



(10) 授权公告号 CN 111108202 B

(45) 授权公告日 2024.10.22

(21) 申请号 201880060090.X

(22) 申请日 2018.09.27

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 111108202 A

(43) 申请公布日 2020.05.05

(30) 优先权数据  
2017-189647 2017.09.29 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2020.03.16

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/JP2018/035832 2018.09.27

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02019/065795 JA 2019.04.04

(73) 专利权人 中外制药株式会社  
地址 日本国东京都

(72) 发明人 寺西佑理 加藤一希 古贺光  
井川智之 山口一树 添田哲弘

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任  
公司 11021  
专利代理师 张国梁 张莹

(51) Int.Cl.  
C12N 15/13 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
A61P 7/04 (2006.01)  
C07K 16/36 (2006.01)  
C07K 16/46 (2006.01)  
C12N 1/15 (2006.01)  
C12N 1/19 (2006.01)  
C12N 1/21 (2006.01)  
C12N 5/10 (2006.01)  
C12P 21/08 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 103298937 A, 2013.09.11

审查员 杜鹏飞

权利要求书1页 说明书85页  
序列表105页 附图29页

(54) 发明名称

具有凝血因子VIII (FVIII) 辅因子功能替代活性的多特异性抗原结合分子及含有所述分子作为活性成分的药物制剂

(57) 摘要

已经成功地发现了双特异性抗体,其FIX活化抑制活性未升高且其FVIII辅因子功能替代活性升高。

1. 双特异性抗体,其包含与凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX结合的第一抗体重链和第一抗体轻链,以及与凝血因子X结合的第二抗体重链和第二抗体轻链,其中所述双特异性抗体如下:

双特异性抗体,其包括SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变区,SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变区,SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变区,和SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变区。

2. 双特异性抗体,其包含与凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX结合的第一抗体重链和第一抗体轻链,以及与凝血因子X结合的第二抗体重链和第二抗体轻链,其中所述双特异性抗体如下:

双特异性抗体(QH06/QL32//JH07/JL07),其包括SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链,SEQ ID NO:136的氨基酸序列的第一抗体轻链,SEQ ID NO:144的氨基酸序列的第二抗体重链,以及SEQ ID NO:155的氨基酸序列的第二抗体轻链。

3. 分离的核酸,其编码权利要求1或2所述的双特异性抗体。

4. 宿主细胞,其包含权利要求3所述的核酸。

5. 产生多特异性抗原结合分子、多特异性抗体、双特异性抗体或抗原结合分子的方法,其中所述方法包括培养权利要求4所述的宿主细胞,使得产生多特异性抗原结合分子、多特异性抗体、双特异性抗体或抗原结合分子。

6. 药物制剂,其包含权利要求1或2所述的双特异性抗体,以及药学上可接受的载体。

7. 权利要求6所述的药物制剂在制备用于预防和/或治疗血友病A的药物中的用途。

## 具有凝血因子VIII (FVIII) 辅因子功能替代活性的多特异性抗原结合分子及含有所述分子作为活性成分的药物制剂

### 技术领域

[0001] 本发明涉及具有替代凝血因子VIII (FVIII) 的辅因子功能的活性的多特异性抗原结合分子及其药物制剂。本发明还涉及重链和轻链之间的缔合受到调节的抗原结合分子, 其中重链和轻链之间的缔合受到调节的抗原结合分子的产生方法以及用于调节抗原结合分子的重链和轻链之间的缔合的方法。

### 背景技术

[0002] 血友病A是由凝血因子VIII (FVIII) 功能的遗传性降低或缺乏引起的出血异常。针对出血, 一般向血友病A患者施用FVIII制剂(按需施用)。在近些年, FVIII制剂还被预防性地施用以预防出血事件(预防性的施用; 非专利文献1和2)。FVIII制剂在血液中的半衰期约为12至16小时。因此, 为了持续预防, 将FVIII制剂一周三次施用于患者(非专利文献3和4)。在按需施用中, 还在必要时定期额外施用FVIII制剂以预防再出血。此外, FVIII制剂在静脉内施用。因此, 强烈需要比FVIII制剂具有更少负担的药剂。

[0003] 偶尔, 在血友病患者中产生抗FVIII抗体(抑制剂)。这种抑制剂抵消了FVIII制剂的效果。对于已经产生抑制剂的患者(抑制剂患者)的出血, 施用旁路制剂。它们的作用机制不依赖于FVIII功能, 即通过活化的凝血因子IX (FIXa) 催化凝血因子X (FX) 活化的功能。因此, 在一些情况下, 旁路制剂不能充分阻止出血。因此, 强烈需要不受抑制剂存在影响并且可以功能性替代FVIII的药剂。

[0004] 作为解决这些问题的手段, 替代FVIII的功能的双特异性抗体及其用途已被报道(专利文献1、2、3和4)。针对FIXa和FX的双特异性抗体可以通过将这两个因子彼此靠近放置以表现出FVIII辅因子功能替代活性来替代FVIII的功能(非专利文献5)。据报道, 抗体的FVIII辅因子功能替代活性可通过优化对FIXa和FX的亲合力及取向而改善(非专利文献6)。另外, 已知抗体的FVIII辅因子功能替代活性受IgG同种型、二硫键模式、铰链区的氨基酸序列以及在Fc区中糖链的存在或不存在的影响(非专利文献7)。据报道, 为这些抗体之一的具有高FVIII辅因子功能替代活性的ACE910(艾美赛珠单抗, Emicizumab) 在血友病的猴模型中表现出止血效果(非专利文献8和9)。此外, 在对健康受试者的临床试验中, 证实ACE910(艾美赛珠单抗) 实现优异的药代动力学(长半衰期) 和耐受性(非专利文献10), 并且在有或没有抑制剂的血友病A患者的临床试验中, 与ACE910(艾美赛珠单抗) 施用前相比, ACE910(艾美赛珠单抗) 施用显著减少了出血率(非专利文献11)。

[0005] 如上所述, 在临床试验中, 针对ACE910(艾美赛珠单抗) 观察到减少出血率的效果。但是, 在使用FVIII缺乏血浆的体外凝血酶生成测定中, 通过ACE910(艾美赛珠单抗) 对凝血酶生成的最大量(峰高) 的改善效果低于FVIII的正常水平存在下生成的量, 其为100U/dL(非专利文献8)。因此, 期望进一步增强药物功效。此外, 考虑到对血友病A患者的便利性, 需要具有FVIII辅因子功能替代活性的双特异性抗体, 其可以通过比活性的提高等进一步降低施用剂量。

[0006] 通常,在某些情况下,抗体药物充当抗原以诱导抗抗体(ADA)产生(非专利文献12)。由于对于具有ADA(抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体)出现的血友病患者,ACE910(艾美赛珠单抗)的连续施用变得困难,因此需要可以施用于此类患者的具有FVIII辅因子功能替代活性的双特异性抗体。

[0007] ACE910(艾美赛珠单抗)是通过将许多氨基酸取代引入先导抗体hBS1从多个方面进行优化的双特异性抗体。先导抗体hBS1是通过人源化双特异性抗体获得的,所述双特异性抗体通过动物免疫获取,其识别FIX和/或FIXa,以及FX。ACE910(艾美赛珠单抗)具有高的FVIII辅因子功能替代活性(非专利文献6和专利文献4)。然而,为了增强药物功效和改善比活性,需要替代FVIII的功能的双特异性抗体,该抗体具有比ACE910(艾美赛珠单抗)更高的最大活性(最大FVIII辅因子功能替代活性),并且可以在低于ACE910(艾美赛珠单抗)的浓度下表现出FVIII辅因子功能替代活性。然而,至今,从浓度和最大活性的观点来看,没有关于与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,具有显著高的FVIII辅因子功能替代活性的双特异性抗体的报道(专利文献4和5)。

[0008] 先前已经报道了几种方法作为用于制备具有人恒定区的IgG型双特异性抗体(具有人恒定区的IgG型抗体,在一个臂上对抗原A具有结合特异性,且在另一个臂上对抗原B具有结合特异性)的方法。通常,IgG型双特异性抗体由两种类型的H链(即对抗原A的H链和对抗原B的H链)和两种类型的L链(即对抗原A的L链和对抗原B的L链)组成。当表达此类IgG型双特异性抗体时,由于表达了两种类型的H链和两种类型的L链,作为H2L2的组合,十种类型的组合是可能的。在这些中,有一种类型的组合具有所需的结合特异性(在一个臂上具有对抗原A的结合特异性,且在另一个臂上具有对抗原B的结合特异性的IgG)。因此,为了获取所需的双特异性抗体,有必要从十种类型的抗体中纯化一种类型的目标抗体,这效率极低且困难。

[0009] 已经报道了用于解决该方法的方法,所述方法涉及通过在IgG H链的CH3区中取代氨基酸来优先分泌具有针对抗原A的H链和针对抗原B的H链的异源组合的IgG(专利文献6、7、8和9,以及非专利文件13和14)。在这些方法中,已经报道了使用以“杵(knob)”和“臼(hole)”的形式的物理障碍的方法,以及使用电荷排斥的那些方法。

[0010] 还已经报道了用于有效地获得所需分子的方法,所述方法使用共同的L链,其中对抗原A的L链和对抗原B的L链存在于同一氨基酸序列上(专利文献10和11)。然而,由于使用共同的L链有大大降低抗原亲和力的可能,因此这不一定是最佳方法。因此,为了双特异性抗体以高亲和力结合至两种抗原,优选仅针对抗原A的L链和H链缔合,以及仅针对抗原B的L链和H链缔合。此外,已经报道了允许针对每种抗原的H链和L链与可变区无关地缔合的方法,该方法包括在恒定区CH1和CL结构域中,而不是在可变区中取代氨基酸(专利文献7、12和13)。然而,该方法对于有效地产生目标双特异性抗体还有许多待改进之处。

[0011] [引用列表]

[0012] [专利文献]

[0013] [专利文献1]W0 2005/035754

[0014] [专利文献2]W0 2005/035756

[0015] [专利文献3]W0 2006/109592

[0016] [专利文献4]W0 2012/067176

- [0017] [专利文献5]WO 2017/110980
- [0018] [专利文献6]WO 1996/027011
- [0019] [专利文献7]WO 2006/106905
- [0020] [专利文献8]WO 2009/089004
- [0021] [专利文献9]WO 2010/129304
- [0022] [专利文献10]WO 98/050431
- [0023] [专利文献11]WO 2006/109592
- [0024] [专利文献12]WO 2007/147901
- [0025] [专利文献13]WO 2013/065708
- [0026] [非专利文献]
- [0027] [非专利文献1]Blood 58,1-13(1981)
- [0028] [非专利文献2]Nature 312,330-337(1984)
- [0029] [非专利文献3]Nature 312,337-342(1984)
- [0030] [非专利文献4]Biochim.Biophys.Acta 871,268-278(1986)
- [0031] [非专利文献5]Nat Med.2012 Oct;18(10):1570-4.
- [0032] [非专利文献6]PLoS One.2013;8(2):e57479.
- [0033] [非专利文献7]MAbs.2015;7(1):120-8.
- [0034] [非专利文献8]J Thromb Haemost.2014 Feb;12(2):206-213.
- [0035] [非专利文献9]Blood.2014Nov 13;124(20):3165-71.
- [0036] [非专利文献10]Blood.2016,Vol.127,13
- [0037] [非专利文献11]New Eng J Med 2016,374;21,2044-2053
- [0038] [非专利文献12]Self/Nonself Volume 1,2010-Issue 4
- [0039] [非专利文献13]Protein Engineering.1996,Vol.9:617-621
- [0040] [非专利文献14]Nature Biotechnology.1998,Vol.16:677-681
- [0041] 发明概述
- [0042] [本发明要解决的问题]
- [0043] 鉴于上述情况实现了本发明。本发明的目的是提供具有凝血因子VIII (FVIII) 辅因子功能替代活性的多特异性抗原结合分子及含有作为活性成分的所述分子的药物制剂。
- [0044] 此外,鉴于上述情况实现了本发明。本发明的另一目的是提供其中重链和轻链之间的缔合受到调节的抗体,其中重链和轻链之间的缔合受到调节的抗体的产生方法,以及用于控制抗体的重链和轻链之间的缔合的方法。
- [0045] [解决问题的手段]
- [0046] 为了获得具有高比活性和最大FVIII辅因子功能替代活性的双特异性抗体,本发明人从人抗体文库获得了具有不同于ACE910(艾美赛珠单抗)的序列的新型轻链,其具有FVIII辅因子功能替代活性,并制备了双特异性抗体,其中已在轻链和ACE910(艾美赛珠单抗)重链的多个位点引入了氨基酸取代。然后,他们发现凝血因子IX (FIX) 活化抑制活性随FVIII辅因子功能替代活性的增加而增加。
- [0047] 作为专门研究的结果,本发明人成功地发现了双特异性抗体,其FIX活化抑制活性不升高并且其FVIII辅因子功能替代活性升高。

[0048] 此外,本发明人选择重链恒定区CH1和轻链恒定区(CL)作为要进行缔合调节的重链和轻链区,并且对CH1和CL之间的缔合的调节进行了专门研究。结果,本发明人成功地发现,通过用彼此静电排斥的氨基酸残基取代存在于CH1和CL之间界面的特定氨基酸残基,可以抑制不希望的CH1和CL缔合,并且与通过使用仅向CH3中引入杵和臼的上述修饰相比,可以更有效地形成异源分子。

[0049] 本发明基于这些发现,并具体提供以下[1]至[25]内容:

[0050] [1]具有替代凝血因子VIII的功能的多特异性抗原结合分子,其中所述分子包含与凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX结合的第一抗原结合位点,以及与凝血因子X结合的第二抗原结合位点,

[0051] 其中所述第一抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,

[0052] 其中所述重链可变结构域(Q499)包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,且

[0053] 所述轻链可变结构域(QNK131)包括包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的HVR-L3,且

[0054] 其中所述第二抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,

[0055] 其中所述重链可变结构域(J327)包括包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H3,且

[0056] 所述轻链可变结构域(JNL095)包括包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的HVR-L3;

[0057] 其中在至少一个HVR中,一个或多个氨基酸残基被其他氨基酸取代,缺失或插入;

[0058] [2][1]所述的多特异性抗原结合分子,其中:

[0059] 在所述第一抗原结合位点的重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置31、34、97、98、100、100a、100b和100e处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或缺失,

[0060] 在所述第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置26、27、30、31、32、53、55、92、93、95和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或插入,

[0061] 在所述第二抗原结合位点的重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置31、51、56、57、59、61、62、65和102处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代,

[0062] 在所述第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置24、26、27、29、30、31、32、50、92、94、95、95a和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被取代或缺失;

[0063] [3][1]或[2]所述的多特异性抗原结合分子,其中:

[0064] 在所述第一抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基为组氨酸,在位置34处的氨基酸残基为丙氨酸,在位置97处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置98处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置100处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸,在位置100a处的氨基酸残基为天冬氨酸或缺失,在位置100b处的氨基酸残基为丙氨酸或组氨酸,或在位置100e处的氨基酸残基为组氨酸或异亮氨酸,所述位置根据Kabat编号;

[0065] 在所述第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置26处的氨基酸残基为苏氨酸,在位置27处的氨基酸残基为精氨酸,在位置30处的氨基酸残基为精氨酸,在位置31处的氨基酸残基为精氨酸,在位置32处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸,在位置53处的氨基酸残基为精氨酸,在位置55处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置92处的氨基酸残基为精氨酸,在位置93处的氨基酸残基为丝氨酸或天冬氨酸,在位置95处的氨基酸残基为脯氨酸,或在位置96处的氨基酸残基为甘氨酸,所述位置根据Kabat编号;

[0066] 在所述第二抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基为天冬酰胺、谷氨酰胺或组氨酸,在位置51处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置56处的氨基酸残基为苏氨酸或精氨酸,在位置57处的氨基酸残基为缬氨酸,在位置59处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置61处的氨基酸残基为精氨酸,在位置62处的氨基酸残基为赖氨酸,在位置65处的氨基酸残基为天冬酰胺或谷氨酰胺,或在位置102处的氨基酸残基为缬氨酸,所述位置根据Kabat编号;且

[0067] 在所述第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置24处的氨基酸残基为苏氨酸,在位置26处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置27处的氨基酸残基为谷氨酰胺,在位置29处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置30处的氨基酸残基为谷氨酰胺、丝氨酸或谷氨酸,在位置31处的氨基酸残基为精氨酸,在位置32处的氨基酸残基为谷氨酰胺或谷氨酸,在位置50处的氨基酸残基为谷氨酰胺,在位置92处的氨基酸残基为丙氨酸,在位置94处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置95处的氨基酸残基为天冬氨酸或丙氨酸,在位置95a处的氨基酸残基为酪氨酸或缺失,或在位置96处的氨基酸残基为苏氨酸,所述位置根据Kabat编号;

[0068] [4][1]至[3]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,其中所述第一抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包括:

[0069] 1) 包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:170的氨基酸序列的HVR-H3(QH01);;

[0070] 2) 包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的HVR-H3(QH02);;

[0071] 3) 包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的HVR-H3(QH03);

[0072] 4) 包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列的HVR-H3(QH04);

[0073] 5) 包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的HVR-H3(QH06);或

[0074] 6) 包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的HVR-H3(QH07);且

[0075] 所述轻链可变结构域包括:

- [0076] 1) 包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的HVR-L3 (QL21);
- [0077] 2) 包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:191的氨基酸序列的HVR-L3 (QL22);
- [0078] 3) 包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HVR-L3 (QL23);
- [0079] 4) 包含SEQ ID NO:195的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:197的氨基酸序列的HVR-L3 (QL24);
- [0080] 5) 包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的HVR-L3 (QL25);
- [0081] 6) 包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的HVR-L3 (QL26);
- [0082] 7) 包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:206的氨基酸序列的HVR-L3 (QL28);
- [0083] 8) 包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列的HVR-L3 (QL29);
- [0084] 9) 包含SEQ ID NO:210的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:212的氨基酸序列的HVR-L3 (QL30);
- [0085] 10) 包含SEQ ID NO:213的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:214的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:215的氨基酸序列的HVR-L3 (QL31);
- [0086] 11) 包含SEQ ID NO:216的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的HVR-L3 (QL32);或
- [0087] 12) 包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的HVR-L3 (QL33),且
- [0088] 其中所述第二抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,其中所述重链可变结构域包括:
- [0089] 1) 包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:223的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:224的氨基酸序列的HVR-H3 (JH01);
- [0090] 2) 包含SEQ ID NO:225的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:226的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:227的氨基酸序列的HVR-H3 (JH02);
- [0091] 3) 包含SEQ ID NO:228的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:229的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:230的氨基酸序列的HVR-H3 (JH03);
- [0092] 4) 包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HVR-H3 (JH04);
- [0093] 5) 包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的HVR-H3 (JH05);
- [0094] 6) 包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:238的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列的HVR-H3 (JH06);
- [0095] 7) 包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列

的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HVR-H3 (JH07);

[0096] 8) 包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的HVR-H3 (JH08);

[0097] 9) 包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:247的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:248的氨基酸序列的HVR-H3 (JH09);

[0098] 10) 包含SEQ ID NO:249的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:250的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:251的氨基酸序列的HVR-H3 (JH10);或

[0099] 11) 包含SEQ ID NO:252的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:253的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:254的氨基酸序列的HVR-H3 (JH11),且

[0100] 所述轻链可变结构域包括:

[0101] 1) 包含SEQ ID NO:255的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:256的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:257的氨基酸序列的HVR-L3 (JL01);

[0102] 2) 包含SEQ ID NO:258的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:259的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:260的氨基酸序列的HVR-L3 (JL02);

[0103] 3) 包含SEQ ID NO:261的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:262的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:263的氨基酸序列的HVR-L3 (JL03);

[0104] 4) 包含SEQ ID NO:264的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:265的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:266的氨基酸序列的HVR-L3 (JL04);

[0105] 5) 包含SEQ ID NO:267的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:268的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:269的氨基酸序列的HVR-L3 (JL05);

[0106] 6) 包含SEQ ID NO:270的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:271的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:272的氨基酸序列的HVR-L3 (JL06);

[0107] 7) 包含SEQ ID NO:273的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:274的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:275的氨基酸序列的HVR-L3 (JL07);

[0108] 8) 包含SEQ ID NO:276的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:277的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:278的氨基酸序列的HVR-L3 (JL08);

