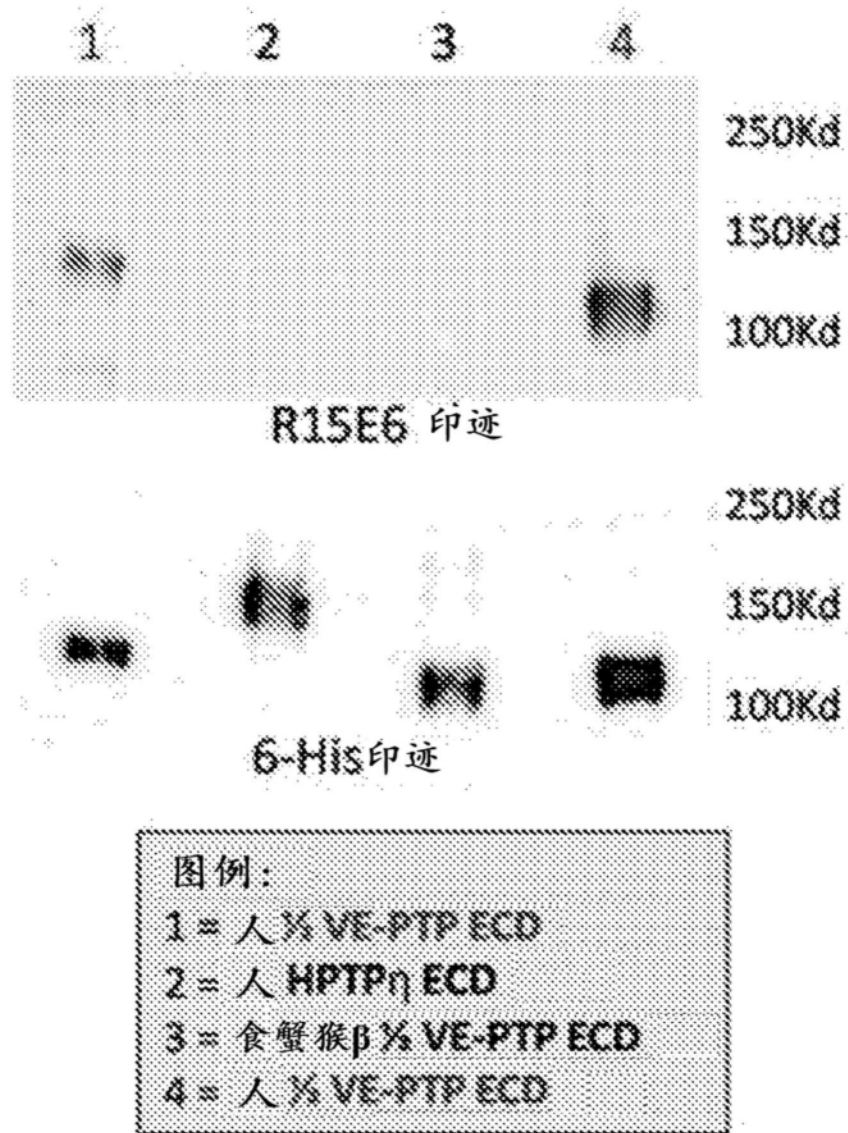


图5

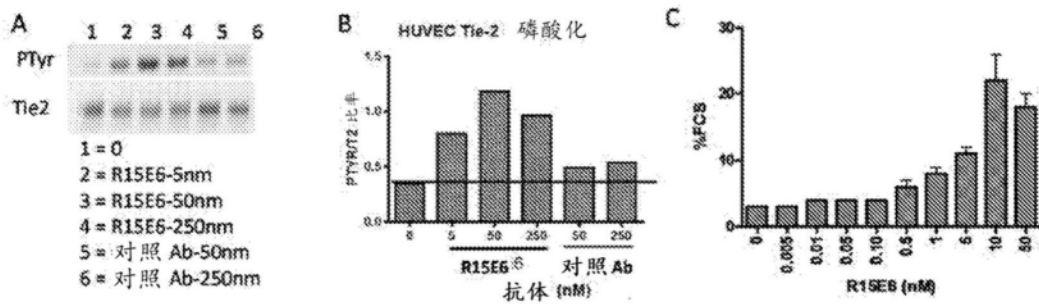


图6