[0109] 9) 包含SEQ ID NO:279的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:280的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:281的氨基酸序列的HVR-L3 (JL09);

[0110] 10) 包含SEQ ID NO:282的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:283的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:284的氨基酸序列的HVR-L3 (JL10);或

[0111] 11) 包含SEQ ID NO:285的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:286的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列的HVR-L3 (JL11);

[0112] [5][1]所述的多特异性抗原结合分子,其中所述第一抗原结合位点包含SEQ ID NO:45(Q499)的重链可变结构域和SEQ ID NO:13(QNK131)的轻链可变结构域,且所述第二抗原结合位点包含SEQ ID NO:46(J327)的重链可变结构域和SEQ ID NO:31(JNL095)的轻链可变结构域,

[0113] 其中在至少一个重链可变结构域或轻链可变结构域中,一个或更多个氨基酸残基被其他氨基酸取代,缺失或插入;

[0114] [6][5]所述的多特异性抗原结合分子,其中:

[0115] 在所述第一抗原结合位点的重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置31、34、39、97、98、100、100a、100b和100e处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或缺失,

[0116] 在所述第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置26、27、30、31、32、38、45、53、55、60、70、76、79、80、83、85、92、93、95和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或插入,

[0117] 在所述第二抗原结合位点的重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置28、31、39、51、56、57、59、61、62、65、67、73、82b和102处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代,且

[0118] 在所述第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置3、8、15、24、26、27、29、30、31、32、38、48、49、50、79、92、94、95、95a和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或缺失;

[0119] [7][5]或[6]所述的多特异性抗原结合分子,其中:

[0120] 在所述第一抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基为组氨酸,在位置34处的氨基酸残基为丙氨酸,在位置39处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置97处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置98处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置100处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸,在位置100a处的氨基酸残基为天冬氨酸或缺失,在位置100b处的氨基酸残基为丙氨酸或组氨酸,或在位置100e处的氨基酸残基为组氨酸或异亮氨酸,所述位置根据Kabat编号,

[0121] 在所述第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置26处的氨基酸残基为苏氨酸,在位置27处的氨基酸残基为精氨酸,在位置30处的氨基酸残基为精氨酸,在位置31处的氨基酸残基为精氨酸,在位置32处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸,在位置38处的氨基酸残基为赖氨酸,在位置45处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置53处的氨基酸残基为精氨酸,在位置55处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置60处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置70处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置76处的氨基酸残基为天冬酰胺,在位置79处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置80处的氨基酸残基为脯氨酸或丙氨酸,在位置83处的氨基酸残基为甲硫氨酸或丙氨酸,在位置85处的氨基酸残基为苏氨酸,在位置92处的氨基酸残基为精氨酸,在位置93处的氨基酸残基为丝氨酸或天冬氨酸,在位置95处的氨基酸残基为脯氨酸,或在位置96处的氨基酸残基为甘氨酸,所述位置根据Kabat编号,

[0122] 在所述第二抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置28处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置31处的氨基酸残基为天冬酰胺,谷氨酰胺或组氨酸,在位置39处的氨基酸残基为赖氨酸,在位置51处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置56处的氨基酸残基为苏氨酸或精氨酸,在位置57处的氨基酸残基为缬氨酸,在位置59处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置61处的氨基酸残基为精氨酸,在位置62处的氨基酸残基为赖氨酸,在位置65处的氨基酸残基为天冬酰胺或谷氨酰胺,在位置67处的氨基酸残基为亮氨酸,在位置73处的氨基酸残基为异亮氨酸,在位置82b处的氨基酸残基为谷氨酸,或在位置102处的氨基酸残基为缬氨酸,所述位置根据Kabat编号,且

[0123] 在所述第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置3处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置8处的氨基酸残基为脯氨酸,在位置15处的氨基酸残基为亮氨酸,在位置24处的

氨基酸残基为苏氨酸,在位置26处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置27处的氨基酸残基为谷氨酰胺,在位置29处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置30处的氨基酸残基为谷氨酰胺,丝氨酸或谷氨酸,在位置31处的氨基酸残基为精氨酸,在位置32处的氨基酸残基为谷氨酰胺或谷氨酸,在位置38处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置48处的氨基酸残基为异亮氨酸,在位置49处的氨基酸残基为酪氨酸,在位置50处的氨基酸残基为谷氨酰胺,在位置79处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置92处的氨基酸残基为丙氨酸,在位置94处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置95处的氨基酸残基为天冬氨酸或丙氨酸,在位置95a处的氨基酸残基为酪氨酸或缺失,或在位置96处的氨基酸残基为苏氨酸,所述位置根据Kabat编号;

[0124] [8][1]至[7]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,其中

[0125] 所述第一抗原结合位点包括:

[0126] 重链可变结构域(QH),其包含SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、或SEQ ID NO:60的氨基酸序列,以及轻链可变结构域(QL),其包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71或SEQ ID NO:72的氨基酸序列;以及

[0127] 所述第二抗原结合位点包括:

[0128] 重链可变结构域(JH),其包含SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82或SEQ ID NO:83的氨基酸序列,以及

[0129] 轻链可变结构域(JL),其包含SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93或SEQ ID NO:94的氨基酸序列;

[0130] [9][1]至[8]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,其中所述第一抗原结合位点包括包含以下(1)或(2)中阐述的氨基酸序列的恒定区,且所述第二抗原结合位点包括包含以下(1)或(2)中阐述的氨基酸序列的恒定区,所述恒定区与第一抗原结合位点所包括的恒定区不同:

[0131] (1)作为重链恒定区的SEQ ID NO:119和作为轻链恒定区的SEQ ID NO:100;

[0132] (2)作为重链恒定区的SEQ ID NO:118和作为轻链恒定区的SEQ ID NO:102;

[0133] [10][1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,其为多特异性抗体或双特异性抗体;

[0134] [11]双特异性抗体,其包含与凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX结合的第一抗体重链和第一抗体轻链,以及与凝血因子X结合的第二抗体重链和第二抗体轻链,其中所述双特异性抗体为以下(a)至(v)中的任一种:

[0135] (a)双特异性抗体(QH01/QL21//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0136] (b)双特异性抗体(QH02/QL22//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:

138的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0137] (c) 双特异性抗体(QH03/QL23//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0138] (d) 双特异性抗体(QH03/QL24//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0139] (e) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH03/JL03),其包括包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0140] (f) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH04/JL04),其包括包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0141] (g) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0142] (h) 双特异性抗体(QH04/QL25//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0143] (i) 双特异性抗体(QH04/QL26//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0144] (j) 双特异性抗体(QH04/QL26//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0145] (k) 双特异性抗体(QH04/QL28//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0146] (l) 双特异性抗体(QH04/QL28//JH06/JL06),其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸

序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0147] (m) 双特异性抗体(QH04/QL29//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0148] (n) 双特异性抗体(QH04/QL29//JH06/JL06),其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0149] (o) 双特异性抗体(QH06/QL30//JH07/JL07),其包括包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0150] (p) 双特异性抗体(QH04/QL31//JH08/JL08),其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0151] (q) 双特异性抗体(QH06/QL32//JH07/JL07),其包括包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0152] (r) 双特异性抗体(QH06/QL32//JH09/JL09),其包括包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0153] (s) 双特异性抗体(QH06/QL30//JH10/JL10),其包括包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0154] (t) 双特异性抗体(QH07/QL33//JH11/JL11),其包括包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的第一抗体重链,包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的第一抗体轻链,包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的第二抗体重链,以及包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0155] (u) 双特异性抗体,其结合与由(a)至(t)中的任一种抗体识别的凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX的表位和凝血因子X的表位相同的表位;

[0156] (v) 双特异性抗体,其竞争结合由(a)至(t)中的任一种抗体识别的凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX的表位和凝血因子X的表位;

[0157] [12]抗原结合分子,其中重链和轻链之间的缔合受到调节,其中所述抗原结合分子的重链和轻链中的选自由以下(a)至(c)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一组或两组或更多组的氨基酸残基是彼此静电排斥的氨基酸残基:

[0158] (a)在重链恒定区(CH1)中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在轻链恒定区(CL)中根据Kabat编号在位置180处的氨基酸残基,

[0159] (b)在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131处的氨基酸残基,

[0160] (c)在CH1中根据EU编号在位置147和175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131和180处的氨基酸残基;

[0161] [13][12]所述的抗原结合分子,其中在重链可变区和轻链可变区之间形成界面的另外两个或更多个氨基酸残基是彼此静电排斥的氨基酸残基;

[0162] [14][13]所述的抗原结合分子,其中所述彼此静电排斥的氨基酸残基是选自由以下(a)或(b)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一或两组氨基酸残基:

[0163] (a)在重链可变区中根据Kabat编号在位置39处的氨基酸残基,以及在轻链可变区中根据Kabat编号在位置38处的氨基酸残基,

[0164] (b)在重链可变区中根据Kabat编号在位置45处的氨基酸残基,以及在轻链可变区中根据Kabat编号在位置44处的氨基酸残基;

[0165] [15][12]至[14]中任一项所述的抗原结合分子,其中所述彼此静电排斥的氨基酸残基是选自以下(X)或(Y)中的一组中包括的氨基酸残基:

[0166] (X)谷氨酸(E),天冬氨酸(D),

[0167] (Y)赖氨酸(K),精氨酸(R),组氨酸(H);

[0168] [16][12]至[15]中任一项所述的抗原结合分子,其为双特异性抗体;

[0169] [17]重链和轻链之间的缔合受到调节的抗原结合分子的产生方法,其中所述方法包括以下步骤(1)至(3):

[0170] (1)修饰编码重链恒定区(CH1)和轻链恒定区(CL)的核酸,使得选自由以下(a)至(c)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一组或两组或更多组的氨基酸残基彼此静电排斥:

[0171] (a)在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置180处的氨基酸残基,

[0172] (b)在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131处的氨基酸残基,

[0173] (c)在CH1中根据EU编号在位置147和175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131和180处的氨基酸残基;

[0174] (2)将修饰的核酸引入宿主细胞,并培养宿主细胞使得表达核酸;

[0175] (3)从宿主细胞的培养物中收集抗原结合分子;

[0176] [18]调节抗原结合分子中的重链和轻链之间的缔合的方法,其中所述方法包括修饰核酸,使得选自由以下(a)至(c)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一组或两组或更多组的氨基酸残基是彼此静电排斥的氨基酸残基:

[0177] (a)在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在

位置180处的氨基酸残基,

[0178] (b) 在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131处的氨基酸残基,

[0179] (c) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131和180处的氨基酸残基;

[0180] [19]分离的核酸,其编码[1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,[10]、[11]或[16]所述的双特异性抗体,或[12]至[15]中任一项所述的抗原结合分子;

[0181] [20]包含[19]所述的核酸的宿主细胞;

[0182] [21]产生多特异性抗原结合分子、多特异性抗体、双特异性抗体或抗原结合分子的方法,其中所述方法包括培养[20]所述的宿主细胞,使得产生多特异性抗原结合分子、多特异性抗体、双特异性抗体或抗原结合分子;

[0183] [22]药物制剂,其包含[1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,[10]、[11]或[16]所述的双特异性抗体,或[12]至[15]中任一项所述的抗原结合分子,以及药学上可接受的载体;

[0184] [23] [22]所述的药物制剂,其用于预防和/或治疗出血,涉及出血的疾病,或由出血引起的疾病;

[0185] [24] [23]所述的药物制剂,其中所述出血,涉及出血的疾病或由出血引起的疾病是由于凝血因子VIII和/或活化的凝血因子VIII的活性的降低或缺乏而形成和/或进展的疾病;

[0186] [25] [24]所述的药物制剂,其中由于凝血因子VIII和/或活化的凝血因子VIII的活性的降低或缺乏而形成和/或进展的疾病是血友病A,出现针对凝血因子VIII和/或活化的凝血因子VIII的抑制剂的疾病,获得性血友病,或血管性血友病(von Willebrand disease)。

[0187] 此外,本发明涉及以下内容:

[0188] [26] [1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,[10]、[11]或[16]所述的双特异性抗体,或[12]至[15]中任一项所述的抗原结合分子,其用作药物;

[0189] [27] [1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,或[10]或[11]所述的双特异性抗体,其用于预防和/或治疗出血,涉及出血的疾病,或由出血引起的疾病;

[0190] [28] [1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,或[10]或[11]所述的双特异性抗体,其用于替代FVIII的辅因子功能;

[0191] [29] [1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,或[10]或[11]所述的双特异性抗体,在制备用于治疗出血,涉及出血的疾病,或由出血引起的疾病的药物中的用途;

[0192] [30] [1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,或[10]或[11]所述的双特异性抗体,在制备用于替代FVIII的辅因子功能的药物中的用途;

[0193] [31]治疗具有出血、涉及出血的疾病或由出血引起的疾病的个体的方法,其中所述方法包括向所述个体施用有效量的[1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,或[10]或[11]所述的双特异性抗体;和

[0194] [32]在个体中替代FVIII的辅因子功能的方法,其中所述方法包括步骤:向个体施用有效量的[1]至[9]中任一项所述的多特异性抗原结合分子,[10]所述的多特异性抗体,或[10]或[11]所述的双特异性抗体用于替代FVIII的辅因子功能。

[0195] 此外,本发明涉及以下内容:

[0196] [33][17]所述的抗原结合分子的产生方法,其包括在步骤(1)中,修饰核酸的步骤,使得所述彼此静电排斥的氨基酸残基是选自以下(X)或(Y)中的任一群组中包括的氨基酸残基:

[0197] (X) 谷氨酸(E)和天冬氨酸(D);和

[0198] (Y) 赖氨酸(K),精氨酸(R),和组氨酸(H);

[0199] [34][17]或[33]所述的抗原结合分子的产生方法,其进一步包括在步骤(1)中,修饰核酸的步骤,使得在重链可变区和轻链可变区之间形成界面的两个或更多个氨基酸残基是彼此静电排斥的氨基酸残基;

[0200] [35][34]的抗原结合分子的产生方法,其中所述彼此静电排斥的氨基酸残基是选自由以下(a)或(b)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的任意一组氨基酸残基:

[0201] (a) 在重链可变区中根据Kabat编号在位置39处的氨基酸残基,以及在轻链可变区中根据Kabat编号在位置38处的氨基酸残基;和

[0202] (b) 在重链可变区中根据Kabat编号在位置45处的氨基酸残基,以及在轻链可变区中根据Kabat编号在位置44处的氨基酸残基;

[0203] [36][34]或[35]的抗原结合分子的产生方法,其中所述彼此静电排斥的氨基酸残基是选自以下(X)或(Y)中的一组中包括的氨基酸残基:

[0204] (X) 谷氨酸(E)和天冬氨酸(D);和

[0205] (Y) 赖氨酸(K),精氨酸(R),和组氨酸(H);

[0206] [37][18]的方法,其中所述彼此静电排斥的氨基酸残基是选自以下(X)或(Y)中的一组中包括的氨基酸残基:

[0207] (X) 谷氨酸(E)和天冬氨酸(D);和

[0208] (Y) 赖氨酸(K),精氨酸(R),和组氨酸(H);

[0209] [38][18]或[37]的方法,其中在重链可变区和轻链可变区之间形成界面的另外两个或更多个氨基酸残基是彼此静电排斥的氨基酸残基;

[0210] [39][38]的方法,其中所述彼此静电排斥的氨基酸残基是选自由以下(a)或(b)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的任意一组氨基酸残基:

[0211] (a) 在重链可变区中根据Kabat编号在位置39处的氨基酸残基,以及在轻链可变区中根据Kabat编号在位置38处的氨基酸残基;和

[0212] (b) 在重链可变区中根据Kabat编号在位置45处的氨基酸残基,以及在轻链可变区中根据Kabat编号在位置44处的氨基酸残基;和

[0213] [40][38]或[39]的方法,其中所述彼此静电排斥的氨基酸残基是选自以下(X)或(Y)中的一组中包括的氨基酸残基:

[0214] (X) 谷氨酸(E)和天冬氨酸(D);和

[0215] (Y) 赖氨酸(K),精氨酸(R),和组氨酸(H)。

[0216] 此外,本发明涉及以下内容:

[0217] [41][1]至[7]中任一项的多特异性抗原结合分子,其为以下(a)至(v)中的任一种:

[0218] (a) 多特异性抗原结合分子(QH01/QL21//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0219] (b) 多特异性抗原结合分子(QH02/QL22//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0220] (c) 多特异性抗原结合分子(QH03/QL23//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0221] (d) 多特异性抗原结合分子(QH03/QL24//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0222] (e) 多特异性抗原结合分子(QH02/QL22//JH03/JL03),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0223] (f) 多特异性抗原结合分子(QH02/QL22//JH04/JL04),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0224] (g) 多特异性抗原结合分子(QH02/QL22//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0225] (h) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL25//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0226] (i) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL26//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的第一抗体轻

链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0227] (j) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL26//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0228] (k) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL28//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0229] (l) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL28//JH06/JL06),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0230] (m) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL29//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0231] (n) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL29//JH06/JL06),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0232] (o) 多特异性抗原结合分子(QH06/QL30//JH07/JL07),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0233] (p) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL31//JH08/JL08),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0234] (q) 多特异性抗原结合分子(QH06/QL32//JH07/JL07),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0235] (r) 多特异性抗原结合分子(QH06/QL32//JH09/JL09),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0236] (s) 多特异性抗原结合分子(QH06/QL30//JH10/JL10),其包括包含SEQ ID NO:60

的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0237] (t) 多特异性抗原结合分子(QH07/QL33//JH11/JL11),其包括包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0238] (u) 多特异性抗原结合分子,其结合与由(a)至(t)中的任一种抗体识别的凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX的表位和凝血因子X的表位相同的表位;和

[0239] (v) 多特异性抗原结合分子,其竞争结合由(a)至(t)中的任一种抗体识别的凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX的表位和凝血因子X的表位;和

[0240] [42] 双特异性抗体,其包含与凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX结合的第一抗体重链可变结构域和第一抗体轻链可变结构域,以及与凝血因子X结合的第二抗体重链可变结构域和第二抗体轻链可变结构域,其中所述双特异性抗体为以下(a)至(v)中的任一种:

[0241] (a) 双特异性抗体(QH01/QL21//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0242] (b) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0243] (c) 双特异性抗体(QH03/QL23//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0244] (d) 双特异性抗体(QH03/QL24//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0245] (e) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH03/JL03),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0246] (f) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH04/JL04),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0247] (g) 双特异性抗体 (QH02/QL22//JH02/JL02), 其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0248] (h) 双特异性抗体 (QH04/QL25//JH02/JL02), 其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0249] (i) 双特异性抗体 (QH04/QL26//JH02/JL02), 其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0250] (j) 双特异性抗体 (QH04/QL26//JH05/JL05), 其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0251] (k) 双特异性抗体 (QH04/QL28//JH05/JL05), 其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0252] (l) 双特异性抗体 (QH04/QL28//JH06/JL06), 其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0253] (m) 双特异性抗体 (QH04/QL29//JH05/JL05), 其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0254] (n) 双特异性抗体 (QH04/QL29//JH06/JL06), 其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0255] (o) 双特异性抗体 (QH06/QL30//JH07/JL07), 其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0256] (p) 双特异性抗体 (QH04/QL31//JH08/JL08), 其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:

91的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0257] (q) 双特异性抗体 (QH06/QL32//JH07/JL07), 其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0258] (r) 双特异性抗体 (QH06/QL32//JH09/JL09), 其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0259] (s) 双特异性抗体 (QH06/QL30//JH10/JL10), 其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0260] (t) 双特异性抗体 (QH07/QL33//JH11/JL11), 其包括包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0261] (u) 双特异性抗体, 其结合与由 (a) 至 (t) 中的任一种抗体识别的凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX的表位和凝血因子X的表位相同的表位; 和

[0262] (v) 双特异性抗体, 其竞争结合由 (a) 至 (t) 中的任一种抗体识别的凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX的表位和凝血因子X的表位。

[0263] 附图简述

[0264] 图1显示抗ACE910 (艾美赛珠单抗) 独特型抗体对具有新型L链的双特异性抗体的反应性。

[0265] 图2显示FIX活化抑制活性可能对FX活化的影响。

[0266] 图3显示用FIX活化抑制活性针对FVIII辅因子功能替代活性绘制的图, 所述FVIII辅因子功能替代活性由新型L链修饰和H链修饰引起。

[0267] 图4-1显示在具有H链和L链修饰的组合的双特异性抗体中FVIII辅因子功能替代活性的浓度依赖性。

[0268] 图4-2显示在具有H链和L链修饰的组合的双特异性抗体中FVIII辅因子功能替代活性的浓度依赖性。

[0269] 图5显示在凝血酶生成测定中, 具有H链和L链修饰的组合的双特异性抗体的凝血酶生成的最大量 (峰高)。

[0270] 图6显示制备的双特异性抗体的ECM结合。

[0271] 图7显示制备的双特异性抗体的抗体PK。

[0272] 图8显示可能表达的错配的类型。

[0273] 图9-1显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。

[0274] 图9-2显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。

[0275] 图9-3显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。

- [0276] 图9-4显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0277] 图9-5显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0278] 图9-6显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0279] 图9-7显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0280] 图9-8显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0281] 图9-9显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0282] 图9-10显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0283] 图9-11显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0284] 图9-12显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0285] 图9-13显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0286] 图9-14显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0287] 图9-15显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0288] 图9-16显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0289] 图9-17显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0290] 图9-18显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0291] 图9-19显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0292] 图9-20显示来自制备的双特异性抗体的CIEX分析的数据。
- [0293] 图10显示测定具有新型L链的双特异性抗体的FVIII辅因子功能替代活性的结果。
- [0294] 实施本发明的方式
- [0295] I. 定义:
- [0296] 用于本文目的的“受体人框架”是包含衍生自人免疫球蛋白框架或人共有框架的轻链可变结构域 (VL) 框架或重链可变结构域 (VH) 框架的氨基酸序列的框架, 如下文定义的。“衍生自”人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可包含其相同的氨基酸序列, 或者它可以含有氨基酸序列改变。在一些实施方案中, 氨基酸改变的数量为10或更少、9或更少、8或更少、7或更少、6或更少、5或更少、4或更少、3或更少、或2或更少个。在一些实施方案中, VL受体人框架在序列上与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列相同。
- [0297] “亲和力”指分子(例如, 抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(partner)(例如, 抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明, 否则如本文所用, “结合亲和力”指内在结合亲和力, 其反映结合对的成员(例如, 抗体和抗原)之间的1:1相互作用。分子X对其配偶体Y的亲和力一般可由解离常数(Kd)表示。亲和力可以通过本领域已知的常规方法测定, 包括本文所述的那些。用于测定结合亲和力的具体说明性和示例性实施方案描述如下。
- [0298] “亲和力成熟的”抗体指在一个或更多个高变区(HVR)中具有一个或更多个改变的抗体, 与不具有这种改变的亲本抗体相比, 这种改变导致抗体针对抗原的亲和力提高。
- [0299] 本文所述的多特异性抗原结合分子包含第一抗原结合位点和第二抗原结合位点, 其可以特异性结合至少两种不同类型的抗原。
- [0300] 在一个实施方案中, 所述第一抗原结合位点和所述第二抗原结合位点仅要求具有分别结合凝血因子IX(FIX)和/或活化的凝血因子IX(FIXa), 和凝血因子X(FX)的活性, 且示例包括与抗原结合所必需的位点, 诸如抗体, 支架分子(抗体样分子), 或肽, 或含有这些位

点的片段。支架分子是通过结合至靶分子而表现出功能的分子,且可以使用任何多肽,只要它们是可以结合至至少一种靶抗原的构象稳定的多肽即可。此类多肽的实例包括抗体可变区、纤连蛋白(WO 2002/032925)、蛋白A结构域(WO 1995/001937)、LDL受体A结构域(WO 2004/044011,WO 2005/040229)、锚蛋白(WO 2002/020565),等等,以及Nygren等(*Current Opinion in Structural Biology*,7:463-469(1997);和*Journal of Immunol Methods*,290:3-28(2004)),Binz等(*Nature Biotech* 23:1257-1266(2005)),和Hosse等(*Protein Science* 15:14-27(2006))在文献中描述的分子。此外,如*Curr Opin Mol Ther.*2010Aug;12(4):487-95和*Drugs.*2008;68(7):901-12中所描述的,可以使用能结合至靶抗原的肽分子。

[0301] 本发明中的多肽通常指具有长度约十个氨基酸或更长的蛋白质和肽。多肽通常源自生物体,但不特别限于此,并且例如,它们可以由人工设计的序列组成。它们也可以是任何天然存在的多肽,或合成的多肽,重组多肽,或等等。另外,上述多肽的片段也包括在本发明的多肽中。

[0302] 在一个实施方案中,多特异性抗原结合分子的实例包括可以特异性结合至少两种不同抗原或相同抗原上的两种不同表位的多特异性抗体。

[0303] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是双特异性抗体(BsAb)(它们也可以称为双(dua1)特异性抗体)。

[0304] 本文中,术语“FVIII辅因子功能替代活性”、“FVIII替代活性”,和“替代FVIII的功能的活性”被同义地使用,并且指与FIX和/或FIXa以及FX结合以促进FX的活化(促进活化的凝血因子X(FXa)生成)的活性。

[0305] 在一个实施方案中,具有FVIII辅因子功能替代活性的多特异性抗原结合分子是与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子。

[0306] 在某些实施方案中,具有FVIII辅因子功能替代活性的多特异性抗原结合分子是与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗体。在另一个具体的实施方案中,结合FIX和/或FIXa以及FX的多特异性抗体是结合FIX和/或FIXa以及FX的双特异性抗体。

[0307] 术语“与FIX和/或FIXa以及FX结合的双特异性抗体”指可以以足够的亲和力与FIX和/或FIXa以及FX结合的双特异性抗体,使得所述抗体可用作靶向FIX和/或FIXa以及FX的诊断和/或治疗剂。在一个实施方案中,正如测定(例如通过放射免疫测定法(RIA))的,FIX和/或FIXa结合以及FX结合双特异性抗体与不相关的非FIX蛋白、非FIXa蛋白或非FX蛋白的结合程度小于抗体与FIX和/或FIXa以及FX结合的10%。在某些实施方案中,FIX和/或FIXa结合以及FX结合抗体具有100 $\mu$ M或更小、10 $\mu$ M或更小、1 $\mu$ M或更小、100nM或更小、10nM或更小、1nM或更小、0.1nM或更小、0.01nM或更小、或0.001nM或更小(例如10<sup>-5</sup>M或更小,例如10<sup>-5</sup>M至10<sup>-10</sup>M,例如10<sup>-6</sup>M至10<sup>-10</sup>M)的解离常数(Kd)。在某些实施方案中,与FIX和/或FIXa以及FX结合的双特异性抗体与FIX、FIXa以及FX中的表位结合,所述FIX、FIXa以及FX中的表位在分别来自不同物种的FIX中、在FIXa中以及在FX中是保守的。

[0308] 在本发明中,在某些实施方案中,术语“抗体”与“抗原结合分子”同义地使用。在本发明中,术语“抗体”和“抗原结合分子”以最广义使用,且包括单克隆抗体、多克隆抗体和抗体变体(诸如嵌合抗体、人源化抗体、微抗体(低分子量抗体)(包括可以任意添加其他分子的抗体片段)和多特异性抗体),只要它们表现出所需的抗原结合活性或生物学活性即可。

本发明中的“抗体”或“抗原结合分子”的实例包括其中HAS结合支架已添加至Fab的分子(其中仅Fab部分是正常的抗体)。另外,在本发明中,“抗体”也可以是多肽或异聚(heteromeric)多聚体。优选的抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、Fc融合抗体和微抗体,诸如抗体片段。

[0309] 如本文所用,术语“抗体”指包含抗原结合位点的结合蛋白。如本文所用,术语“结合位点”和“抗原结合位点”指抗原实际结合的抗体分子区。术语“抗原结合位点”包括抗体重链可变结构域(VH)和抗体轻链可变结构域(VL)(VH/VL对)。

[0310] “抗体片段”指不同于完整抗体的分子,其包含完整抗体的部分,所述完整抗体的部分结合完整抗体所结合的抗原。抗体片段的实例包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0311] 作为参照抗体的“与相同表位结合的抗体”指在竞争测定中阻断参照抗体与其抗原结合达50%或更多的抗体,并且反之,参照抗体在竞争测定中阻断抗体与其抗原的结合达50%或更多。本文提供了示例性竞争测定。

[0312] 术语“嵌合”抗体指抗体,其中重链和/或轻链的一部分衍生自特定来源或物种,而重链和/或轻链的其余部分衍生自不同来源或物种。

[0313] 抗体的“类别”指其重链拥有的恒定结构域或恒定区的类型。有五种主要的类别抗体:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且其中的一些可以进一步分为亚类(同种型),例如IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>、IgA<sub>1</sub>和IgA<sub>2</sub>。对应于不同类别免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ 。

[0314] 药剂(例如药物制剂)的“有效量”指在必要的剂量和时间段内有效实现期望治疗或预防结果的量。

[0315] 本文中术语“Fc区”用于定义含有至少一部分恒定区的免疫球蛋白重链的C端区。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个实施方案中,人IgG重链Fc区自Cys226或自Pro230延伸至重链的羧基端。然而,Fc区的C端赖氨酸(Lys447)或甘氨酸-赖氨酸(Gly446-Lys447)可以存在或不存在。除非本文另有规定,否则Fc区或恒定区中氨基酸残基的编号根据EU编号系统,也称为EU索引,如在Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991中所描述。

[0316] “框架”或“FR”是指除高变区(HVR)残基之外的可变结构域残基。可变结构域的FR一般由四个FR结构域组成:FR1、FR2、FR3和FR4。因此,在VH(或VL)中HVR和FR序列一般以下顺序出现:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0317] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文中可互换使用,指具有与天然抗体结构基本类似的结构或具有含有如本文定义的Fc区的重链的抗体。

[0318] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用,且是指已引入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化子”和“转化的细胞”,其包括原代转化的细胞和源自其的后代,不考虑传代次数。后代与其亲本细胞的核酸含量可以不完全相同,而是可以含有突变。本文包括具有与在初始经转化的细胞中筛选或选择的相同功能或生物学活性的突变后代。

[0319] “人抗体”是这样的抗体,其具有对应于由人或人细胞产生的、或源自利用人抗体

库(repertoire)或其它人抗体编码序列的非人源的抗体的氨基酸序列的氨基酸序列。人抗体的此定义明确排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0320] “人共有框架”是代表在人免疫球蛋白VL或VH框架序列的选择中最常出现的氨基酸残基的框架。通常,人免疫球蛋白VL或VH序列的选择来自可变结构域序列的亚组。通常,序列的亚组是如Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,NIH Publication 91-3242,Bethesda MD(1991),vols.1-3中的亚组。在一个实施方案中,对于VL,所述亚组是如Kabat等,同上所述的亚组κI。在一个实施方案中,对于VH,所述亚组是如Kabat等,同上所述的亚组III。

[0321] “人源化”抗体指包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中,人源化抗体将包含基本上全部的至少一个,且通常两个可变结构域,在其中全部的或基本上全部的HVR(例如,CDR)对应于非人抗体的那些HVR,并且全部的或基本上全部的FR对应于人抗体的那些FR。人源化抗体任选地可包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。抗体(例如非人抗体)的“人源化形式”,是指已经历人源化的抗体。

[0322] 如本文所用的术语“高变区”或“HVR”是指抗体可变结构域的每个区,其在序列上是高变的(“互补决定区”或“CDR”)和/或形成结构上定义的环(“高变环”)和/或含有抗原接触残基(“抗原接触”)。通常,抗体包含六个HVR:三个在VH中(H1、H2、H3),和三个在VL中(L1、L2、L3)。本文示例性的HVR包括:

[0323] (a) 存在于氨基酸残基26-32(L1)、50-52(L2)、91-96(L3)、26-32(H1)、53-55(H2)和96-101(H3)处的高变环(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987));

[0324] (b) 存在于氨基酸残基24-34(L1)、50-56(L2)、89-97(L3)、31-35b(H1)、50-65(H2)和95-102(H3)处的CDR(Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991));

[0325] (c) 存在于氨基酸残基27c-36(L1)、46-55(L2)、89-96(L3)、30-35b(H1)、47-58(H2)和93-101(H3)处的抗原接触(MacCallum等,J.Mol.Biol.262:732-745(1996));和

[0326] (d) (a)、(b)和/或(c)的组合,包括HVR氨基酸残基46-56(L2)、47-56(L2)、48-56(L2)、49-56(L2)、26-35(H1)、26-35b(H1)、49-65(H2)、93-102(H3)和94-102(H3)。

[0327] 除非另有说明,可变结构域中的HVR残基和其他残基(例如FR残基)在本文中根据的Kabat等同上所述编号。

[0328] “免疫缀合物”是与一种或更多种异源分子(包括但不限于细胞毒素剂)缀合的抗体。

[0329] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯化动物(例如牛、绵羊、猫、狗和马),灵长类动物(例如人和诸如猴的非人灵长类动物),兔和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。在某些实施方案中,个体或受试者是人。

[0330] “分离的”抗体是已经从其天然环境的组分分离的抗体。在一些实施方案中,抗体被纯化至大于95%或99%的纯度,如由例如电泳(例如,SDS-PAGE、等电聚焦(IEF)、毛细管电泳)或层析(例如,离子交换或反相HPLC)确定的。关于用于评估抗体纯度的方法的综述,参见例如Flatman等,J.Chromatogr.B 848:79-87(2007)。

[0331] “分离的”核酸是指已经从其天然环境的组分分离的核酸分子。分离的核酸包括细

胞中含有的核酸分子,所述细胞通常含有所述核酸分子,但该核酸分子存在于染色体外或存在于与其天然染色体位置不同的染色体位置。

[0332] “编码与FIX和/或FIXa以及FX结合的双特异性抗体的分离的核酸”是指编码抗体重链和轻链(或其片段)的一种或更多种核酸分子,包括在单一载体或单独的载体中的此类核酸分子,以及存在于宿主细胞中的一个或多个位置的此类核酸分子。

[0333] 如本文所用的术语“单克隆抗体”指获自基本上同源的抗体的群体的抗体,即,组成所述群体的个体抗体是相同的和/或结合相同的表位,除可能的变体抗体外,例如,含有天然存在的突变或在单克隆抗体制剂的过程中产生,此类变体通常少量存在。对比于多克隆抗体制剂(通常包括针对不同的决定簇(表位)的不同抗体),单克隆抗体制剂中的各单克隆抗体是针对抗原上的单个决定簇。因此,修饰语“单克隆”表明抗体的特征为获自基本上均一的抗体群体,并且不被解释为要求通过任何特定的方法产生所述抗体。例如,依照本发明使用的单克隆抗体可以通过多种技术制备,包括但不限于杂交瘤方法、重组DNA法、噬菌体展示法,以及利用含有所有或部分的人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法,本文中描述了用于制备单克隆抗体的此类方法以及其他示例性方法。

[0334] “天然抗体”是指具有不同结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如,天然IgG抗体是约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白,由二硫键结合的两条相同的轻链和两条相同的重链组成。从N-末端到C-末端,每条重链具有可变区(VH),也称为可变重链结构域或重链可变结构域,接着是三个恒定结构域(CH1、CH2和CH3)。类似地,从N-末端到C-末端,每条轻链具有可变区(VL),也称为可变轻链结构域或轻链可变结构域,接着是恒定轻(CL)结构域。抗体的轻链基于其恒定结构域的氨基酸序列可以被分配至两种类型之一,被称为 $\kappa$ ( $\kappa$ )和 $\lambda$ ( $\lambda$ )。

[0335] 术语“包装插页”用于指治疗产品的商业包装中通常包括的说明书,其含有关于涉及此类治疗产品的应用的适应证、用法、剂量、施用、联合疗法、禁忌症和/或警告的信息。

[0336] 相对于参照多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”定义为在比对序列和如果必要,引入空位以实现最大百分比序列同一性,并且不将任何保守取代认为是序列同一性的一部分后,在候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的目的的比对可以以本领域技术范围内的各种方式实现,例如,使用公开可获得的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign(DNASTAR)软件或GENETYX(注册商标)(Genetyx Co., Ltd.)。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适当参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。

[0337] ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech, Inc.编写,并且源代码已经与用户文件一起提交在美国版权局(华盛顿特区,20559),其以美国版权登记号TXU510087注册。ALIGN-2程序可从加利福尼亚南旧金山Genentech, Inc.公开获得,或者可以从源代码编译。应当编译ALIGN-2程序以在UNIX操作系统(包括数字UNIX V4.0D)上使用。所有序列比较参数均由ALIGN-2程序设置,且不变。在使用ALIGN-2进行氨基酸序列比较的情况下,给定氨基酸序列A对、与或针对给定氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性(其可以备选地表示为具有或包含对、与、或针对给定氨基酸序列B一定的%氨基酸序列同一性的给定的氨基酸序列A)如下计算:

[0338] 分数X/Y的100倍

[0339] 其中X是通过序列比对程序ALIGN-2在A和B的程序比对中得分为相同匹配的氨基

酸残基数,且其中Y是B中氨基酸残基的总数。应当理解,当氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度时,A对B的%氨基酸序列同一性将不等于B对A的%氨基酸序列同一性。除非另外具体说明,否则本文使用的所有%氨基酸序列同一性值如前一段中所述的均使用ALIGN-2计算机程序获得。

[0340] 术语“药物制剂”指一种制剂,其以此类形式以允许包含在其中的活性成分的生物活性是有效的,并且其不含对将被施用所述制剂的受试者不可接受的毒性的额外的组分。

[0341] “药学上可接受的载体”是指药物制剂中除活性成分以外的成分,其对受试者是无毒性的。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0342] 除非另有说明,如本文所用,术语“FIX”、“FIXa”和“FX”分别指来自任何脊椎动物来源的任何天然“FIX”、“FIXa”和天然“FX”,所述来源包括哺乳动物,诸如灵长类动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。该术语涵盖“全长”的未加工的“FIX”、“FIXa”和“FX”以及源自细胞中加工的任何形式的“FIX”、“FIXa”和“FX”。该术语还涵盖“FIX”、“FIXa”和“FX”的天然存在的变体,例如剪接变体或等位基因变体(allelic variant)。

[0343] 如本文所用,“治疗(treatment)”(及其语法上的变型诸如“治疗(treat)”或“治疗(treating)”)是指尝试改变受治疗的个体的自然过程的临床干预,并且可以为了预防或在临床病理过程期间进行。治疗的理想效果包括但不限于防止疾病发生或复发、减轻症状、消除疾病的任何直接或间接的病理结果、防止转移、降低疾病进展的速率、改善或减轻疾病状态,以及消除或改善预后。在一些实施方案中,本发明的抗体被用于延迟疾病的发展或用于减缓疾病的进展。

[0344] 术语“可变区”或“可变结构域”指抗体重链或轻链中涉及抗体结合抗原的结构域。天然抗体的重链和轻链可变结构域(分别为VH和VL)一般具有类似的结构,每个结构域包含4个保守的框架区(FR)和3个高变区(HVR)。(参见例如Kindt等,Kuby Immunology,第六版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007)。)。单个VH或VL结构域可以足以赋予抗原结合特异性。此外,可以分别使用来自结合抗原的抗体的VH或VL结构域筛选互补VL或VH结构域的文库来分离结合特定抗原的抗体。参见例如,Portolano等,J. Immunol. 150:880-887(1993); Clarkson等,Nature 352:624-628(1991)。

[0345] 如本文所用,术语“载体”指能够增殖与其连接的另一种核酸的核酸分子。该术语包括作为自我复制的核酸结构的载体以及整合于已将其引入的宿主细胞的基因组中的载体。某些载体能够引导与其可操作连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0346] II. 组成和方法

[0347] 一方面,本发明部分基于具有FVIII辅因子功能替代活性的多特异性抗原结合分子。在某些实施方案中,提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子。本发明的多特异性抗原结合分子可用于例如治疗出血、涉及出血的疾病或由出血引起的疾病。

[0348] A. 与FIX和/或FIXa和FX结合的示例性多特异性抗原结合分子。

[0349] 一方面,本发明提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的分离的多特异性抗原结合分子。在某些实施方案中,所述多特异性抗原结合分子是与FIX和/或FIXa以及FX结合的双特异性抗体,并且此类双特异性抗体具有FVIII辅因子功能替代活性。