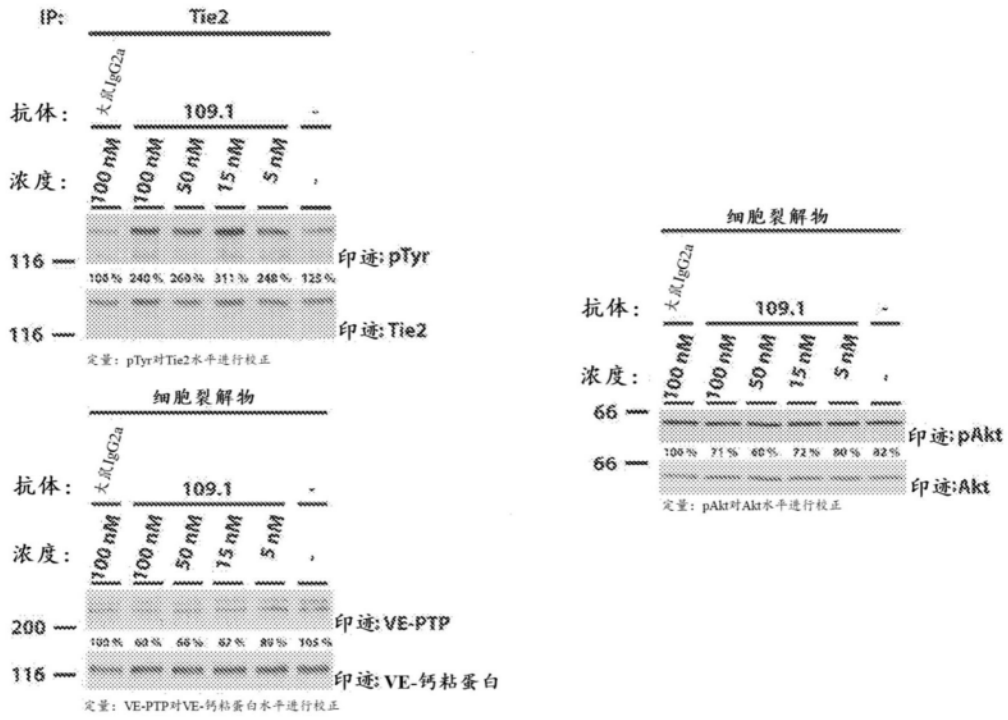


图7

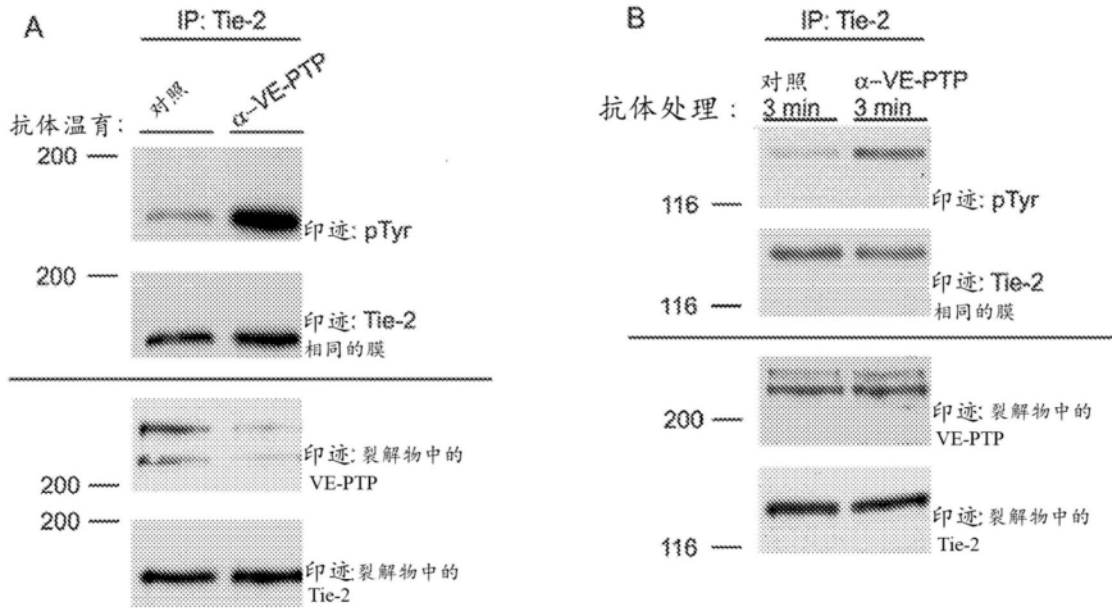


图8