[0350] 与FIX和/或FIXa以及FX结合的双特异性抗体ACE910(艾美赛珠单抗)是在专利文

献(WO 2012/067176)中描述并在以下描述的抗体。

[0351] 所述抗体是双特异性抗体,其中第一多肽和第三多肽缔合并且第二多肽和第四多肽缔合,所述双特异性抗体包含第一多肽,其为分别含有SEQ ID NO:1、2和3的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列(Q499的H链CDR)的H链;第二多肽,其为分别含有SEQ ID NO:4、5和6的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3氨基酸序列(J327的H链CDR)的H链;以及第三和第四多肽,其为分别含有SEQ ID NO:7、8和9的HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3氨基酸序列(L404的L链CDR)的共享L链。

[0352] 更具体地,所述抗体是双特异性抗体,其中第一多肽和第三多肽缔合并且第二多肽和第四多肽缔合,所述双特异性抗体包含第一多肽,其为含有SEQ ID NO:45的H链可变区氨基酸序列的H链;第二多肽,其为含有SEQ ID NO:46的H链可变区氨基酸序列的H链;以及第三和第四多肽,其为含有SEQ ID NO:47的L链可变区氨基酸序列的共享L链。

[0353] 更具体地,所述抗体是双特异性抗体,其中第一多肽和第三多肽缔合并且第二多肽和第四多肽缔合,所述双特异性抗体包含第一多肽,其为由SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成的H链;第二多肽,其为由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成的H链;以及第三和第四多肽,其为由SEQ ID NO:12的氨基酸序列组成的共享L链(Q499-z121/J327-z119/L404-k)。

[0354] 本发明的多特异性抗原结合分子是具有替代FVIII的功能的多特异性抗原结合分子,其中所述分子包含与FIX和/或FIXa结合的第一抗原结合位点,以及与FX结合的第二抗原结合位点,

[0355] 其中所述第一抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,

[0356] 其中所述重链可变结构域(Q499)包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,且

[0357] 所述轻链可变结构域(QNK131)包括包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的HVR-L3,且

[0358] 其中所述第二抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,

[0359] 其中所述重链可变结构域(J327)包括包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H3,且

[0360] 所述轻链可变结构域(JNL095)包括包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的HVR-L3;

[0361] 其中在至少一个HVR中,一个或更多个氨基酸残基被其他氨基酸取代,缺失或插入。

[0362] 在某些实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子是具有替代FVIII的功能的多特异性抗原结合分子。

[0363] 此外,在其他实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子是与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,与抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体具有降低的反应性的多特异性抗原结合分子。在本文中,短语“与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,与抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特

型抗体具有降低的反应性”是指当抗独特型抗体和标记的ACE910之间的结合强度(%)使用实施例1中所述的方法测定时,且如果待测定的抗体的浓度是100 $\mu$ g/mL时,则结合强度优选降低10%或更多,更优选降低20%或更多,并且仍更优选降低30%或更多。

[0364] 此外,在其他实施方案中,所述多特异性抗原结合分子是与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,即使在低抗体浓度下也具有增强的FVIII辅因子功能替代活性和更高活性的多特异性抗原结合分子。

[0365] 在其他实施方案中,与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,所述多特异性抗原结合分子基本上不具有FIX活化抑制活性,并且具有增加的FVIII辅因子功能替代活性。在本文中,“基本上不具有FIX活化抑制活性”是指使用实施例中所示的方法测定OD值时,与对照OD值相比,OD值的降低为0.025或更小,优选0.02或更小,且更优选0.01或更小。

[0366] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第一抗原结合位点的重链可变结构域是第一抗原结合位点的重链可变结构域,其中在第一抗原结合位点的重链可变结构域中,根据Kabat编号选自在位置31、34、97、98、100、100a、100b和100e处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一氨基酸取代或缺失。

[0367] 在一个实施方案中,本发明的第一抗原结合位点的轻链可变结构域是第一抗原结合位点的轻链可变结构域,其中在第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,根据Kabat编号选自在位置26、27、30、31、32、53、55、92、93、95和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一氨基酸取代或插入。

[0368] 在一个实施方案中,本发明的第二抗原结合位点的重链可变结构域是第二抗原结合位点的重链可变结构域,其中在第二抗原结合位点的重链可变结构域中,根据Kabat编号选自在位置31、51、56、57、59、61、62、65和102处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一氨基酸取代。

[0369] 在一个实施方案中,本发明的第二抗原结合位点的轻链可变结构域是第二抗原结合位点的轻链可变结构域,其中在第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,根据Kabat编号选自在位置24、26、27、29、30、31、32、50、92、94、95、95a和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一氨基酸取代或缺失。

[0370] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子是多特异性抗原结合分子,其中:

[0371] 在所述第一抗原结合位点的重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置31、34、97、98、100、100a、100b和100e处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或缺失,

[0372] 在所述第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置26、27、30、31、32、53、55、92、93、95和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或插入,

[0373] 在所述第二抗原结合位点的重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置31、51、56、57、59、61、62、65和102处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代,且

[0374] 在所述第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置24、26、27、29、30、31、32、50、92、94、95、95a和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另

一个氨基酸取代或缺失。

[0375] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第一抗原结合位点的重链可变结构域是所述第一抗原结合位点的重链可变结构域,其中:

[0376] 在所述第一抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基为组氨酸,在位置34处的氨基酸残基为丙氨酸,在位置97处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置98处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置100处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸,在位置100a处的氨基酸残基为天冬氨酸或缺失,在位置100b处的氨基酸残基为丙氨酸或组氨酸,或在位置100e处的氨基酸残基为组氨酸或异亮氨酸,所述位置根据Kabat编号。

[0377] 在一个实施方案中,本发明的第一抗原结合位点的轻链可变结构域是所述第一抗原结合位点的轻链可变结构域,其中:

[0378] 在所述第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置26处的氨基酸残基为苏氨酸,在位置27处的氨基酸残基为精氨酸,在位置30处的氨基酸残基为精氨酸,在位置31处的氨基酸残基为精氨酸,在位置32处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸,在位置53处的氨基酸残基为精氨酸,在位置55处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置92处的氨基酸残基为精氨酸,在位置93处的氨基酸残基为丝氨酸或天冬氨酸,在位置95处的氨基酸残基为脯氨酸,或在位置96处的氨基酸残基为甘氨酸,所述位置根据Kabat编号。

[0379] 在一个实施方案中,本发明的第二抗原结合位点的重链可变结构域是所述第二抗原结合位点的重链可变结构域,其中:

[0380] 在所述第二抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基为天冬酰胺、谷氨酰胺或组氨酸,在位置51处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置56处的氨基酸残基为苏氨酸或精氨酸,在位置57处的氨基酸残基为缬氨酸,在位置59处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置61处的氨基酸残基为精氨酸,在位置62处的氨基酸残基为赖氨酸,在位置65处的氨基酸残基为天冬酰胺或谷氨酰胺,或在位置102处的氨基酸残基为缬氨酸,所述位置根据Kabat编号。

[0381] 在一个实施方案中,本发明的第二抗原结合位点的轻链可变结构域是所述第二抗原结合位点的轻链可变结构域,其中:

[0382] 在所述第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置24处的氨基酸残基为苏氨酸,在位置26处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置27处的氨基酸残基为谷氨酰胺,在位置29处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置30处的氨基酸残基为谷氨酰胺、丝氨酸或谷氨酸,在位置31处的氨基酸残基为精氨酸,在位置32处的氨基酸残基为谷氨酰胺或谷氨酸,在位置50处的氨基酸残基为谷氨酰胺,在位置92处的氨基酸残基为丙氨酸,在位置94处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置95处的氨基酸残基为天冬氨酸或丙氨酸,在位置95a处的氨基酸残基为酪氨酸或缺失,或在位置96处的氨基酸残基为苏氨酸,所述位置根据Kabat编号。

[0383] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子是多特异性抗原结合分子,其中:

[0384] 在所述第一抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基为组氨酸,在位置34处的氨基酸残基为丙氨酸,在位置97处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置98处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置100处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸,在位置100a处的氨基酸残基为天冬氨酸或缺失,在位置100b处的氨基酸残基为丙氨酸或组氨酸,或在位置

100e处的氨基酸残基为组氨酸或异亮氨酸,所述位置根据Kabat编号;

[0385] 在所述第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置26处的氨基酸残基为苏氨酸,在位置27处的氨基酸残基为精氨酸,在位置30处的氨基酸残基为精氨酸,在位置31处的氨基酸残基为精氨酸,在位置32处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸,在位置53处的氨基酸残基为精氨酸,在位置55处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置92处的氨基酸残基为精氨酸,在位置93处的氨基酸残基为丝氨酸或天冬氨酸,在位置95处的氨基酸残基为脯氨酸,或在位置96处的氨基酸残基为甘氨酸,所述位置根据Kabat编号;

[0386] 在所述第二抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基为天冬酰胺、谷氨酰胺或组氨酸,在位置51处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置56处的氨基酸残基为苏氨酸或精氨酸,在位置57处的氨基酸残基为缬氨酸,在位置59处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置61处的氨基酸残基为精氨酸,在位置62处的氨基酸残基为赖氨酸,在位置65处的氨基酸残基为天冬酰胺或谷氨酰胺,或在位置102处的氨基酸残基为缬氨酸,所述位置根据Kabat编号;且

[0387] 在所述第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置24处的氨基酸残基为苏氨酸,在位置26处的氨基酸残基为谷氨酸,在位置27处的氨基酸残基为谷氨酰胺,在位置29处的氨基酸残基为丝氨酸,在位置30处的氨基酸残基为谷氨酰胺、丝氨酸或谷氨酸,在位置31处的氨基酸残基为精氨酸,在位置32处的氨基酸残基为谷氨酰胺或谷氨酸,在位置50处的氨基酸残基为谷氨酰胺,在位置92处的氨基酸残基为丙氨酸,在位置94处的氨基酸残基为天冬氨酸,在位置95处的氨基酸残基为天冬氨酸或丙氨酸,在位置95a处的氨基酸残基为酪氨酸或缺失,或在位置96处的氨基酸残基为苏氨酸,所述位置根据Kabat编号。

[0388] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第一抗原结合位点的重链可变结构域是重链可变结构域,其包含:

[0389] 1) 包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:170的氨基酸序列的HVR-H3(QH01);;

[0390] 2) 包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的HVR-H3(QH02);;

[0391] 3) 包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的HVR-H3(QH03);

[0392] 4) 包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列的HVR-H3(QH04);

[0393] 5) 包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的HVR-H3(QH06);或

[0394] 6) 包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的HVR-H3(QH07)。

[0395] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第一抗原结合位点的轻链可变结构域是轻链可变结构域,其包含:

[0396] 1) 包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的HVR-L3(QL21);

[0397] 2) 包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列

的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:191的氨基酸序列的HVR-L3(QL22);

[0398] 3) 包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HVR-L3(QL23);

[0399] 4) 包含SEQ ID NO:195的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:197的氨基酸序列的HVR-L3(QL24);

[0400] 5) 包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的HVR-L3(QL25);

[0401] 6) 包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的HVR-L3(QL26);

[0402] 7) 包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:206的氨基酸序列的HVR-L3(QL28);

[0403] 8) 包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列的HVR-L3(QL29);

[0404] 9) 包含SEQ ID NO:210的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:212的氨基酸序列的HVR-L3(QL30);

[0405] 10) 包含SEQ ID NO:213的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:214的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:215的氨基酸序列的HVR-L3(QL31);

[0406] 11) 包含SEQ ID NO:216的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的HVR-L3(QL32);或

[0407] 12) 包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的HVR-L3(QL33)。

[0408] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第二抗原结合位点的重链可变结构域是重链可变结构域,其包含:

[0409] 1) 包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:223的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:224的氨基酸序列的HVR-H3(JH01);

[0410] 2) 包含SEQ ID NO:225的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:226的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:227的氨基酸序列的HVR-H3(JH02);

[0411] 3) 包含SEQ ID NO:228的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:229的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:230的氨基酸序列的HVR-H3(JH03);

[0412] 4) 包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HVR-H3(JH04);

[0413] 5) 包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的HVR-H3(JH05);

[0414] 6) 包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:238的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列的HVR-H3(JH06);

[0415] 7) 包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HVR-H3(JH07);

[0416] 8) 包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的HVR-H3(JH08);

[0417] 9) 包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:247的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:248的氨基酸序列的HVR-H3 (JH09);

[0418] 10) 包含SEQ ID NO:249的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:250的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:251的氨基酸序列的HVR-H3 (JH10); 或

[0419] 11) 包含SEQ ID NO:252的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:253的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:254的氨基酸序列的HVR-H3 (JH11)。

[0420] 在一个实施方案中, 本发明的多特异性抗原结合分子的第二抗原结合位点的轻链可变结构域是轻链可变结构域, 其包含:

[0421] 1) 包含SEQ ID NO:255的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:256的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:257的氨基酸序列的HVR-L3 (JL01);

[0422] 2) 包含SEQ ID NO:258的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:259的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:260的氨基酸序列的HVR-L3 (JL02);

[0423] 3) 包含SEQ ID NO:261的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:262的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:263的氨基酸序列的HVR-L3 (JL03);

[0424] 4) 包含SEQ ID NO:264的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:265的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:266的氨基酸序列的HVR-L3 (JL04);

[0425] 5) 包含SEQ ID NO:267的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:268的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:269的氨基酸序列的HVR-L3 (JL05);

[0426] 6) 包含SEQ ID NO:270的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:271的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:272的氨基酸序列的HVR-L3 (JL06);

[0427] 7) 包含SEQ ID NO:273的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:274的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:275的氨基酸序列的HVR-L3 (JL07);

[0428] 8) 包含SEQ ID NO:276的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:277的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:278的氨基酸序列的HVR-L3 (JL08);

[0429] 9) 包含SEQ ID NO:279的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:280的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:281的氨基酸序列的HVR-L3 (JL09);

[0430] 10) 包含SEQ ID NO:282的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:283的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:284的氨基酸序列的HVR-L3 (JL10); 或

[0431] 11) 包含SEQ ID NO:285的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:286的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列的HVR-L3 (JL11)。

[0432] 在一个实施方案中, 本发明的多特异性抗原结合分子是多特异性抗原结合分子, 其中所述第一抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域, 其中所述重链可变结构域包括:

[0433] 1) 包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:170的氨基酸序列的HVR-H3 (QH01); ;

[0434] 2) 包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的HVR-H3 (QH02); ;

[0435] 3) 包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的HVR-H3 (QH03);

[0436] 4) 包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列的HVR-H3 (QH04);

[0437] 5) 包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的HVR-H3 (QH06); 或

[0438] 6) 包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的HVR-H3 (QH07); 且

[0439] 所述轻链可变结构域包括:

[0440] 1) 包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的HVR-L3 (QL21);

[0441] 2) 包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:191的氨基酸序列的HVR-L3 (QL22);

[0442] 3) 包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HVR-L3 (QL23);

[0443] 4) 包含SEQ ID NO:195的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:197的氨基酸序列的HVR-L3 (QL24);

[0444] 5) 包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的HVR-L3 (QL25);

[0445] 6) 包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的HVR-L3 (QL26);

[0446] 7) 包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:206的氨基酸序列的HVR-L3 (QL28);

[0447] 8) 包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:209的氨基酸序列的HVR-L3 (QL29);

[0448] 9) 包含SEQ ID NO:210的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:212的氨基酸序列的HVR-L3 (QL30);

[0449] 10) 包含SEQ ID NO:213的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:214的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:215的氨基酸序列的HVR-L3 (QL31);

[0450] 11) 包含SEQ ID NO:216的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的HVR-L3 (QL32); 或

[0451] 12) 包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的HVR-L3 (QL33); 且

[0452] 其中所述第二抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,

[0453] 其中所述重链可变结构域包括:

[0454] 1) 包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:223的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:224的氨基酸序列的HVR-H3 (JH01);

[0455] 2) 包含SEQ ID NO:225的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:226的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:227的氨基酸序列的HVR-H3 (JH02);

[0456] 3) 包含SEQ ID NO:228的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:229的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:230的氨基酸序列的HVR-H3 (JH03);

- [0457] 4) 包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HVR-H3 (JH04);
- [0458] 5) 包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的HVR-H3 (JH05);
- [0459] 6) 包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:238的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列的HVR-H3 (JH06);
- [0460] 7) 包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HVR-H3 (JH07);
- [0461] 8) 包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的HVR-H3 (JH08);
- [0462] 9) 包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:247的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:248的氨基酸序列的HVR-H3 (JH09);
- [0463] 10) 包含SEQ ID NO:249的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:250的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:251的氨基酸序列的HVR-H3 (JH10);或
- [0464] 11) 包含SEQ ID NO:252的氨基酸序列的HVR-H1,包含SEQ ID NO:253的氨基酸序列的HVR-H2,以及包含SEQ ID NO:254的氨基酸序列的HVR-H3 (JH11);且
- [0465] 所述轻链可变结构域包括:
- [0466] 1) 包含SEQ ID NO:255的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:256的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:257的氨基酸序列的HVR-L3 (JL01);
- [0467] 2) 包含SEQ ID NO:258的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:259的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:260的氨基酸序列的HVR-L3 (JL02);
- [0468] 3) 包含SEQ ID NO:261的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:262的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:263的氨基酸序列的HVR-L3 (JL03);
- [0469] 4) 包含SEQ ID NO:264的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:265的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:266的氨基酸序列的HVR-L3 (JL04);
- [0470] 5) 包含SEQ ID NO:267的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:268的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:269的氨基酸序列的HVR-L3 (JL05);
- [0471] 6) 包含SEQ ID NO:270的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:271的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:272的氨基酸序列的HVR-L3 (JL06);
- [0472] 7) 包含SEQ ID NO:273的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:274的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:275的氨基酸序列的HVR-L3 (JL07);
- [0473] 8) 包含SEQ ID NO:276的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:277的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:278的氨基酸序列的HVR-L3 (JL08);
- [0474] 9) 包含SEQ ID NO:279的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:280的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:281的氨基酸序列的HVR-L3 (JL09);
- [0475] 10) 包含SEQ ID NO:282的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:283的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:284的氨基酸序列的HVR-L3 (JL10);或
- [0476] 11) 包含SEQ ID NO:285的氨基酸序列的HVR-L1,包含SEQ ID NO:286的氨基酸序列的HVR-L2,以及包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列的HVR-L3 (JL11)。

[0477] 在本发明的一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子是具有替代凝血因子VIII功能的功用的多特异性抗原结合分子,其中所述分子包含与凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX结合的第一抗原结合位点,和与凝血因子X结合的第二抗原结合位点,其中所述第一抗原结合位点包含SEQ ID NO:45的重链可变结构域(Q499)和SEQ ID NO:13的轻链可变结构域(QNK131),并且所述第二抗原结合位点包含SEQ ID NO:46的重链可变结构域(J327)和SEQ ID NO:31的轻链可变结构域(JNL095),并且其中在至少一个重链可变结构域或轻链可变结构域中,一个或多个氨基酸残基被其他氨基酸取代或缺失。

[0478] 在一个实施方案中,在本发明的第一抗原结合位点的重链可变结构域中,在所述第一抗原结合位点的上述重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置31、34、39、97、98、100、100a、100b和100e处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或缺失。

[0479] 在一个实施方案中,在本发明的第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,在所述第一抗原结合位点的上述轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置26、27、30、31、32、38、45、53、55、60、70、76、79、80、83、85、92、93、95和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或插入。

[0480] 在一个实施方案中,在本发明的第二抗原结合位点的重链可变结构域中,在所述第二抗原结合位点的上述重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置28、31、39、51、56、57、59、61、62、65、67、73、82b和102处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代。

[0481] 在一个实施方案中,在本发明的第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,在所述第二抗原结合位点的上述轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置3、8、15、24、26、27、29、30、31、32、38、48、49、50、79、92、94、95、95a和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或缺失。

[0482] 在一个实施方案中,在本发明的多特异性抗原结合分子中:

[0483] 在所述第一抗原结合位点的上述重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置31、34、39、97、98、100、100a、100b和100e处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或缺失;

[0484] 在所述第一抗原结合位点的上述轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置26、27、30、31、32、38、45、53、55、60、70、76、79、80、83、85、92、93、95和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或插入;

[0485] 在所述第二抗原结合位点的上述重链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置28、31、39、51、56、57、59、61、62、65、67、73、82b和102处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代;且

[0486] 在所述第二抗原结合位点的上述轻链可变结构域中,根据Kabat编号,选自在位置3、8、15、24、26、27、29、30、31、32、38、48、49、50、79、92、94、95、95a和96处的氨基酸残基中的至少一个氨基酸残基被另一个氨基酸取代或缺失。

[0487] 在一个实施方案中,在本发明的第一抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基(根据Kabat编号;同样适用于以下情况)为组氨酸;在位置34处的氨基酸残基为丙氨酸;在位置39处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置97处的氨基酸残基为天冬氨酸;

在位置98处的氨基酸残基为丝氨酸;在位置100处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸;在位置100a处的氨基酸残基为天冬氨酸或缺失;在位置100b处的氨基酸残基为丙氨酸或组氨酸;且在位置100e处的氨基酸残基为组氨酸或异亮氨酸,在所述第一抗原结合位点的上述重链可变结构域中。

[0488] 在一个实施方案中,在本发明的第一抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置26处的氨基酸残基(根据Kabat编号;同样适用于以下情况)为苏氨酸;在位置27处的氨基酸残基为精氨酸;在位置30处的氨基酸残基为精氨酸;在位置31处的氨基酸残基为精氨酸;在位置32处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸;在位置38处的氨基酸残基为赖氨酸;在位置45处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置53处的氨基酸残基为精氨酸;在位置55处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置60处的氨基酸残基为天冬氨酸;在位置70处的氨基酸残基为天冬氨酸;在位置76处的氨基酸残基为天冬酰胺;在位置79处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置80处的氨基酸残基为脯氨酸或丙氨酸;在位置83处的氨基酸残基为甲硫氨酸或丙氨酸;在位置85处的氨基酸残基为苏氨酸;在位置92处的氨基酸残基为精氨酸;在位置93处的氨基酸残基为丝氨酸或天冬氨酸;在位置95处的氨基酸残基为脯氨酸;或在位置96处的氨基酸残基为甘氨酸,在所述第一抗原结合位点的上述轻链可变结构域中。

[0489] 在一个实施方案中,在本发明的第二抗原结合位点的重链可变结构域中,在位置28处的氨基酸残基(根据Kabat编号;同样适用于以下情况)为谷氨酸;在位置31处的氨基酸残基为天冬酰胺,谷氨酰胺或组氨酸;在位置39处的氨基酸残基为赖氨酸;在位置51处的氨基酸残基为丝氨酸;在位置56处的氨基酸残基为苏氨酸或精氨酸;在位置57处的氨基酸残基为缬氨酸;在位置59处的氨基酸残基为丝氨酸;在位置61处的氨基酸残基为精氨酸;在位置62处的氨基酸残基为赖氨酸;在位置65处的氨基酸残基为天冬酰胺或谷氨酰胺;在位置67处的氨基酸残基为亮氨酸;在位置73处的氨基酸残基为异亮氨酸;在位置82b处的氨基酸残基为谷氨酸,或在位置102处的氨基酸残基为缬氨酸,在所述第二抗原结合位点的上述重链可变结构域中。

[0490] 在一个实施方案中,在本发明的第二抗原结合位点的轻链可变结构域中,在位置3处的氨基酸残基(根据Kabat编号;同样适用于以下情况)为谷氨酸;在位置8处的氨基酸残基为脯氨酸;在位置15处的氨基酸残基为亮氨酸;在位置24处的氨基酸残基为苏氨酸;在位置26处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置27处的氨基酸残基为谷氨酰胺;在位置29处的氨基酸残基为丝氨酸;在位置30处的氨基酸残基为谷氨酰胺,丝氨酸,或谷氨酸;在位置31处的氨基酸残基为精氨酸;在位置32处的氨基酸残基为谷氨酰胺或谷氨酸;在位置38处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置48处的氨基酸残基为异亮氨酸;在位置49处的氨基酸残基为酪氨酸;在位置50处的氨基酸残基为谷氨酰胺;在位置79处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置92处的氨基酸残基为丙氨酸;在位置94处的氨基酸残基为天冬氨酸;在位置95处的氨基酸残基为天冬氨酸或丙氨酸;在位置95a处的氨基酸残基为酪氨酸或缺失;或在位置96处的氨基酸残基为苏氨酸,在所述第二抗原结合位点的上述轻链可变结构域中。

[0491] 在一个实施方案中,在本发明的多特异性抗原结合分子中:

[0492] 在所述第一抗原结合位点的上述重链可变结构域中,在位置31处的氨基酸残基(根据Kabat编号;同样适用于以下情况)为组氨酸;在位置34处的氨基酸残基为丙氨酸;在位置39处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置97处的氨基酸残基为天冬氨酸;在位置98处的氨

氨酸残基为丝氨酸;在位置100处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸;在位置100a处的氨基酸残基为天冬氨酸或缺失;在位置100b处的氨基酸残基为丙氨酸或组氨酸;和在位置100e处的氨基酸残基为组氨酸或异亮氨酸;

[0493] 在所述第一抗原结合位点的上述轻链可变结构域中,在位置26处的氨基酸残基(根据Kabat编号;同样适用于以下情况)为苏氨酸;在位置27处的氨基酸残基为精氨酸;在位置30处的氨基酸残基为精氨酸;在位置31处的氨基酸残基为精氨酸;在位置32处的氨基酸残基为天冬氨酸或谷氨酸;在位置38处的氨基酸残基为赖氨酸;在位置45处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置53处的氨基酸残基为精氨酸;在位置55处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置60处的氨基酸残基为天冬氨酸;在位置70处的氨基酸残基为天冬氨酸;在位置76处的氨基酸残基为天冬酰胺;在位置79处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置80处的氨基酸残基为脯氨酸或丙氨酸;在位置83处的氨基酸残基为甲硫氨酸或丙氨酸;在位置85处的氨基酸残基为苏氨酸;在位置92处的氨基酸残基为精氨酸;在位置93处的氨基酸残基为丝氨酸或天冬氨酸;在位置95处的氨基酸残基为脯氨酸;或在位置96处的氨基酸残基为甘氨酸;

[0494] 在所述第二抗原结合位点的上述重链可变结构域中,在位置28处的氨基酸残基(根据Kabat编号;同样适用于以下情况)为谷氨酸;在位置31处的氨基酸残基为天冬酰胺,谷氨酰胺或组氨酸;在位置39处的氨基酸残基为赖氨酸;在位置51处的氨基酸残基为丝氨酸;在位置56处的氨基酸残基为苏氨酸或精氨酸;在位置57处的氨基酸残基为缬氨酸;在位置59处的氨基酸残基为丝氨酸;在位置61处的氨基酸残基为精氨酸;在位置62处的氨基酸残基为赖氨酸;在位置65处的氨基酸残基为天冬酰胺或谷氨酰胺;在位置67处的氨基酸残基为亮氨酸;在位置73处的氨基酸残基为异亮氨酸;在位置82b处的氨基酸残基为谷氨酸,或在位置102处的氨基酸残基为缬氨酸;

[0495] 在所述第二抗原结合位点的上述轻链可变结构域中,在位置3处的氨基酸残基(根据Kabat编号;同样适用于以下情况)为谷氨酸;在位置8处的氨基酸残基为脯氨酸;在位置15处的氨基酸残基为亮氨酸;在位置24处的氨基酸残基为苏氨酸;在位置26处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置27处的氨基酸残基为谷氨酰胺;在位置29处的氨基酸残基为丝氨酸;在位置30处的氨基酸残基为谷氨酰胺,丝氨酸,或谷氨酸;在位置31处的氨基酸残基为精氨酸;在位置32处的氨基酸残基为谷氨酰胺或谷氨酸;在位置38处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置48处的氨基酸残基为异亮氨酸;在位置49处的氨基酸残基为酪氨酸;在位置50处的氨基酸残基为谷氨酰胺;在位置79处的氨基酸残基为谷氨酸;在位置92处的氨基酸残基为丙氨酸;在位置94处的氨基酸残基为天冬氨酸;在位置95处的氨基酸残基为天冬氨酸或丙氨酸;在位置95a处的氨基酸残基为酪氨酸或缺失;或在位置96处的氨基酸残基为苏氨酸。

[0496] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第一抗原结合位点的重链可变结构域是包含SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、或SEQ ID NO:60的氨基酸序列的重链可变结构域。

[0497] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第一抗原结合位点的轻链可变结构域是包含SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、或SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、或SEQ ID NO:72的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0498] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第二抗原结合位点的重链

可变结构域是包含SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、或SEQ ID NO:83的氨基酸序列的重链可变结构域。

[0499] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的第二抗原结合位点的轻链可变结构域是包含SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、或SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、或SEQ ID NO:94的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0500] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子是多特异性抗原结合分子,

[0501] 其中所述第一抗原结合位点包含:

[0502] SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、或SEQ ID NO:60的重链可变结构域(QH);和

[0503] SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、或SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、或SEQ ID NO:72的轻链可变结构域(QL),和

[0504] 其中所述第二抗原结合位点包含:

[0505] SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、或SEQ ID NO:83的重链可变结构域(JH);和

[0506] SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、或SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、或SEQ ID NO:94的轻链可变结构域(JL)。

[0507] 在一个实施方案中,本发明提供多特异性抗原结合分子,其包含与FIX和/或FIXa结合的第一抗体重链可变结构域和抗体轻链可变结构域,以及与FX结合的第二抗体重链可变结构域和抗体轻链可变结构域,所述多特异性抗原结合分子为以下(a)至(v)中的任一种:

[0508] (a) 多特异性抗原结合分子(QH01/QL21//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0509] (b) 多特异性抗原结合分子(QH02/QL22//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0510] (c) 多特异性抗原结合分子(QH03/QL23//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0511] (d) 多特异性抗原结合分子(QH03/QL24//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的第一抗体轻

链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0512] (e) 多特异性抗原结合分子(QH02/QL22//JH03/JL03),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0513] (f) 多特异性抗原结合分子(QH02/QL22//JH04/JL04),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0514] (g) 多特异性抗原结合分子(QH02/QL22//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0515] (h) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL25//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0516] (i) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL26//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0517] (j) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL26//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0518] (k) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL28//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0519] (l) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL28//JH06/JL06),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0520] (m) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL29//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0521] (n) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL29//JH06/JL06),其包括包含SEQ ID NO:59

的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0522] (o) 多特异性抗原结合分子(QH06/QL30//JH07/JL07),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0523] (p) 多特异性抗原结合分子(QH04/QL31//JH08/JL08),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0524] (q) 多特异性抗原结合分子(QH06/QL32//JH07/JL07),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0525] (r) 多特异性抗原结合分子(QH06/QL32//JH09/JL09),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0526] (s) 多特异性抗原结合分子(QH06/QL30//JH10/JL10),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0527] (t) 多特异性抗原结合分子(QH07/QL33//JH11/JL11),其包括包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0528] (u) 多特异性抗原结合分子,其结合与由(a)至(t)中的任一种抗体识别的FIX和/或FIXa中的表位和FX中的表位相同的表位;

[0529] (v) 多特异性抗原结合分子,其竞争结合由(a)至(t)中的任一种抗体识别的FIX和/或FIXa中的表位和FX中的表位。

[0530] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的重链恒定区是包含SEQ ID NO:118或SEQ ID NO:119的氨基酸序列的重链恒定区。

[0531] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子的轻链恒定区是包含SEQ ID NO:100或SEQ ID NO:102的氨基酸序列的轻链恒定区。

[0532] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子是多特异性抗原结合分子,其中第一抗原结合位点包含以下(1)或(2)的恒定区,和第二抗原结合位点包含以下(1)或(2)的恒定区(不是包含在第一抗原结合位点中的恒定区):

[0533] (1) 用于重链恒定区的SEQ ID NO:119和用于轻链恒定区的SEQ ID NO:100;

[0534] (2) 用于重链恒定区的SEQ ID NO:118和用于轻链恒定区的SEQ ID NO:102。

[0535] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗原结合分子是多特异性抗体。在进一步的实施方案中,本发明的多特异性抗体是双特异性抗体。

[0536] 在一个实施方案中,本发明提供双特异性抗体,其包含与FIX和/或FIXa结合的第一抗体重链可变结构域和抗体轻链可变结构域,以及与FX结合的第二抗体重链可变结构域和抗体轻链可变结构域,所述双特异性抗体为以下(a)至(v)中的任一种:

[0537] (a) 双特异性抗体(QH01/QL21//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0538] (b) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH01/JL01),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0539] (c) 双特异性抗体(QH03/QL23//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0540] (d) 双特异性抗体(QH03/QL24//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0541] (e) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH03/JL03),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0542] (f) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH04/JL04),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0543] (g) 双特异性抗体(QH02/QL22//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0544] (h) 双特异性抗体(QH04/QL25//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0545] (i) 双特异性抗体(QH04/QL26//JH02/JL02),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸

序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0546] (j) 双特异性抗体 (QH04/QL26//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0547] (k) 双特异性抗体 (QH04/QL28//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0548] (l) 双特异性抗体 (QH04/QL28//JH06/JL06),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0549] (m) 双特异性抗体 (QH04/QL29//JH05/JL05),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0550] (n) 双特异性抗体 (QH04/QL29//JH06/JL06),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0551] (o) 双特异性抗体 (QH06/QL30//JH07/JL07),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0552] (p) 双特异性抗体 (QH04/QL31//JH08/JL08),其包括包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0553] (q) 双特异性抗体 (QH06/QL32//JH07/JL07),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0554] (r) 双特异性抗体 (QH06/QL32//JH09/JL09),其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域,包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域,以及包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0555] (s) 双特异性抗体 (QH06/QL30//JH10/JL10), 其包括包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0556] (t) 双特异性抗体 (QH07/QL33//JH11/JL11), 其包括包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的第一抗体重链可变结构域, 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的第一抗体轻链可变结构域, 包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的第二抗体重链可变结构域, 以及包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的第二抗体轻链可变结构域;

[0557] (u) 双特异性抗体, 其结合与由 (a) 至 (t) 中的任一种抗体识别的凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX的表位和凝血因子X的表位相同的表位;

[0558] (v) 多特异性抗原结合分子, 其竞争结合由 (a) 至 (t) 中的任一种抗体识别的凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX的表位和凝血因子X的表位。

[0559] 在一个实施方案中, 本发明提供双特异性抗体, 其包含与FIX和/或FIXa结合的第一抗体重链和抗体轻链, 以及与FX结合的第二抗体重链和抗体轻链, 所述双特异性抗体为以下 (a) 至 (v) 中的任一种:

[0560] (a) 双特异性抗体 (QH01/QL21//JH01/JL01), 其包括包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0561] (b) 双特异性抗体 (QH02/QL22//JH01/JL01), 其包括包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0562] (c) 双特异性抗体 (QH03/QL23//JH02/JL02), 其包括包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0563] (d) 双特异性抗体 (QH03/QL24//JH02/JL02), 其包括包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0564] (e) 双特异性抗体 (QH02/QL22//JH03/JL03), 其包括包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0565] (f) 双特异性抗体 (QH02/QL22//JH04/JL04), 其包括包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0566] (g) 双特异性抗体 (QH02/QL22//JH02/JL02), 其包括包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0567] (h) 双特异性抗体 (QH04/QL25//JH02/JL02), 其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0568] (i) 双特异性抗体 (QH04/QL26//JH02/JL02), 其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0569] (j) 双特异性抗体 (QH04/QL26//JH05/JL05), 其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0570] (k) 双特异性抗体 (QH04/QL28//JH05/JL05), 其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0571] (l) 双特异性抗体 (QH04/QL28//JH06/JL06), 其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0572] (m) 双特异性抗体 (QH04/QL29//JH05/JL05), 其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0573] (n) 双特异性抗体 (QH04/QL29//JH06/JL06), 其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0574] (o) 双特异性抗体 (QH06/QL30//JH07/JL07), 其包括包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0575] (p) 双特异性抗体 (QH04/QL31//JH08/JL08), 其包括包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的第二抗体轻链;

链;

[0576] (q) 双特异性抗体 (QH06/QL32//JH07/JL07), 其包括包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0577] (r) 双特异性抗体 (QH06/QL32//JH09/JL09), 其包括包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0578] (s) 双特异性抗体 (QH06/QL30//JH10/JL10), 其包括包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0579] (t) 双特异性抗体 (QH07/QL33//JH11/JL11), 其包括包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的第一抗体重链, 包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的第一抗体轻链, 包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的第二抗体重链, 以及包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的第二抗体轻链;

[0580] (u) 双特异性抗体, 其结合与由 (a) 至 (t) 中的任一种抗体识别的FIX和/或FIXa中的表位和FX中的表位相同的表位。

[0581] (v) 多特异性抗原结合分子, 其竞争结合由 (a) 至 (t) 中的任一种抗体识别的FIX和/或FIXa中的表位和FX中的表位。

[0582] 在一个实施方案中, 本发明进一步提供具有替代凝血因子VIII功能的的多特异性抗原结合分子, 其包含与凝血因子IX和/或活化的凝血因子IX结合的第一抗原结合位点, 和与凝血因子X结合的第二抗原结合位点,

[0583] 其中所述第一抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,

[0584] 其中所述重链可变结构域 (Q499) 包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H3,

[0585] 其中所述轻链可变结构域 (QNK131) 包括包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的HVR-L3, 且

[0586] 其中所述第二抗原结合位点包含重链可变结构域和轻链可变结构域,

[0587] 其中所述重链可变结构域 (J327) 包括包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H1, 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-H2, 以及包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H3,

[0588] 其中所述轻链可变结构域 (JNL095) 包括包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的HVR-L1, 包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的HVR-L2, 以及包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的HVR-L3。

[0589] 在某些实施方案中, 上述 (a) 至 (v) 的抗体是具有替代FVIII的功能的抗体。

[0590] 在其他实施方案中, 上述 (a) 至 (v) 的抗体是与ACE910 (艾美赛珠单抗) 相比, 其中对抗ACE910 (艾美赛珠单抗) 独特型抗体的反应性降低的抗体。在本文中, 短语“与ACE910

(艾美赛珠单抗)相比,对抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体的反应性降低”是指当抗独特型抗体和标记的ACE910之间的结合强度(%)使用本文中所述的方法测定时,且如果以100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度添加测试物质,则反应性优选降低10%或更多,更优选降低20%或更多,仍更优选降低30%或更多。

[0591] 抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体可以通过例如以下方法获得。将识别FIX(a)的Q499/L404的 $\text{F}(\text{ab}')_2$ 以及识别FX的J327/L404的 $\text{F}(\text{ab}')_2$ 施用于兔,获得抗Q499/L404  $\text{F}(\text{ab}')_2$ 兔血清和抗J327/L404  $\text{F}(\text{ab}')_2$ 兔血清。将这些血清的硫酸铵级分加到柱上以去除人IgG反应性抗体。接下来,使用Q499/L404(J327/L404)结合柱进行亲和纯化,并且使用J327/L404(Q499/L404)结合柱去除J327/L404(Q499/L404)反应性抗体,且因此获得特异性结合Q499/L404(J327/L404)的多克隆抗独特型抗体。

[0592] 抗独特型抗体对标记的ACE910(艾美赛珠单抗)的结合强度(%)可以通过例如电化学发光免疫测定法来测量,并且这可以评估由测试物质的结合抑制。当使用如上所述获得的抗独特型抗体时,将浓度为0、1、3、10、30或100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的测试物质(双特异性抗体)添加到抗Q499/L404独特型抗体、抗J327/L404独特型抗体、生物素标记的ACE910(艾美赛珠单抗),和SULFO-TAG标记的ACE910(艾美赛珠单抗)的混合物中,且将所得混合溶液在冷藏下温育过夜。然后,将混合溶液加入到96孔板中,且洗涤该处,且然后通过电化学发光法测定结合强度。

[0593] 在其他实施方案中,与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,以上(a)至(v)的抗体在低抗体浓度下具有增强的FVIII辅因子功能替代活性和较高活性。

[0594] 在其他实施方案中,与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,以上(a)至(v)的抗体基本上不具有FIX活化抑制活性,并且具有增加的FVIII辅因子功能替代活性。在本文中,短语“基本上不具有FIX活化抑制活性”是指利用本说明书所示的方法测定OD值时,与对照OD值相比,OD值的降低为0.025或更小,优选0.02或更小,更优选0.01或更小。