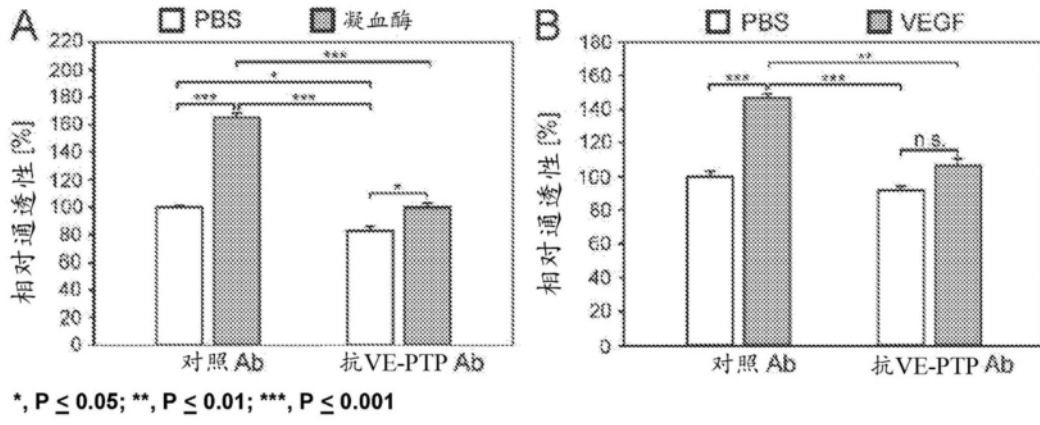


图9

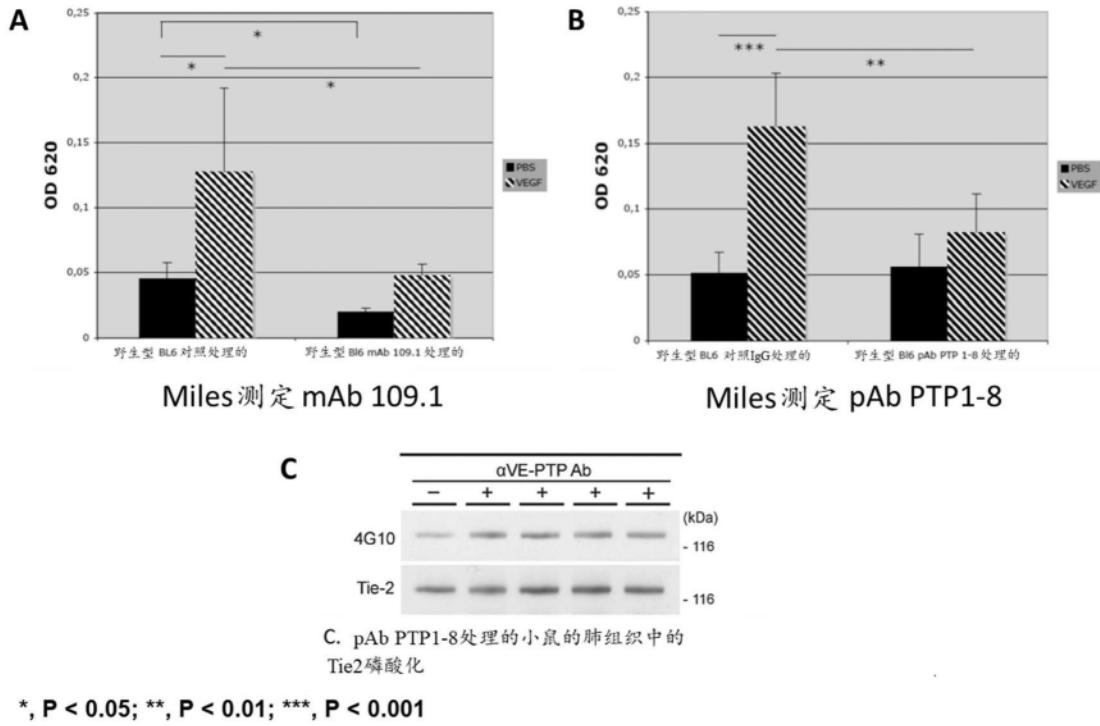


图10

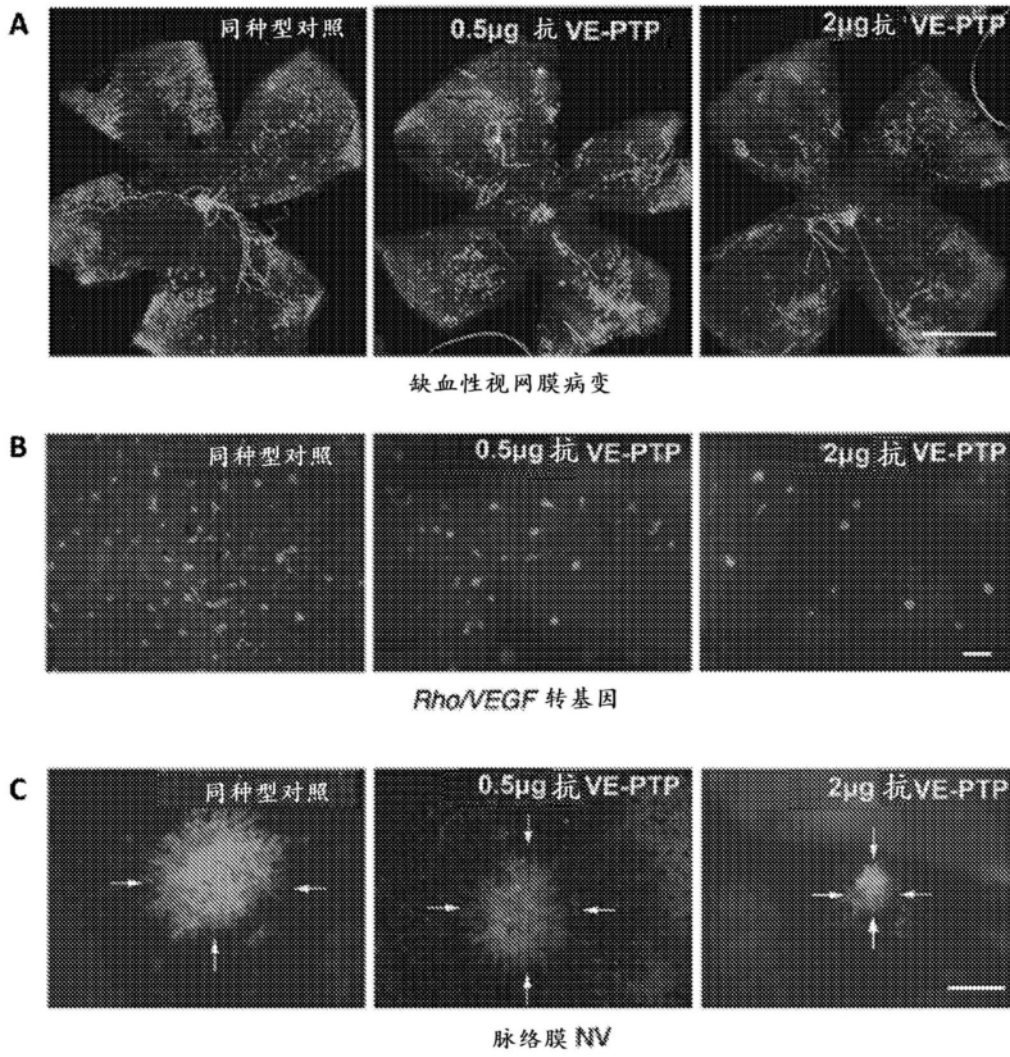