[0595] 包含在本文所述的氨基酸序列中的氨基酸可以进行翻译后修饰(例如,通过焦谷氨酰化(pyroglutamylation)将N端谷氨酰胺修饰成焦谷氨酸是本领域技术人员公知的)。自然地,具有翻译后修饰的氨基酸的此类序列也包括在本文所述的氨基酸序列中。

[0596] 在另一方面,本发明提供了多特异性抗原结合分子或双特异性抗体,其与本文提供的与FIX和/或FIXa,以及FX结合的多特异性抗原结合分子或双特异性抗体结合相同的表位。例如,在某些实施方案中,提供了多特异性抗原结合分子或双特异性抗体,其与以上(a)至(t)中所述的多特异性抗原结合分子或双特异性抗体结合相同的表位。

[0597] 在本发明的另一方面,根据任何上述实施方案的与FIX和/或FIXa以及FX结合的双特异性抗体是单克隆抗体,包括嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在一个实施方案中,与FIX和/或FIXa,以及FX结合的双特异性抗体是抗体片段,例如(scFv) $_2$ 、双抗体或 $\text{F}(\text{ab}')_2$ 片段。在另一个实施方案中,抗体是全长抗体,例如完整IgG4抗体或本文定义的其他抗体类别或同种型。

[0598] 在另一方面,根据任何以上实施方案的与FIX和/或FIXa以及FX结合的双特异性抗体可以并入如以下1-7节中所述的单独或组合的任何特征:

[0599] 1. 抗体亲和力

[0600] 在某些实施方案中,本文提供的抗体具有100 $\mu\text{M}$ 或更小、10 $\mu\text{M}$ 或更小、1 $\mu\text{M}$ 或更小、

100nM或更小、10nM或更小、1nM或更小、0.1nM或更小、0.01nM或更小或0.001nM或更小(例如 $10^{-5}$ M或更小,例如 $10^{-5}$ M至 $10^{-10}$ M,例如 $10^{-6}$ M至 $10^{-10}$ M)的解离常数(Kd)。

[0601] 在一个实施方案中,通过放射性标记的抗原结合测定法(RIA)测量Kd。在一个实施方案中,用目标抗体的Fab形式及其抗原进行RIA。例如,Fab对抗原的溶液结合亲和力通过以下来测量:在滴定系列的未标记抗原存在下,用最小浓度的( $^{125}$ I)标记的抗原平衡Fab,然后用抗Fab抗体包被的板捕获结合的抗原(参见例如Chen等,J.Mol.Biol.293:865-881(1999))。为了建立测定条件,将MICROTITER(注册商标)多孔板(Thermo Scientific)用在50mM碳酸钠(pH9.6)中的5 $\mu$ g/ml的捕获抗Fab抗体(Cappel Labs)包被过夜,且随后用PBS中的2% (w/v)牛血清白蛋白在室温(约23 $^{\circ}$ C)下封闭2至5小时。在非吸附板(Nunc#269620)中,将100pM或26pM[ $^{125}$ I]-抗原与目标Fab的连续稀释液混合(例如,与在Presta等,Cancer Res.57:4593-4599(1997)中的抗VEGF抗体Fab-12的评估一致)。然后将目标Fab温育过夜;然而,温育可以持续更长的时间(例如,约65小时)以确保达到平衡。此后,将混合物转移到捕获板中,在室温下温育(例如,1小时)。然后除去溶液,且用PBS中的0.1%聚山梨醇酯20(TWEEN-20(注册商标))洗涤板8次。当板干燥后,加入150 $\mu$ l/孔的闪烁剂(MICROSCINT-20<sup>TM</sup>; Packard),并在TOPCOUNT<sup>TM</sup>  $\gamma$ 计数器(Packard)上对板计数10分钟。选择产生小于或等于20%最大结合的每种Fab的浓度用于竞争性结合测定。

[0602] 根据另一个实施方案,使用BIACORE(注册商标)表面等离子共振测定法测量Kd。例如,使用BIACORE(注册商标)-2000或BIACORE(注册商标)-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)的测定在25 $^{\circ}$ C下以约10个响应单位(RU)用固定化抗原CM5芯片进行。在一个实施方案中,根据供应商的说明,用N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化羧甲基化葡聚糖生物传感器芯片(CM5, BIACORE, Inc.)。将抗原用pH 4.8的10mM乙酸钠稀释至5 $\mu$ g/mL( $\sim 0.2\mu$ M),然后以5 $\mu$ L/分钟的流速注射,以获得偶联蛋白的约10个响应单位(RU)。注射抗原后,注射1M乙醇胺以阻断未反应的基团。对于动力学测量,将Fab在含有0.05%聚山梨醇酯20(TWEEN-20<sup>TM</sup>)表面活性剂的PBS(PBST)中的两倍连续稀释液(0.78nM至500nM)在25 $^{\circ}$ C下以大约25 $\mu$ L/min的流速注射。通过同时拟合缔合和解离传感图,使用简单的一对一Langmuir结合模型(BIACORE(注册商标)评估软件版本3.2)计算缔合速率( $k_{on}$ )和解离速率( $k_{off}$ )。平衡解离常数(Kd)计算为比率 $k_{off}/k_{on}$ 。参见例如,Chen等,J.Mol.Biol.293:865-881(1999)。如果通过上述表面等离子体共振测定法的结合速率(on-rate)超过 $10^6\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,那么可以通过使用荧光淬灭技术确定结合速率,该技术在如在分光计中测量的增加浓度的抗原存在下,测量在25 $^{\circ}$ C下PBS(pH7.2)中的20nM抗-抗原抗体(Fab形式)的荧光发射强度的增加或减少(激发=295nm;发射=340nm,16nm带通),所述分光计为诸如装备停流的分光光度计(Aviv Instruments)或具有搅拌比色皿的8000系列SLM-AMINCO<sup>TM</sup>分光光度计(ThermoSpectronic)。

## [0603] 2. 抗体片段

[0604] 在某些实施方案中,本文提供的抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于(scFv)<sub>2</sub>、双抗体或F(ab')<sub>2</sub>以及以下描述的其他片段。关于某些抗体片段的综述,参见Hudson等.Nat.Med.9:129-134(2003)。关于scFv片段的综述,参见例如Pluckthün, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol.113, Rosenberg和Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp.269-315(1994);也参见WO 93/16185;以及美国专利

No.5,571,894和5,587,458。关于包含补救受体结合表位残基并具有增加的体内半衰期的F(ab')<sub>2</sub>片段的讨论,参见美国专利No.5,869,046。

[0605] 双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价的或双特异性的。参见例如,EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson等,Nat.Med.9:129-134(2003);以及Hollinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)。

[0606] 如本文所述,抗体片段可以通过多种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞(例如大肠杆菌或噬菌体)产生。

[0607] 3.嵌合和人源化抗体

[0608] 在某些实施方案中,本文提供的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于例如美国专利No.4,816,567;和Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984)。在一个实例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,源自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或诸如猴的非人灵长类动物的可变区)和人恒定区。在另一个实例中,嵌合抗体是“类别转换的”抗体,其中类别或亚类已经从亲本抗体的类别或亚类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0609] 在某些实施方案中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR(例如CDR)(或其部分)源自非人抗体,并且FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选还包含人恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,HVR残基源自的抗体)的相应残基取代,例如,以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0610] 人源化抗体及其制备方法在例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008)中进行了综述,并进一步描述于例如Riechmann等,Nature 332:323-329(1988);Queen等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 86:10029-10033(1989);美国专利No.5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409;Kashmiri等,Methods 36:25-34(2005)(描述特异性决定区(SDR)移植);Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述“表面再塑”);Da11'Acqua等,Methods 36:43-60(2005)(描述“FR改组”);和Osborn等,Methods 36:61-68(2005)和Klimka等,Br.J.Cancer,83:252-260(2000)(描述FR改组的“导向选择”方法)。

[0611] 可用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见例如,Sims等,J.Immunol.151:2296(1993));源自轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见例如,Carter等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);和Presta等J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(参见例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));源自筛选FR文库的框架区(参见例如,Baca等,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)和Rosok等,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0612] 4.人抗体

[0613] 在某些实施方案中,本文提供的抗体是人抗体。可以使用本领域中已知的多种技术来生成抗体。人抗体一般描述于van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)以及Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)。

[0614] 可通过对转基因动物施用免疫原以制备人抗体,所述转基因动物已被修饰为响应抗原性攻击(challenge)而产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含

有所有或部分人免疫球蛋白基因座,其替换内源免疫球蛋白基因座,或者其在染色体外存在或随机整合入动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,一般已经将内源免疫球蛋白基因座灭活。关于自转基因动物获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg, *Nat. Biotech.* 23: 1117-1125 (2005)。还参见例如美国专利No. 6,075,181和6,150,584,其描述了XENOMOUSE™技术;美国专利No. 5,770,429,其描述了HUMAB(注册商标)技术;美国专利No. 7,041,870,其描述了K-M MOUSE(注册商标)技术,和美国专利申请公开No. US 2007/0061900,其描述了VELOCIMOUSE(注册商标)技术。可以例如通过与不同人恒定区组合进一步修饰来自此类动物生成的完整抗体的人可变区。

[0615] 也可以通过基于杂交瘤的方法生成抗体。已经描述了用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系。(参见,例如, Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur等, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 以及Boerner等, *J. Immunol.*, 147:86 (1991))。经由人B细胞杂交瘤技术生成的人抗体也描述于Li等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)。其它方法包括描述于例如美国专利No. 7,189,826(描述了自杂交瘤细胞系产生单克隆人IgM抗体)和Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006)(描述了人-人杂交瘤)的那些。人杂交瘤技术(Trioma技术)也描述于Vollmers和Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005)以及Vollmers和Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)。

[0616] 也可以通过分离选自人衍生的噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列生成抗体。然后,可以将此类可变结构域序列与所需的人恒定结构域组合。以下描述了自抗体文库选择人抗体的技术。

[0617] 5. 文库衍生的抗体

[0618] 可以通过筛选组合文库得到具有一种或多种所需活性的抗体来分离本发明的抗体。例如,用于生成噬菌体展示文库并对此类文库筛选得到具有期望结合特征的抗体的多种方法是本领域中已知的。此类方法综述于例如Hoogenboom等, in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O' Brien等, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)并且进一步描述于例如, McCafferty等, *Nature* 348:552-554; Clackson等, *Nature* 352:624-628 (1991); Marks等, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Marks和Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu等, *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310 (2004); Lee等, *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004); 和Lee等, *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004)。

[0619] 在某些噬菌体展示方法中,将VH和VL基因的组库(repertoire)分别通过聚合酶链式反应(PCR)克隆,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以筛选得到抗原结合噬菌体,如描述于Winter等, *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994)。噬菌体通常以单链Fv(scFv)片段或以Fab片段展示抗体片段。来自经免疫的來源的文库提供对免疫原的高亲和力抗体,而不需要构建杂交瘤。或者,可以(例如,从人)克隆幼稚组库以在没有任何免疫的情况下提供针对广泛的非自身和自身抗原的单一抗体来源,如由Griffiths等, *EMBO J*, 12:725-734 (1993)

所描述的。最后,还可以通过自干细胞克隆未重排的V基因区段,并使用含有随机序列的PCR引物来编码高度可变的CDR3区并在体外实现重排,来合成制备幼稚文库,如由Hoogenboom和Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381-388 (1992) 所描述的。描述人抗体噬菌体文库的专利公开包括例如:美国专利No. 5,750,373和美国专利公开号2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936以及2009/0002360。

[0620] 认为自人抗体文库分离的抗体或抗体片段是本文中的人抗体或人抗体片段。

[0621] 6. 多特异性抗体

[0622] 在本发明的上下文中,术语“多特异性抗体”是指可以特异性结合至不同类型的表位的抗体。更具体地,多特异性抗体是对至少两种不同类型的表位具有特异性的抗体,并且除了识别不同抗原的抗体之外,还包括识别相同抗原上的不同表位的抗体。(例如,当所述抗原是异源受体时,多特异性抗体结合构成异源受体的不同结构域;或者,当所述抗原是单体时,多特异性抗体结合单体抗原上的多个位点)。通常,此类分子与两种抗原结合(双特异性抗体),但它们甚至可以对更多的抗原(例如三种类型)具有特异性。在特定的实施方案中,一种抗原是FIX和/或FIXa,且另一种是FX。双特异性抗体可以制备成整个抗体或抗体片段。

[0623] 用于制备多特异性抗体的技术包括但不限于,重组共表达具有不同特异性的两条免疫球蛋白重链-轻链对(参见Milstein和Cuellar, *Nature* 305:537 (1983); WO 93/08829; 和Traunecker等, *EMBO J.* 10:3655 (1991)), 和“杵臼结构(knob-in-hole)”工程(参见例如美国专利No. 5,731,168)。多特异性抗体还可以通过以下方法制备:工程化静电转向效应,用于制备抗体Fc-异二聚体分子(WO 2009/089004A1);交联两个或更多个抗体或片段(参见,例如,美国专利No. 4,676,980,和Brennan等, *Science*, 229:81 (1985));使用亮氨酸拉链以产生双特异性抗体(参见,例如, Kostelny等, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992));使用“双抗体”技术用于制备双特异性抗体片段(参见,例如, Hollinger等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993));以及使用单链Fv(scFv)二聚体(参见,例如, Gruber等, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994));以及制备例如,如Tutt等 *J. Immunol.* 14760 (1991) 中所述的三特异性抗体。

[0624] 具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化抗体,包括“章鱼抗体”,也包括在本文中(参见,例如, US 2006/0025576A1)。

[0625] 7. 抗体变体

[0626] 在某些实施方案中,设想本文提供的抗体的氨基酸序列变体。例如,可能需要改善抗体的结合亲和力和/或其他生物学特性。可以通过将适当的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中,或通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如抗体的氨基酸序列内残基的缺失,和/或插入和/或取代。可以进行缺失、插入和取代的任何组合以得到最终构建体,条件是最终构建体具有所需特征,例如抗原结合。

[0627] a) 取代、插入和缺失变体

[0628] 在某些实施方案中,提供了具有一个或更多个氨基酸取代的抗体变体。用于取代诱变的目标位点包括HVR和FR。保守取代显示在表1中“优选取代”的标题下。在表1中在“示范性取代”的标题下提供了更实质的变化,并且如下文关于氨基酸侧链类别进一步描述的。可以将氨基酸取代引入目标抗体中,并针对所需活性(例如保留/改善的抗原结合,降低的

免疫原性,或改善的ADCC或CDC) 筛选产物。

[0629] [表1]

原始残基	示例性取代	优选取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucine	Leu
Leu (L)	Norleucine; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucine	Leu

[0630]

[0631] 依照共同的侧链特性,氨基酸可以分组如下:

[0632] (1) 疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0633] (2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0634] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0635] (4) 碱性:His、Lys、Arg;

[0636] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0637] (6) 芳香族:Trp、Tyr、Phe。

[0638] 非保守取代会需要用这些类别之一的成员交换另一个类别的成员。

[0639] 一种类型的取代变体涉及取代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。通常,选择用于进一步研究的所得变体将相对于亲本抗体具有某些生物学特

性(例如,增加的亲和力、降低的免疫原性)的修饰(例如,改善)和/或将基本上保留了亲本抗体的某些生物学特性。示例性的取代变体是亲和力成熟的抗体,其可以方便地生成,例如,使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术,诸如本文所述的那些。简而言之,突变一个或更多个HVR残基并在噬菌体上展示变体抗体并针对特定生物活性(例如结合亲和力)进行筛选。

[0640] 可以在HVR中进行改变(例如,取代),例如,以改善抗体亲和力。这种改变可以在HVR“热点”(即由在体细胞成熟过程中经历高频突变的密码子编码的残基)(参见,例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196(2008)),和/或接触抗原的残基中进行,测试所得变体VH或VL的结合亲和力。通过构建二级文库并从中重新选择的亲和力成熟已经描述在例如在Hoogenboom等, in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O' Brien等, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))。在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法中的任何一种(例如,易错PCR、链改组或寡核苷酸定向诱变)将多样性引入选择用于成熟的可变基因中。然后创建二级文库。然后筛选文库以鉴定具有所需亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及HVR定向方法,其中几个HVR残基(例如,每次4-6个残基)被随机化。参与抗原结合的HVR残基可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模特异性地鉴定。特别是CDR-H3和CDR-L3常常被靶向。

[0641] 在某些实施方案中,取代、插入或缺失可以在一个或更多个HVR内发生,只要此类改变基本上不会降低抗体结合抗原的能力。例如,可以在HVR中进行基本上不降低结合亲和力的保守改变(例如,如本文提供的保守取代)。例如,此类改变可以在HVR中的抗原接触残基之外。在上文提供的变体VH和VL序列的某些实施方案中,每个HVR要么未改变,要么含有不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0642] 鉴定可以靶向诱变的抗体的残基或区域的有用方法,称作“丙氨酸扫描诱变”,如由Cunningham和Wells(1989) *Science*, 244:1081-1085所描述的。在此方法中,鉴定残基或靶残基的组(例如,带电荷的残基,诸如arg、asp、his、lys和glu),并用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或聚丙氨酸)将其取代以确定抗体和抗原的相互作用是否受到影响。可以在对初始取代表明功能敏感性的氨基酸位置引入进一步的取代。或者,或此外,可分析抗原-抗体复合物的晶体结构来鉴定抗体与抗原间的接触点。此类接触残基和邻近残基可以作为取代的候选者被靶向或消除。可以筛选变体以确定它们是否含有所需的特性。

[0643] 氨基酸序列插入包括长度范围从1个残基至含有100或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括增加抗体的血浆半衰期的酶(例如对于ADEPT)或多肽与抗体的N或C端的融合物。

[0644] b) 糖基化变体

[0645] 在某些实施方案中,改变本文中提供的抗体以增加或减少抗体糖基化的程度。向抗体添加或缺失糖基化位点可以通过改变氨基酸序列以便产生或除去一个或更多个糖基化位点而方便地完成。

[0646] 当抗体包含Fc区时,可以改变与其相连的碳水化合物。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含分支的、二触角寡糖,其通常通过N连接连接至Fc区的CH2结构域的Asn297。参见,例如,Wright等, *TIBTECH* 15:26-32(1997)。寡糖可以包括多种碳水化合物,例

如,甘露糖、N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及连接于二触角寡糖结构的“茎干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中,可以对本发明的抗体中的寡糖进行修饰以创建具有某些改善的特性的抗体变体。

[0647] c)Fc区变体

[0648] 在某些实施方案中,可以将一个或更多个氨基酸修饰引入本文中提供的抗体的Fc区中,由此生成Fc区变体。Fc区变体可以包含在一个或更多个氨基酸位置包含氨基酸修饰(例如取代)的人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区)。

[0649] 在某些实施方案中,本发明考虑具有一些但不是所有效应子功能的抗体变体,所述效应子功能使其成为用于如下应用的期望候选物,其中抗体的体内半衰期是重要的,而某些效应子功能(诸如补体和ADCC)是不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定以确认CDC和/或ADCC活性的降低/损耗。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确保抗体缺乏Fc $\gamma$ R结合(因此有可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。用于介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc $\gamma$ RIII,而单核细胞表达Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RII和Fc $\gamma$ RIII。在Ravetch和Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492(1991)的第464页上的表3中总结了造血细胞上的FcR表达。评估目标分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例描述于美国专利No.5,500,362(参见,例如Hellstrom, I.等, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063(1986))以及Hellstrom, I等, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502(1985);5,821,337(参见Bruggemann, M.等, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361(1987))。或者,可以采用非放射性测定方法(参见,例如用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA;和CytoTox 96(注册商标)非放射性细胞毒性测定(Promega, Madison, WI)。对于此类测定有用的效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。或者,或另外,可以在体内,例如在动物模型(诸如公开于Clynes等, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656(1998))中评估目标分子的ADCC活性。也可以进行C1q结合测定以确认抗体不能结合C1q,并且因此缺乏CDC活性。参见,例如,WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可以进行CDC测定(参见,例如, Gazzano-Santoro等, *J. Immunol. Methods* 202:163(1996); Cragg, M. S.等, *Blood* 101:1045-1052(2003);和Cragg, M. S.和M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743(2004))。也可以使用本领域中已知的方法进行FcRn结合和体内清除/半衰期测定(参见,例如, Petkova, S. B.等, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769(2006))。