图11

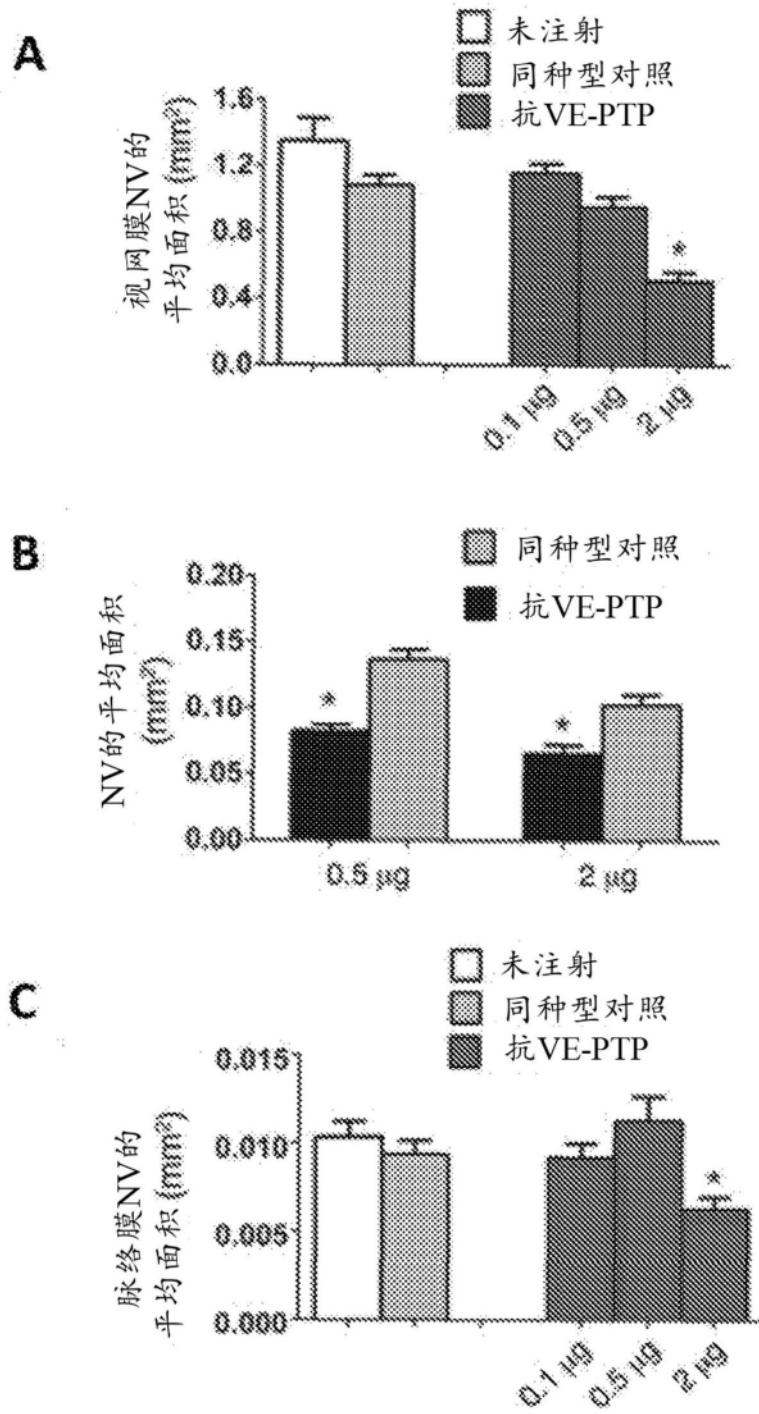
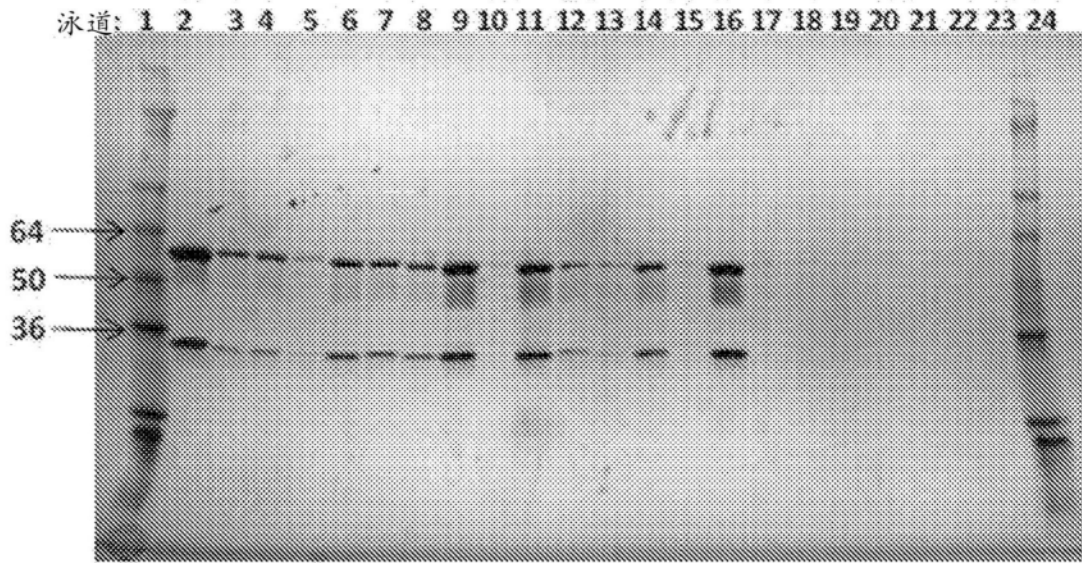


图12

A

还原性 SDS-PAGE



B

非还原性 SDS-PAGE

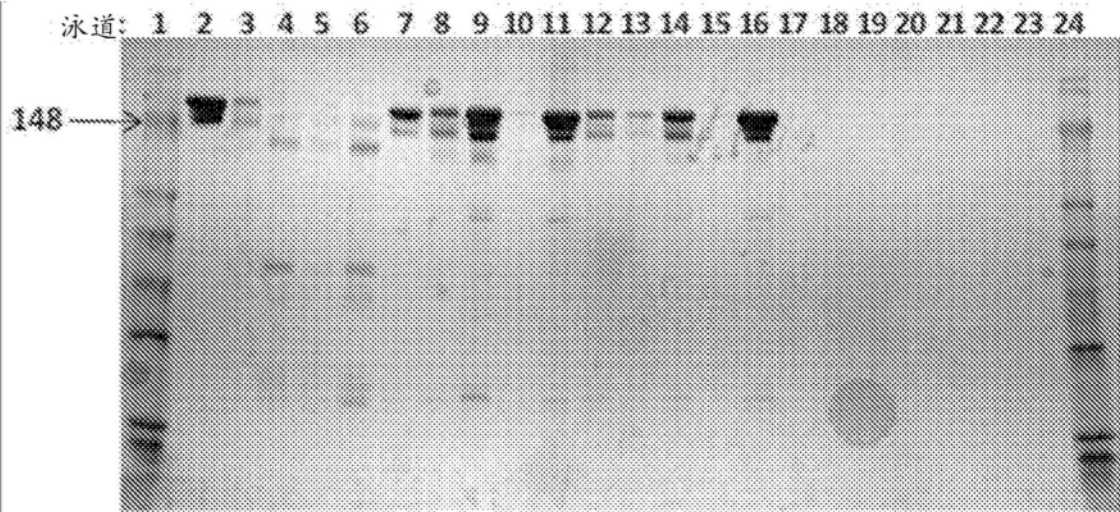


图13

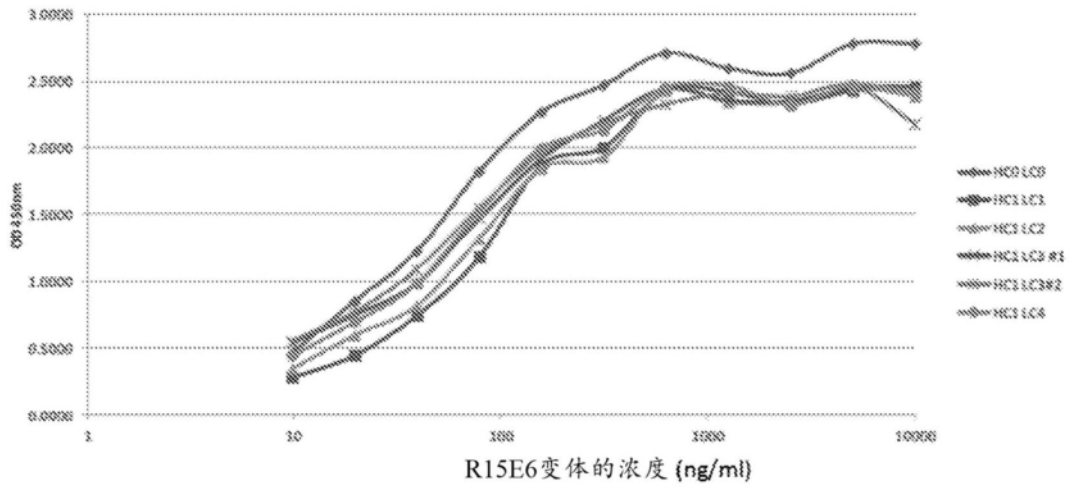


图14

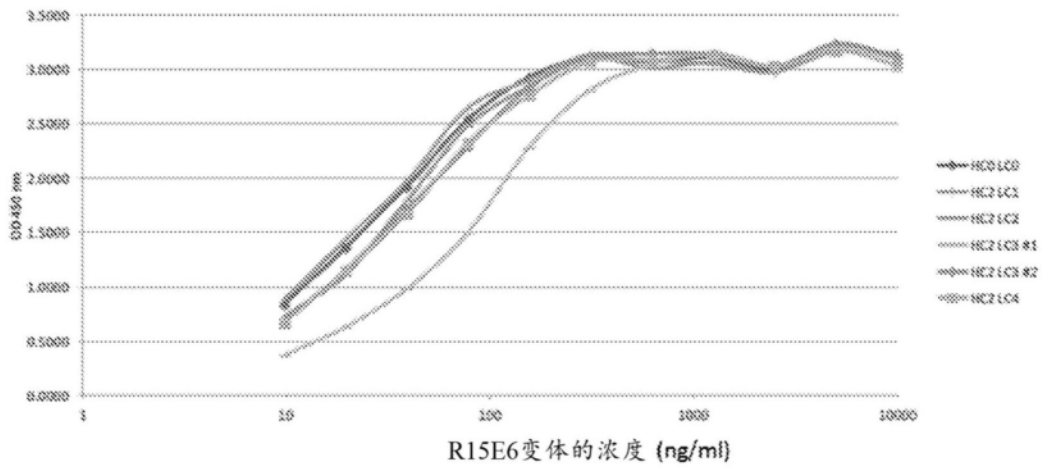