[0650] 描述了与FcR具有增加的或减少的结合的某些抗体变体(参见,例如,美国专利No.6,737,056;WO 2004/056312,和Shields等, *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604(2001))。

[0651] 具有增加的半衰期和增加的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体描述于US2005/0014934A1(Hinton等),新生儿Fc受体(FcRn)负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等, *J. Immunol.* 117:587(1976)和Kim等, *J. Immunol.* 24:249(1994))。那些抗体包含其中具有一个或更多个取代的Fc区,所述取代增加Fc区与FcRn的结合。此类Fc变体包括在以下一个或更多个Fc区残基处具有取代的那些:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434,例如, Fc区残基434的取代(美国专利No.7,371,826)。

[0652] 还参见Duncan&Winter, *Nature* 322:738-40(1988);美国专利No.5,648,260;美国

专利No.5,624,821;和WO 94/29351(其涉及Fc区变体的其它实例)。

[0653] d) 半胱氨酸改造的抗体变体

[0654] 在某些实施方案中,可能需要产生半胱氨酸改造的抗体,例如“thioMAbs”,其中抗体的一个或更多个残基用半胱氨酸残基取代。在特定的实施方案中,经取代的残基出现在抗体的可及位点(accessible site)。通过用半胱氨酸取代那些残基,反应性硫醇基团因此定位在抗体的可及位点并且可以用于将抗体与其他部分(诸如药物部分或接头-药物部分)缀合,以产生免疫缀合物,如本文进一步描述的。在某些实施方案中,以下残基中的任何一个或更多个可以用半胱氨酸取代:轻链的V205(Kabat编号);重链的A118(EU编号);和重链Fc区的S400(EU编号)。半胱氨酸改造的抗体可以如例如美国专利No.7,521,541中所述生成。

[0655] e) 抗体衍生物

[0656] 在某些实施方案中,可以进一步修饰本文提供的抗体以含有本领域已知的且易于获得的额外的非蛋白质的(nonproteinaceous)部分。适合于抗体衍生化的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包括但不限于聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或随机共聚物)、和葡聚糖或聚(n-烷基吡咯烷酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由于其在水中的稳定性而在制造中具有优势。所述聚合物可以是任意分子量,并且可以是分支的或不分支的。连接至抗体上的聚合物数目可以变化,而且如果连接了超过一个聚合物,那么它们可以是相同或不同的分子。通常,可基于下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于要改进的抗体具体特性或功能、抗体衍生物是否将用于限定的条件下的治疗等。

[0657] 在另一个实施方案中,提供了可以通过暴露于辐射而选择性加热的抗体和非蛋白质的部分的缀合物。在一个实施方案中,非蛋白质的部分是碳纳米管(Kam等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005))。辐射可以是任意波长的,且包括但不限于,不损害普通细胞但可以将非蛋白质的部分加热到杀死接近抗体-非蛋白质的部分的细胞的温度的波长。

[0658] B. 重组方法和组合物

[0659] 可以使用重组方法和组合物来产生抗体,例如,如描述于美国专利No.4,816,567中。在一个实施方案中,提供了编码本文所述的与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗体的分离的核酸。此类核酸可以编码包含抗体的VL的氨基酸序列和/或包含抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在进一步的实施方案中,提供了包含此类核酸的一种或更多种载体(例如,表达载体)。在进一步的实施方案中,提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个此类实施方案中,宿主细胞包含(例如,已经用下述载体转化):(1)包含核酸的载体,所述核酸编码包含抗体的VL的氨基酸序列和包含抗体的VH的氨基酸序列,或(2)第一载体和第二载体,所述第一载体包括编码包含抗体的VL的氨基酸序列的核酸,所述第二载体包括编码包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施方案中,宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如,Y0、NS0、Sp2/0细胞)。在一个实施方案中,提供了制备与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗体的方法,其中该方法包括在适合于

表达与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗体的条件下培养包含编码如上文提供的抗体的核酸的宿主细胞,并且任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0660] 对于与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗体的重组产生,分离编码抗体的核酸(例如如上文所述的),并将其插入一种或更多种载体中,以在宿主中进一步克隆和/或表达。此类核酸可以使用常规程序容易地分离并测序(例如,通过使用寡核苷酸探针,所述寡核苷酸探针能够特异性结合至编码抗体的重链和轻链的基因)。

[0661] 用于克隆或表达抗体编码载体的合适的宿主细胞包括本文中所述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生抗体,特别是在不需要糖基化和Fc效应子功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如美国专利No.5,648,237,5,789,199和5,840,523。(还参见Charlton,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,ed.,Humana Press,Totowa,NJ,2003),pp.245-254,其描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达)。表达后,可以从可溶性级分中的细菌细胞糊分离抗体,并可以进一步纯化。

[0662] 除了原核生物外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母是用于抗体编码载体的合适的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经“人源化”,导致产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体的真菌和酵母菌株。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004);及Li等,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0663] 适合于表达糖基化抗体的宿主细胞也源自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已经鉴定出许多杆状病毒菌株,其可以与昆虫细胞一起使用,特别是用于转染草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞。

[0664] 也可以利用植物细胞培养物作为宿主。参见,例如美国专利No.5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429(其描述了用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0665] 也可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适合于悬浮生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人胚胎肾细胞系(293或293细胞,如描述于例如Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)中);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠支持细胞(*Sertoli cell*) (TM4细胞,如描述于例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);水牛鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如描述于例如Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中;MRC 5细胞;和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,其包括DHFR<sup>-</sup>CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系,例如Y0、NS0和Sp2/0。关于适用于抗体生产的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见,例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,ed.,Humana Press,Totowa,NJ),pp.255-268(2003)。

[0666] C. 测定

[0667] 通过本领域中已知的多种测定法,可以对本文中提供的与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子就其物理/化学特性和/或生物学活性进行鉴定、筛选或表征。

[0668] 1. 结合测定和其他测定

[0669] 在一个方面,例如通过已知方法诸如ELISA、Western印迹等测试本发明的抗体的抗原结合活性。

[0670] 在另一方面,竞争测定法可用于鉴定与本文所述的结合FIX和/或FIXa以及FX的任何多特异性抗体竞争结合FIX和/或FIXa以及FX的抗体。在某些实施方案中,此类竞争性抗体与本文所述的结合FIX和/或FIXa以及FX的多特异性抗体结合相同的表位(例如,线性或构象表位)。用于绘制抗体结合的表位的详细示例性方法提供在Morris (1996) “Epitope Mapping Protocols,” in *Methods in Molecular Biology* vol.66 (Humana Press, Totowa,NJ) 中。

[0671] 在示例性竞争测定中,将固定化的FIX、FIXa或FX在包含结合FIX、FIXa或FX的第一标记抗体(例如,本文所述的任何抗体)和正在测试其与第一抗体竞争结合FIX、FIXa或FX的能力的第二未标记抗体的溶液中温育。所述第二抗体可以存在于杂交瘤上清液中。作为对照,将固定化的FIX、FIXa或FX在包含第一标记抗体但不包含第二未标记抗体的溶液中温育。在允许第一抗体与FIX、FIXa或FX结合的条件下温育后,除去过量的未结合的抗体,并测量与固定化的FIX、FIXa或FX结合的标记的量。如果相对于对照样品,测试样品中与固定化的FIX、FIXa或FX结合的标记的量实质性减少,则表明第二抗体与第一抗体竞争结合FIX、FIXa或FX。参见Harlow和Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

[0672] 2. 活性测定

[0673] 在一方面,提供了用于鉴定与FIX和/或FIXa以及FX结合并具有生物学活性的多特异性抗原结合分子的生物学活性的测定法。生物学活性可以包括例如促进FXa生成的活性。还提供了在体内和/或体外具有此类生物学活性的多特异性抗原结合分子。

[0674] 在某些实施方案中,测试本发明的抗体的此类生物学活性。“FVIII辅因子功能替代活性”意指,例如,在使用比色定量法通过FIXa的FX活化反应的测试中增加吸光度的活性,以及使用血友病A血清在凝血酶生成测试中计算出的增加凝血酶生成量的活性。

[0675] 使用比色定量法,可以评估FVIII辅因子功能替代活性,具体地,通过在包含本发明的多特异性抗原结合分子和例如FIXa、FX、合成底物S-2222 (FXa的合成底物) 和磷脂的测量系统中对其评估。例如,可以通过以下方法进行测量。所有反应均在室温下进行。用含有0.1%牛血清白蛋白的Tris缓冲生理盐水(以下称为TBSB)稀释的5 $\mu$ L抗体溶液与5 $\mu$ L 150ng/mL人因子IXa $\beta$  (酶研究实验室 (Enzyme Research Laboratories)) 混合,然后将其在384孔板中室温温育30分钟。该混合物中的酶反应通过加入5 $\mu$ L的24.7 $\mu$ g/mL人因子X (酶研究实验室) 引发,4分钟后,加入5 $\mu$ L的0.5M EDTA终止反应。通过加入5 $\mu$ L显色底物溶液引发显色反应。在30分钟的显色反应后,使用SpectraMax 340PC384 (Molecular Devices) 测量405nm处的吸光度变化。人因子IXa $\beta$ 和人因子X的溶剂是含有4.0 $\mu$ M磷脂溶液 (SYSMEX CO.) 和1.5mM CaCl<sub>2</sub>的TBSB。将S-2222 (SEKISUI MEDICAL) 溶于纯净水中,以提供1.47mg/mL的显色底物溶液,并将其用于此测定。该测量系统显示了与在血友病A病例中疾病严重程度和临床症状的相关性 (Rosen S, Andersson M, Blomback M等, *Clinical applications of a chromogenic substrate method for determination of FVIII activity. Thromb Haemost* 1985;54:811-23)。

[0676] 使用凝血酶生成测试,可以评估FVIII辅因子功能替代活性,具体地,通过使用包

含本发明的多特异性抗原结合分子和例如FVIII缺陷型血浆、活化的凝血因子XI、磷脂、荧光缓冲液(Fluo-buffer)和荧光底物(Fluo-Substrate)(FluCa-Kit;凝血酶的合成底物)的测量系统。例如,可以通过以下方法进行测量。将8 $\mu$ L用TBSB稀释的双特异性抗体添加到72 $\mu$ L FVIII缺陷血浆(George King)中,并将其在室温下温育30分钟或更长时间。随后,添加20 $\mu$ L触发溶液,其含有20 $\mu$ M磷脂和5ng/mL人因子XIa(酶研究实验室)。然后,通过加入20 $\mu$ L FluCa-Kit(Thrombinoscope)的荧光缓冲液和荧光底物的混合溶液来引发凝血反应。可以使用凝血酶生成荧光测量和分析系统(Thrombinoscope)评估凝血酶生成的量。使用血友病A血浆的凝血酶生成测试显示了血友病A病例的一般凝血活性,且与该疾病的临床症状相关(Shima M,Matsumoto T&Ogiwara K.New assays for monitoring haemophilia treatment.Haemophilia 2008;14:83-92)。

[0677] 术语“FIX活化抑制活性”是指使用比色定量法通过FXIa的FIX活化反应中的吸光度减小。具体地,进行以下方法。将用TBSB稀释的5 $\mu$ L抗体溶液与5 $\mu$ L 3U/mL人因子IX(Christmassin M,日本血液制品机构)混合,然后将其在384孔板中室温温育30分钟。该混合物中的酶反应通过加入5 $\mu$ L 90ng/mL人因子XIa(酶研究实验室)引发,并在60分钟后,通过加入5 $\mu$ L 0.5M EDTA终止。通过加入10 $\mu$ L显色底物溶液引发显色反应。在60分钟的显色反应后,使用SpectraMax 340PC384(Molecular Devices)测量405nm处的吸光度变化。人因子IX和人因子XIa的溶剂是含有6.0 $\mu$ M磷脂溶液(SYSMEX CO.)和1.5mM CaCl<sub>2</sub>的TBSB。将Spectrozyme FIXa(Sekisui Diagnostics)溶于纯净水中,以提供6.7mM的显色底物溶液,并将其与乙二醇以5:8混合,并用于此测定。

[0678] 参照US 2014/0080153(WO 2012/093704),可以通过以下程序评估抗体与ECM(细胞外基质)的结合。用2mg/mL TBS稀释无ECM酚红(BD Matrigel#6137013),并将5 $\mu$ L此稀释液滴入板的每个孔的中心以进行ECL测量(L15XB-6,MSD高结合),在冰上冷却。然后,用板封将其密封,并在4 $^{\circ}$ C下放置过夜。接下来,用ACES-T(20mM ACES,150mM NaCl,pH 7.4或pH 5.8,补充0.01% Tween 20)将抗体样品稀释至9 $\mu$ g/mL。用ECLDB(补充0.1% BSA和0.01% Tween 20的ACES)将二级抗体稀释至2 $\mu$ g/mL。将25 $\mu$ L抗体溶液加入到圆底板上,每个孔中等分50 $\mu$ L ECLDB。从含有ECL封闭缓冲液的ECM板中通过倾斜除去ECL封闭缓冲液,然后将50 $\mu$ L上述每种抗体溶液加入到该板中。然后,将其在室温下搅拌一个小时。通过倾斜除去样品后,向每个孔中加入50 $\mu$ L 0.25%戊二醛(用ACES-T制备),且将其在室温下放置10分钟。每个孔用PBS-T(补充有0.05% Tween 20的PBS)洗涤3次,并向每个孔中加入50 $\mu$ L用ECLDB稀释至1 $\mu$ g/mL的二级抗体,并将其在室温下避光搅拌1小时。然后,将150 $\mu$ L READ缓冲液(MSD)加入到每个孔中,并使用MESO SECTOR S600(Meso Scale Discovery)检测利用碘基标签的发光信号。

[0679] F. 药物制剂

[0680] 通过将具有所需纯度的此类多特异性抗原结合分子与一种或更多种任选的药学上可接受的载体(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition,Osol,A.Ed.(1980))(以冻干制剂或水溶液形式)混合,来制备如本文所述的与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子的药物制剂。药学上可接受的载体通常在所采用的剂量和浓度下对受体无毒,且包括但不限于:缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化己烷双胺;苯扎

氯铵;苜蓿氯铵;苯酚,丁醇或苯甲醇;烷基对羟基苯甲酸酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清白蛋白、明胶、或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯基吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖,诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐的抗衡离子,诸如钠;金属络合物(例如锌蛋白络合物);和/或非离子表面活性剂,诸如聚乙二醇(PEG)。本文中的示例性的药理学上可接受的载体进一步包括间质药物分散剂,诸如可溶性中性-活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如,人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,诸如rHuPH20(HYLENE(注册商标),Baxter International, Inc.)。某些示例性sHASEGP及使用方法,包括rHuPH20,描述于美国专利公开No.2005/0260186和2006/0104968。在一个方面,将sHASEGP与一种或更多种额外的糖胺聚糖酶(glycosaminoglycanase)(诸如软骨素酶)组合。

[0681] 示例性的冻干抗体制剂描述于美国专利No.6,267,958中。水性抗体制剂包括美国专利No.6,171,586和W02006/044908中描述的那些,后面的制剂包括组氨酸-乙酸盐缓冲剂。

[0682] 本文的制剂还可含有一种以上的活性成分,这些活性成分对于所治疗的具体适应证是必需的,优选那些具有互补活性但不会相互产生不利影响的活性成分。例如,可能需要进一步提供FVIII、FVII、FIX、TFPI抑制剂,靶向抗凝血酶的siRNA;更具体地,Advate、Adynovate、Feiba、NovoSeven、NovoEight、N8-GP、N9-GP、康珠单抗(Concizumab)、Elocta和Fitusiran。此类活性成分适当地以对于预期目的有效的量组合存在。FVIII、FVII和FIX可以包括其Fc融合物及PEG融合物。

[0683] 活性成分可包埋于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中(例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊),包埋在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球体、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊)中,或包埋在粗乳剂(macroemulsion)中。此类技术公开于Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)中。

[0684] 可以制备缓释制剂。缓释制剂的合适的例子包括含有多特异性抗原结合分子的固体疏水性聚合物的半透性基质,该基质为成形制品形式,例如膜或微胶囊。

[0685] 用于体内施用的制剂通常是无菌的。无菌可以容易地实现,例如通过无菌滤膜过滤。

[0686] G. 治疗方法和组合物

[0687] 本文提供的与FIX和/或FIXa以及FX结合的任何多特异性抗原结合分子均可用于治疗。

[0688] 在一方面,提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子,其用作药物。在另一方面,提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子用于治疗出血,涉及出血的疾病或由出血引起的疾病。在某些实施方案中,提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子用于治疗的方法。在某些实施方案中,本发明提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子,用于治疗具有出血,涉及出血的疾病或由出血引起的疾病的个体的方法,包括向个体施用有效量的与FIX和/或FIXa以及FX结合

的多特异性抗原结合分子。在一个此类实施方案中,所述方法进一步包括向所述个体施用有效量的至少一种额外的治疗剂,例如如下所述。在进一步的实施方案中,本发明提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子,用于替代FVIII辅因子功能。在某些实施方案中,本发明提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子,用于在个体中替代FVIII辅因子功能的方法,包括向个体施用有效的与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子以替代FVIII辅因子功能。根据任何一个以上实施方案中的“个体”优选地是人。在本发明中,“出血,涉及出血的疾病或由出血引起的疾病”优选是由于FVIII和/或活化的凝血因子VIII (FVIIIa) 的活性降低或缺乏而形成和/或进展的疾病。此类疾病包括上述血友病A、血友病B、血友病C,出现针对FVIII/FVIIIa的抑制剂的疾病,获得性血友病和血管性血友病,但不特别限于此。

[0689] 在另一方面,本发明提供了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子在药物的制造或制备中的用途。在一个实施方案中,所述药物用于治疗出血、涉及出血的疾病或由出血引起的疾病。在进一步的实施方案中,所述药物用于治疗出血、涉及出血的疾病或由出血引起的疾病的方法,包括向具有出血、涉及出血的疾病或由出血引起的疾病的个体施用有效量的所述药物。在一个此类实施方案中,所述方法进一步包括向所述个体施用有效量的至少一种额外的治疗剂,例如如下所述。在进一步的实施方案中,所述药物用于替代FVIII辅因子功能。在进一步的实施方案中,所述药物用于在个体中替代FVIII辅因子功能的方法,其包括向所述个体施用有效量的所述药物以替代FVIII辅因子功能。根据任何一个以上实施方案中的“个体”可以是人。在本发明中,“出血,涉及出血的疾病或由出血引起的疾病”优选是由于FVIII和/或FVIIIa的活性降低或缺乏而形成和/或进展的疾病。此类疾病包括上述血友病A、血友病B、血友病C,出现针对FVIII/FVIIIa的抑制剂的疾病,获得性血友病和血管性血友病,但不特别限于此。

[0690] 在另一方面,本发明提供用于治疗出血,涉及出血的疾病或由出血引起的疾病的方法。在一个实施方案中,所述方法包括向具有出血,涉及出血的疾病或由出血引起的疾病的个体施用有效量的与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子。在一个此类实施方案中,所述方法进一步包括向所述个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂,如下所述。根据任何一个以上实施方案中的“个体”可以是人。

[0691] 在另一方面,本发明提供在个体中替代FVIII辅因子功能的方法。在一个实施方案中,所述方法包括向个体施用有效量的与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子,以替代FVIII辅因子功能。在一个实施方案中,“个体”是人。

[0692] 在另一方面,本发明提供药物制剂,其包含本文提供的与FIX和/或FIXa以及FX结合的任何多特异性抗原结合分子,例如用于任何以上治疗方法。在一个实施方案中,药物制剂包含本文提供的与FIX和/或FIXa以及FX结合的任何多特异性抗原结合分子和药学上可接受的载体。在另一个实施方案中,药物制剂包含本文提供的与FIX和/或FIXa以及FX结合的任何多特异性抗原结合分子和至少一种额外的治疗剂,例如如下所述。

[0693] 本发明的多特异性抗原结合分子可在治疗中单独使用或与其他药剂组合使用。例如,本发明的抗体可与至少一种额外的治疗剂共同施用。在某些实施方案中,额外的治疗剂是,例如,FVIII、FVII、FIX、TFPI抑制剂,靶向抗凝血酶的siRNA;更具体地,Advate、Adynovate、Feiba、NovoSeven、NovoEight、N8-GP、N9-GP、康珠单抗 (Concizumab), Elocta和