图15

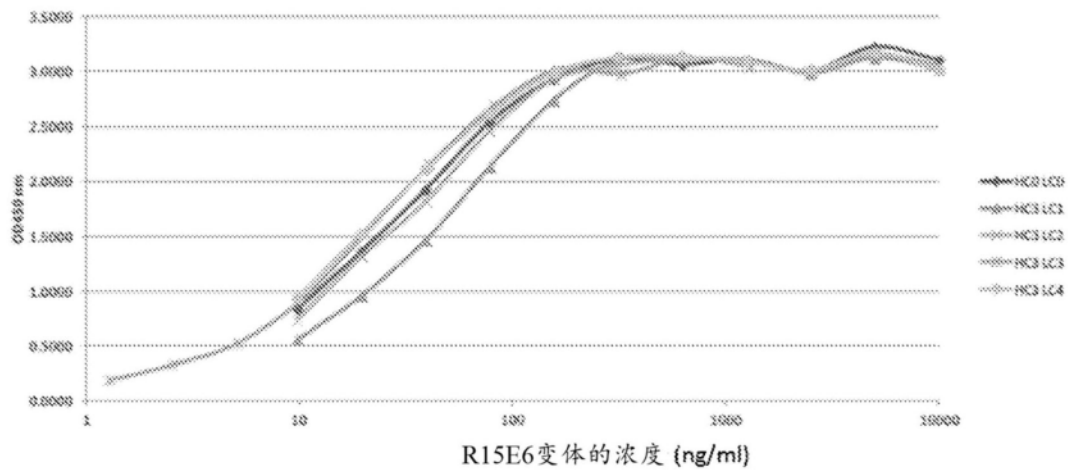


图16

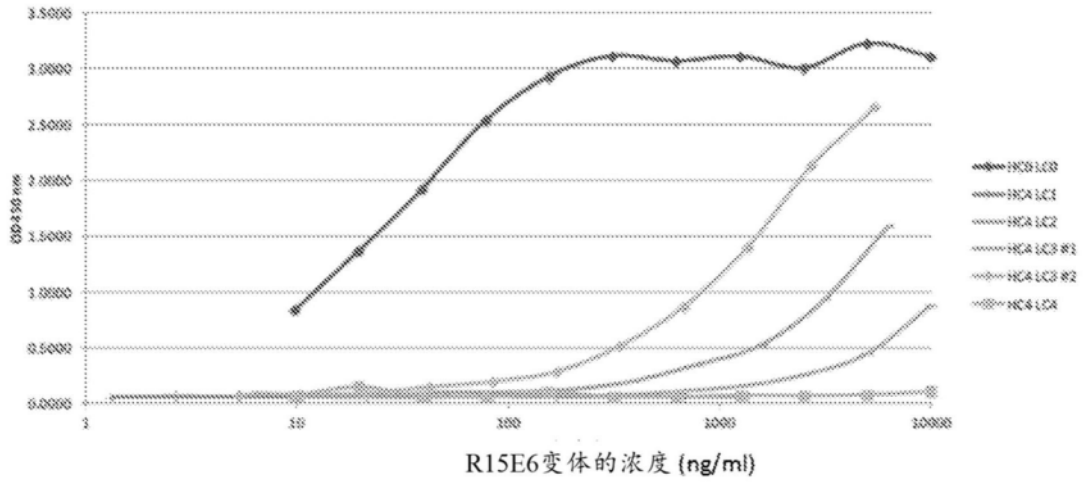


图17

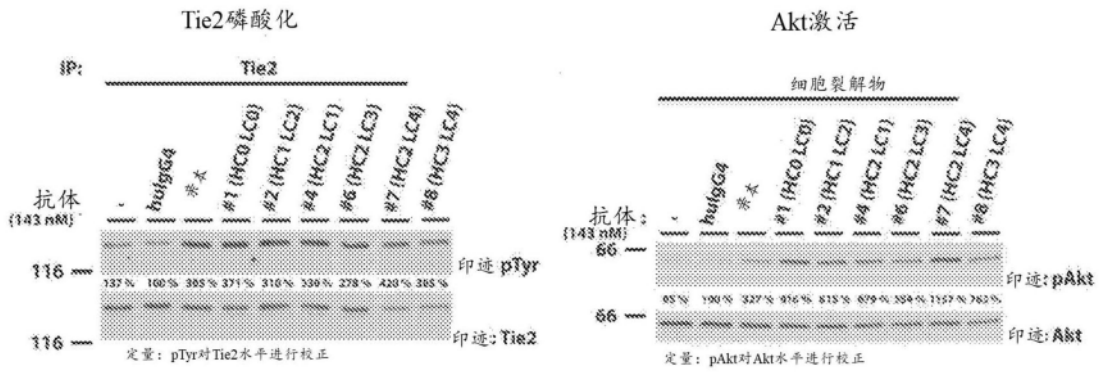
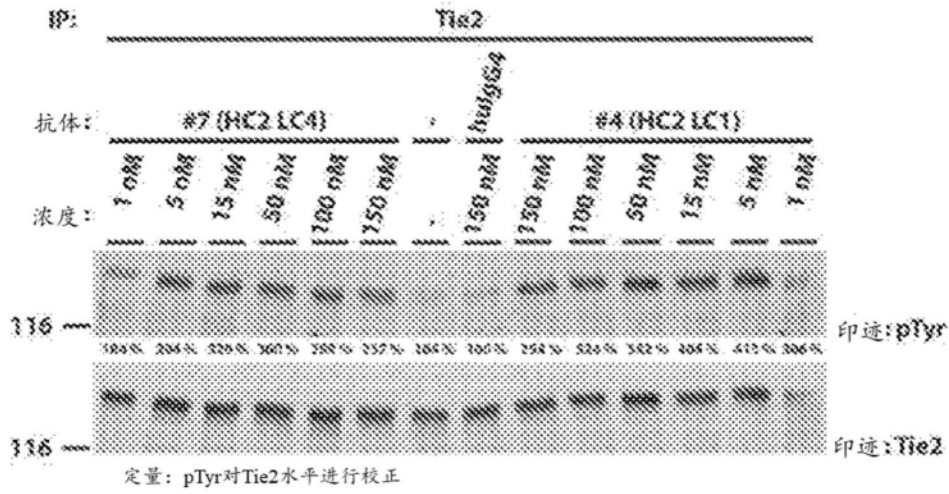


图18

Tie2磷酸化



Akt激活

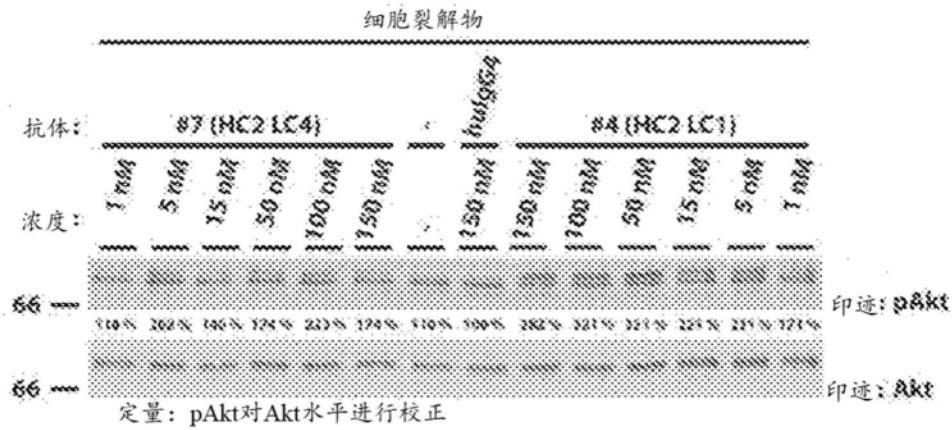


图19

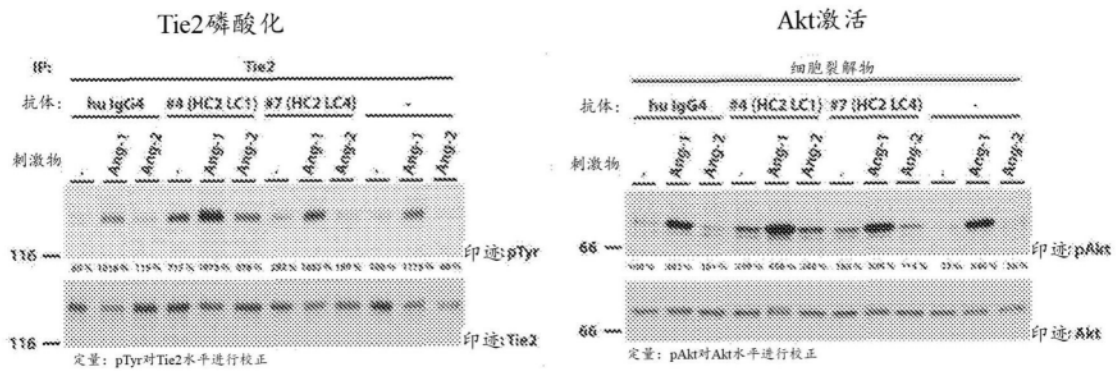


图20

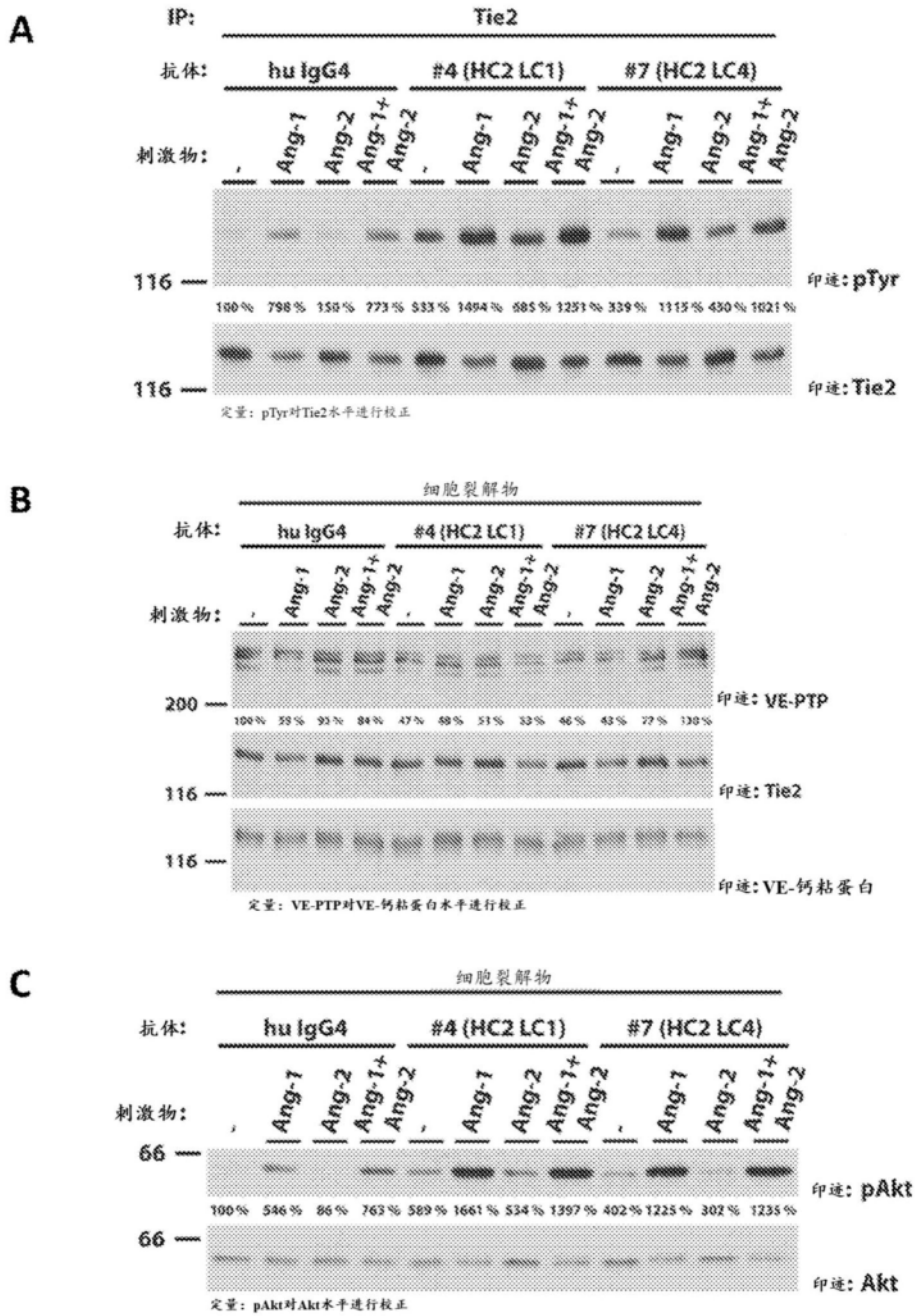


图21

内皮AKT激活测定

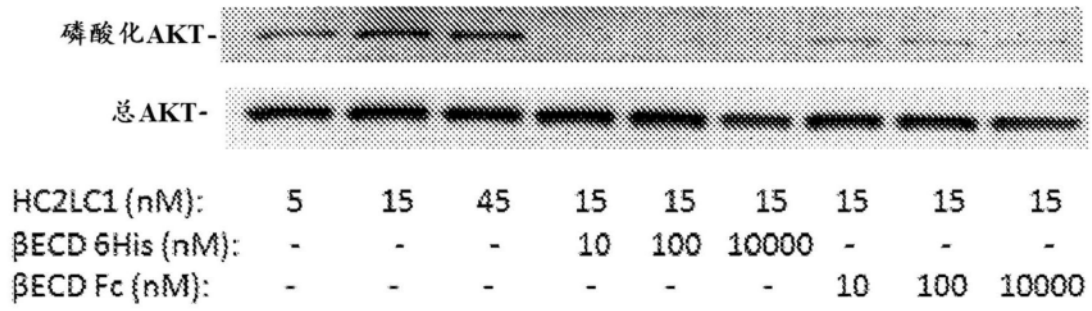


图22

内皮活力测定

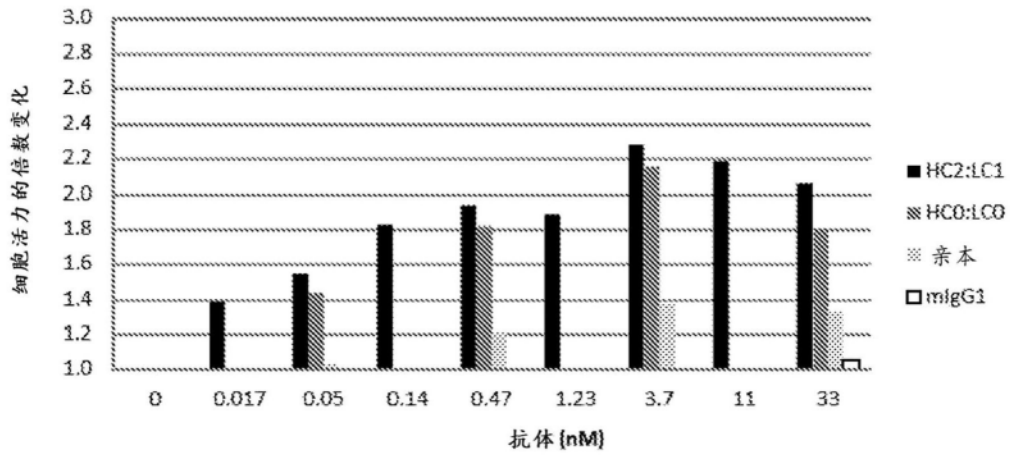
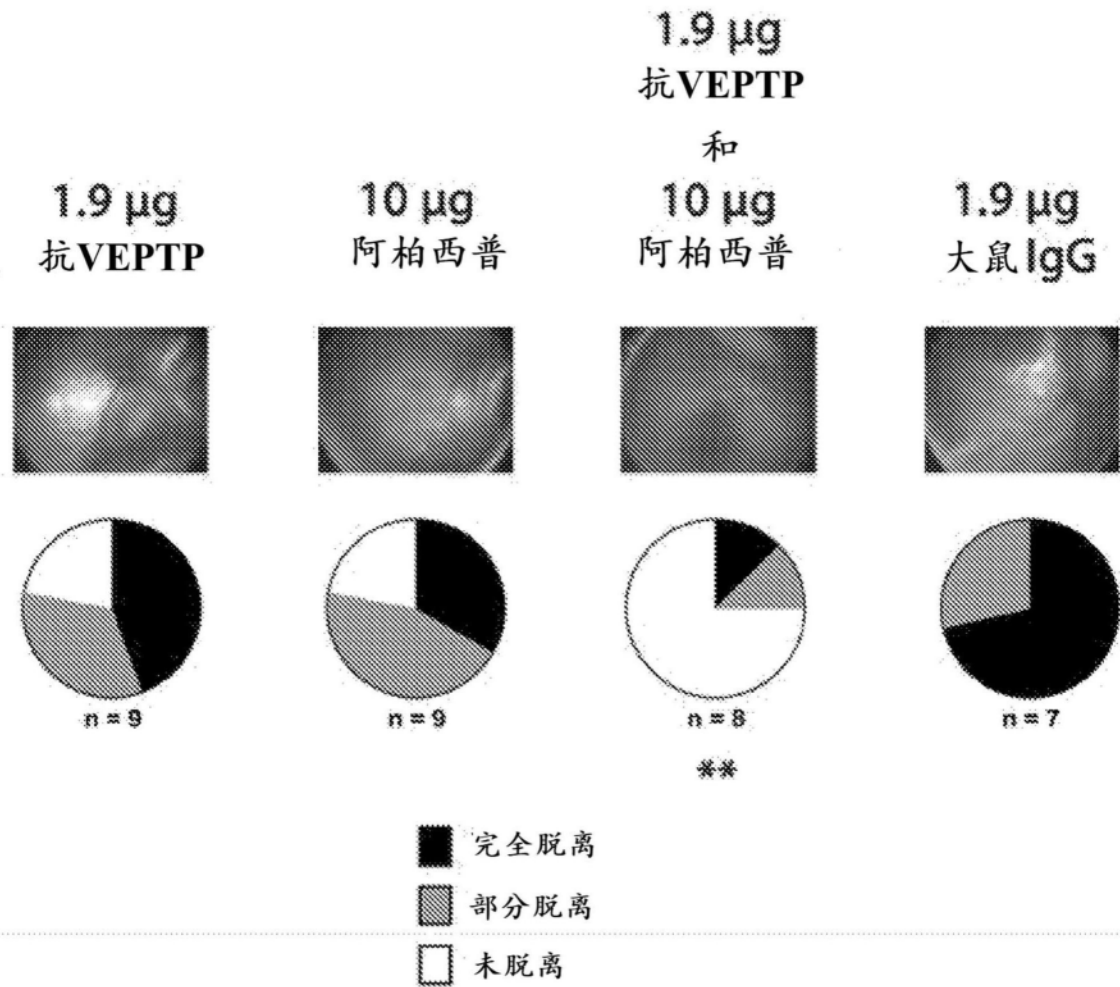


图23



通过grp对脱离进行Dunn成对比较
(Bonferroni)

列平均值 行平均值	抗VEGF 1	抗VEPTP 2	联合体 3	
抗VEPTP 2	-0.298142 1.0000			
联合体 3	1.737016 0.2472	2.026256 0.1282		
大鼠IgG 4	-1.441203 0.4486	-1.162317 0.7353	-3.034177 0.0072	P值

图24

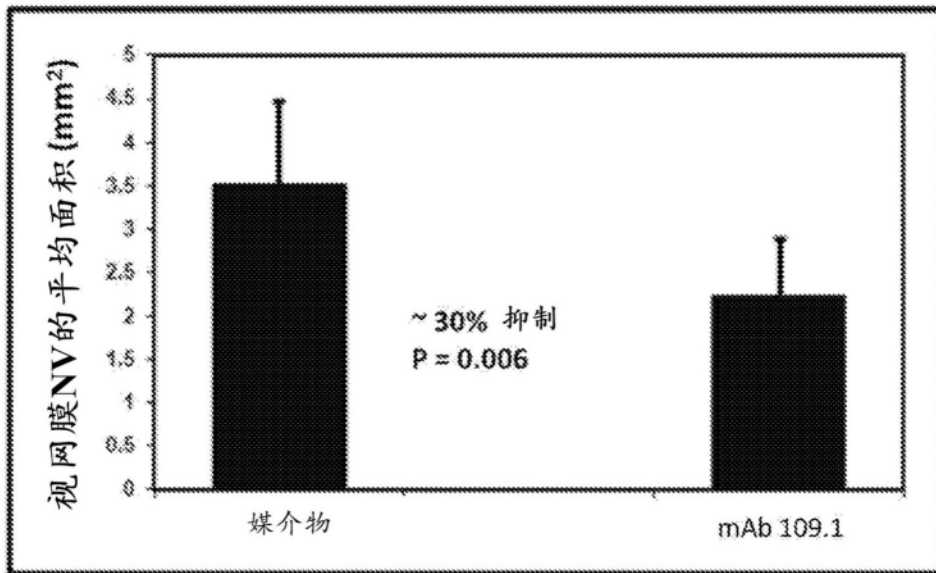


图25