Fitusiran.FVIII、FVII和FIX可以是其Fc融合物及PEG融合物。

[0694] 上文提到的此类组合疗法涵盖联合施用(其中两种或更多种治疗剂包括在相同或分开的制剂中)和单独施用,在这种情况下,本发明的多特异性抗原结合分子的施用可以发生在施用所述额外的治疗剂或药剂之前、同时和/或之后。在一个实施方案中,与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子的施用,和额外的治疗剂的施用彼此在约一个月、两个月内、三个月内、四个月内、五个月内或六个月内,或在约一、二或三周内,或在约一、二、三、四、五或六天内发生。

[0695] 本发明的多特异性抗原结合分子(和任何额外的治疗剂)可通过任何适合的手段施用,包括肠胃外、肺内、和鼻内,以及若期望用于局部治疗,病灶内施用。肠胃外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内、或皮下施用。给药可以通过任何合适的途径,例如,通过注射,诸如静脉内或皮下注射,部分取决于施用是短暂的或长期的。本文中考虑各种给药方案,包括但不限于单次施用或在多个时间点的多次施用、推注施用、和脉冲输注。

[0696] 本发明的多特异性抗原结合分子将以一种符合良好医学实践的方式配制、确定剂量及施用。在此情况下考虑的因素包括正在治疗的特定病症,正在治疗的特定哺乳动物,个体患者的临床病况,病症的原因,药剂的递送部位,施用方法,施用时间表,以及医疗从业者已知的其他因素。该多特异性抗原结合分子不是必须的,而是任选地与目前用于预防或治疗所讨论的病症的一种或更多种药剂一起配制。此类其他药剂的有效量取决于制剂中存在的多特异性抗原结合分子的量,病症或治疗的类型以及上面讨论的其他因素。这些通常以与本文所述相同的剂量和施用途径使用,或以本文所述的剂量的约1-99%,或以经验/临床确定为合适的任何剂量和任何途径使用。

[0697] 为了预防或治疗疾病,本发明的多特异性抗原结合分子(当单独或与一种或更多种其它额外的治疗剂联合使用时)的合适剂量将取决于所要治疗的疾病的类型,多特异性抗原结合分子的类型,疾病的严重程度和病程,是否施用所述多特异性抗原结合分子用于预防或治疗目的,之前的治疗,患者的临床史和对所述抗体的响应,以及主治医师的判断。所述多特异性抗原结合分子一次或经过一系列治疗适当地施用于患者。根据疾病的类型和严重程度,约1 $\mu$ g/kg至15mg/kg(例如0.1mg/kg-10mg/kg)的多特异性抗原结合分子可作为初始候选剂量用于向患者施用,不论,例如,通过一种或更多种单独施用,或通过连续输注。根据上述因素,一种典型的日剂量可能范围为约1 $\mu$ g/kg至100mg/kg或更多。对于几天或更长时间内的重复施用,根据病况,治疗一般将持续直至发生对疾病症状的所需的抑制。多特异性抗原结合分子的一种示例性剂量将在约0.05mg/kg至约10mg/kg的范围内。因此,可以向患者施用约0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg或10mg/kg的一种或更多种剂量(或其任意组合)。此类剂量可以间歇地施用,例如,每周或每三周(例如使患者接受约二至约二十,或例如约六剂量的多特异性抗原结合分子)。可以施用初始较高的负荷剂量,随后施用一个或更多个较低剂量。然而,其他剂量方案可能是有用的。通过常规技术和测定法很容易监测该疗法的进展。

[0698] 应当理解,任何上述制剂或治疗方法可以使用本发明的免疫缀合物代替与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子实施或除了与FIX和/或FIXa以及FX结合的多特异性抗原结合分子之外还可以使用本发明的免疫缀合物实施。

[0699] H. 制品

[0700] 在本发明的另一方面,提供了一种制品,其含有用于治疗、预防和/或诊断上述的病症的材料。制品包含容器和容器上的标签或与容器联合的包装插页。合适的容器包括例如瓶、小瓶、注射器、IV溶液袋等。所述容器可以由多种材料诸如玻璃或塑料形成。所述容器容纳单独的或与另一种组合物组合的有效治疗、预防和/或诊断病况的组合物,并且可以具有无菌存取口(例如,所述容器可以是具有由皮下注射针可穿刺的塞子的静脉内溶液袋或小瓶)。组合物中的至少一种活性成分是本发明的多特异性抗原结合分子。标签或包装插页指示组合物用于治疗选择的病况。此外,制品可以包含(a)其中含有组合物的第一容器,其中所述组合物包含本发明的多特异性抗原结合分子;和(b)其中含有组合物的第二容器,其中所述组合物包含另外的细胞毒性或其他的治疗剂。在本发明的此实施方案中的制品可以进一步包含包装插页,其指示组合物可用于治疗特定的病况。或者,或此外,制品可以进一步包含第二(或第三)容器,其包含药学上可接受的缓冲液,诸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸缓冲盐水、林格氏(Ringer's)溶液和右旋糖溶液。它可以进一步包括从商业和用户观点所需的其他材料,包括其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针和注射器。

[0701] 本发明的另一个实施方案涉及其中重链和轻链的缔合受到调节的抗原结合分子,其中重链和轻链的缔合受到调节的抗原结合分子的制造方法,以及调节抗原结合分子中的重链和轻链的缔合的方法。

[0702] 本发明的抗原结合分子涉及其中重链和轻链的缔合受到调节的抗原结合分子,其中构成抗原结合分子的重链和轻链是目标重链和轻链的组合,且其中重链恒定区(CH1)和轻链恒定区(CL)中给定位置的氨基酸残基是相互电排斥的氨基酸残基(具有相同的电荷)。

[0703] 在本发明中,通过使重链和轻链非所需的组合的CH1和CL中给定位置处的氨基酸残基成为相互静电排斥(即,具有相同电荷)的氨基酸残基,通过利用这种电荷排斥,可以防止重链和轻链非所需的组合的形成,结果,可以形成所需的重链和轻链的组合。

[0704] 在本发明中,短语“调节缔合”和“缔合受到调节”是指调节以达到所需的缔合条件,且更具体地是指调节以使得在重链和轻链之间不形成非所需的缔合。

[0705] 在本发明中,术语“界面”一般是指由缔合(相互作用)产生的缔合表面,并且形成界面的氨基酸残基通常是参与缔合的多肽区中包括的一个或更多个氨基酸残基,且更优选是在缔合过程中彼此接近并参与相互作用的氨基酸残基。更具体地,这种相互作用包括,例如,在缔合过程中氨基酸残基接近以彼此间形成氢键、静电相互作用或盐桥的例子。

[0706] 在本发明中,短语“形成界面的氨基酸残基”更具体地是指构成界面的多肽区中包括的氨基酸残基。例如,构成界面的多肽区是指负责分子(诸如抗原结合分子(例如抗体)、配体、受体或底物)之间选择性结合的多肽区。更具体地,在抗原结合分子中,此类实例包括重链恒定区、重链可变区、轻链恒定区和轻链可变区。

[0707] 在本发明中,氨基酸残基的“修饰”具体是指取代原始氨基酸残基为其他氨基酸残基,缺失原始氨基酸残基,加入新的氨基酸残基,等等,但优选是指将一个或更多个原始氨基酸残基取代为其他氨基酸残基。

[0708] 在本发明的抗原结合分子的一个优选实施方案中,该抗原结合分子具有在缔合调节前,重链和轻链的非所需的组合的CH1和CL中给定位置处电排斥(其具有相同的电荷)的氨基酸残基。

[0709] 通过将前述抗原结合分子中的氨基酸残基修饰成相互静电排斥(具有相同电荷)

的氨基酸残基,可以认为这些氨基酸残基的缔合受到电荷排斥力的抑制。

[0710] 因此,在前述抗原结合分子中,修饰的氨基酸残基优选是在形成界面的多肽区中缔合时彼此接近的氨基酸残基。

[0711] 缔合期间接近的氨基酸残基可以通过例如分析多肽的三维结构,并研究在多肽缔合期间形成界面的多肽区的氨基酸序列来确定。相互彼此接近的界面处的氨基酸残基是本发明的抗原结合分子中“修饰”的优选靶标。

[0712] 已知某些氨基酸是带电荷的。通常,已知赖氨酸(K)、精氨酸(R)和组氨酸(H)是具有正电荷的氨基酸(带正电荷的氨基酸)。已知天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)等是具有负电荷的氨基酸(带负电荷的氨基酸)。另外,丙氨酸(A)、天冬酰胺(N)、半胱氨酸(C)、谷氨酰胺(Q)、甘氨酸(G)、异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)、苯丙氨酸(F)、脯氨酸(P)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)、色氨酸(W)、酪氨酸(Y)、缬氨酸(V)等是已知不具有电荷的氨基酸,或非极性氨基酸。

[0713] 因此,本发明中相互静电排斥的氨基酸(具有相同的电荷)是指:

[0714] (1)氨基酸,其中一个氨基酸是带正电荷的氨基酸且另一个氨基酸也是带正电荷的氨基酸,和

[0715] (2)氨基酸,其中一个氨基酸是带负电荷的氨基酸且另一个氨基酸也是带负电荷的氨基酸。

[0716] 可以根据本领域已知的各种方法来修饰氨基酸。这些方法的实例包括但不限于定点诱变(Hashimoto-Gotoh, T., Mizuno, T., Ogasahara, Y. 和 Nakagawa, M. (1995) An oligodeoxyribonucleotide-directed dual amber method for site-directed mutagenesis, *Gene* 152, 271-275; Zoller, M. J. 和 Smith, M. (1983) Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors, *Methods Enzymol.* 100, 468-500; Kramer, W., Drutsa, V., Jansen, H. W., Kramer, B., Pflugfelder, M. 和 Fritz, H. J. (1984) The gapped duplex DNA approach to oligonucleotide-directed mutation construction, *Nucleic Acids Res.* 12, 9441-9456; Kramer, W. 和 Fritz, H. J. (1987) Oligonucleotide-directed construction of mutations via gapped duplex DNA, *Methods Enzymol.* 154, 350-367; Kunkel, T. A. (1985) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 488-492), PCR诱变,盒式诱变等。

[0717] 氨基酸修饰的实例包括将不带电荷的氨基酸或非极性氨基酸修饰为带正电荷的氨基酸,将不带电荷的氨基酸或非极性氨基酸修饰为带负电荷的氨基酸,将带正电荷的氨基酸修饰为带负电荷的氨基酸,以及将带负电荷的氨基酸修饰为带正电荷的氨基酸。此外,将不带电荷的氨基酸或非极性氨基酸修饰为不同的不带电荷或非极性氨基酸,将带正电荷的氨基酸修饰为不同的带正电荷的氨基酸,以及将带负电荷的氨基酸修饰为不同的带负电荷的氨基酸也包括在本发明的氨基酸修饰中。

[0718] 在本发明中修饰氨基酸包括在每个重链和轻链中进行一个修饰,或每个重链和轻链进行多个修饰。另外,加入重链和轻链的修饰的数目可以是相同的或不同的。

[0719] 在本发明中修饰氨基酸包括在重链或轻链上进行多个修饰为带正电荷的氨基酸,以及在另一链上进行多个修饰为带负电荷的氨基酸。此外,可以在相同的重链或轻链上进

行多个修饰为带正电荷的氨基酸以及进行多个修饰为带负电荷的氨基酸。在这些修饰中,修饰为不带电荷的氨基酸或非极性氨基酸以及不带电荷的氨基酸或非极性氨基酸的修饰也可以适当地组合。

[0720] 在本发明的修饰中,例如,在一条链上的氨基酸可以按原样不经修饰使用,且在这种情况下,重链和轻链不需要都被修饰,仅一条链可以被修饰。

[0721] 尽管在本发明的抗原结合分子中对要进行修饰的氨基酸残基的数目没有特别限制,例如,当修饰抗体的恒定区时,为了不降低对抗原的结合活性和为了不增加免疫原性,优选修饰尽可能少数的氨基酸残基。前述的“少数”是指,例如,约1至30的数目,优选约1至20的数目,甚至更优选约1至15的数目,且最优选1至5的数目。

[0722] 本发明的抗原结合分子的轻链恒定区优选为人轻链恒定区。抗体轻链恒定区的实例包括IgK( $\kappa$ )、IgL1、IgL2、IgL3、IgL6和IgL7( $\lambda$ )型恒定区。本发明的抗原结合分子的轻链恒定区没有特别限制;当使用多种类型的轻链时,轻链可以是不同类型的轻链,例如, $\kappa$ 和 $\lambda$ 。通过遗传多态性获得的几种同种异型序列在“Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH Publication No.91-3242”中描述为人IgK( $\kappa$ )恒定区和人IgL7( $\lambda$ )恒定区,且这些中的任何一个均可用于本发明。

[0723] 抗体恒定区,特别是重链恒定区,可以根据需要进行修饰,以改善抗原结合分子的功能或稳定性。用于改善抗原结合分子的功能的修饰的实例包括增强或减弱抗原结合分子与Fc $\gamma$ 受体(Fc $\gamma$ R)之间的结合的修饰,增强或减弱抗原结合分子和FcRn之间的结合的修饰,增强或减弱抗原结合分子的细胞毒性活性(诸如ADCC活性和CDC活性)的修饰等。另外,还可以包括改善抗原结合分子的异质性的修饰和改善免疫原性和/或药代动力学的修饰。

[0724] 此外,作为IgG抗体的重链C末端序列的异质性,通过缺失C末端氨基酸,赖氨酸残基或通过缺失两个C末端氨基酸,甘氨酸和赖氨酸来酰胺化C末端羧基已被报道(Anal.Biochem.2007 Jan 1:360(1):75-83)。

[0725] 因此,在本发明中,为了降低重链C末端的异质性,优选使用已缺失C末端赖氨酸或C末端赖氨酸和甘氨酸的IgG。

[0726] 由于在人体中它们的抗原性已经减弱,因此当出于治疗目的等向人施用,预期使用人源序列的嵌合和人源化抗体将是有益的。

[0727] 本发明的抗原结合分子的优选实例是具有两种或更多种类型的CH1和两种或更多种类型的CL的异聚多聚体。该异聚多聚体优选结合两种或更多种类型的表位,并且其实例是多特异性抗体。

[0728] 本发明的多特异性抗体的优选实例是双特异性抗体。因此,本发明的抗原结合分子的优选实施方式的实例是由两种类型重链(第一重链和第二重链)和两种类型的轻链(第一轻链和第二轻链)组成的双特异性抗体。

[0729] 更准确地描述本发明的抗原结合分子的优选实施方案的“双特异性抗体”,上述“第一重链”是指形成抗体的两条重链(H链)之一,并且“第二H链”是指不同于第一H链的另一H链。即,在两个H链中,可以任意地将其中一个定义为第一H链,且可以将另一个定义为第二H链。同样地,“第一轻链”是指形成双特异性抗体的两条轻链(L链)之一,且“第二L链”是指不同于第一L链的另一L链。在两个L链中,可以任意地将其中一个定义为第一L链,且可以将另一个定义为第二L链。通常,第一L链和第一H链源自与某些抗原(或表位)结合的同一种抗

体,第二L链和第二H链也源自与某些抗原(或表位)结合的另一抗体。在本文中,将由第一H链和L链形成的L链-H链对称为第一对,将由第二H链和L链形成的L链-H链对称为第二对。用于产生第二对所源自的抗体的抗原(或表位)优选不同于用于产生第一对所源自的抗体的抗原。更具体地,由第一对和第二对识别的抗原可以相同,但优选地,该对结合不同的抗原(或表位)。在这种情况下,第一对和第二对的H链和L链优选具有彼此不同的氨基酸序列。当第一对和第二对结合不同的表位时,第一对和第二对可以识别完全不同的抗原,或者它们可以识别相同抗原上的不同位点(不同的表位)。此外,它们之一可以识别抗原,诸如蛋白质、肽、基因或糖,而另一个可以识别细胞毒性物质,诸如放射性物质,化学治疗剂或细胞来源的毒素。然而,当希望产生具有由H链和L链的特定组合形成的对的抗体时,可以将那些特定的H链和L链任意地确定为第一对和第二对。

[0730] 以下提供关于具有两种类型的重链恒定区CH1(CH1-A和CH1-B)和两种类型的轻链恒定区(CL-A和CL-B)的IgG型双特异性抗体的更详细的说明;然而,本发明也可以类似地应用于其他抗体。

[0731] 当希望获得可以通过第一CH1-A和第一CL-A识别一个表位,并通过第二CH1-B和第二CL-B结合另一个表位的双特异性抗体时,当表达四种类型的链中的每一种来产生该抗体时,理论上可能会产生10种类型的抗体分子。

[0732] 在这种情况下,例如,如果调节缔合以抑制CH1-A和CL-B和/或CH1-B和CL-A之间的缔合,则可以优先获得所需的抗体分子。

[0733] 一个实例是将CH1-A和CL-B之间形成界面的氨基酸残基修饰为带正电荷的氨基酸残基,并将在CH1-B和CL-A之间形成界面的氨基酸残基修饰成带负电荷的氨基酸残基。作为这些修饰的结果,由于形成界面的氨基酸残基均带正电荷,因此抑制了CH1-A与CL-B之间的非预期的缔合,并且由于形成界面的氨基酸残基均带负电荷,因此也抑制了CH1-B与CL-A之间的缔合。因此,因为形成界面的氨基酸残基彼此具有相同的电荷,所以抑制了CH1-A与CL-B之间的非预期的缔合以及CH1-B与CL-A之间的缔合。结果,可以有效地获得具有CH1-A和CL-A之间的预期缔合以及CH1-B和CL-B之间的预期缔合的抗体。此外,由于形成界面的氨基酸残基彼此具有不同类型的电荷,因此促进了CH1-A和CL-A之间的预期缔合;且由于形成界面的氨基酸残基彼此具有不同类型的电荷,因此也促进了CH1-B与CL-B之间的预期缔合。因此,可以有效地获得具有预期缔合的抗体。

[0734] 另一个实例是当CL1-A和CL1-B之间形成界面的氨基酸残基是相互不带电荷或非极性氨基酸时,将CH1-A和CL-B之间形成界面的氨基酸残基修饰为带正电荷的氨基酸残基。作为该修饰的结果,因为形成界面的氨基酸残基均带正电荷,所以抑制了CH1-A和CL-B之间的非预期的缔合。另一方面,由于形成界面的氨基酸残基是不相互静电排斥的氨基酸,所以与氨基酸静电排斥的情况相比,CH1-A与CL-A之间的预期的缔合以及CH1-B与CL-B之间的预期的缔合将更容易发生。因此,可以有效地获得具有CH1-A和CL-A之间的预期缔合以及CH1-B和CL-B之间的预期缔合的抗体。同时,在该实例中,在CL-A和CH1-B之间形成界面的氨基酸残基不是相互不带电荷或非极性氨基酸的情况下,可以对其修饰以使其变成相互不带电荷或非极性氨基酸。

[0735] 此外,在另一个实例中,当CL-B与CH1-B之间形成界面的氨基酸残基是CH1-B中的不带电荷或非极性氨基酸时,CH1-A与CL-A之间形成界面的氨基酸残基之一被修饰为带正

电荷的氨基酸残基,而另一个被修饰为带负电荷的氨基酸残基;且CL-B中CL-B与CH1-B之间形成界面的氨基酸残基被修饰以具有与对CH1-A进行的修饰相同的电荷。作为该修饰的结果,尽管由于形成界面的氨基酸残基是正电荷和负电荷的组合而促进了CH1-A和CL-A之间的预期缔合,但由于形成界面的氨基酸残基是不相互静电排斥的氨基酸,CH1-B和CL-B之间的预期缔合未受到抑制。结果,可以有效地获得具有在CH1-A和CL-A之间预期缔合,和在CH1-B和CL-B之间预期缔合的抗体。同时,在该实例中,当CL-B和CH1-B之间形成界面的氨基酸残基在CH1-B中不是不带电荷或非极性氨基酸时,可以对其进行修饰以变为不带电荷或非极性氨基酸。

[0736] 另外,使用本发明的缔合调节,可以抑制CH1之间(CH1-A和CH1-B)的缔合或CL之间(CL-A和CL-B)的缔合。

[0737] 本领域技术人员将能够适当地确定在期望通过本发明调节缔合的所需的多肽中在CH1和CL界面处缔合期间接近的氨基酸残基的类型。

[0738] 此外,本领域技术人员还可以通过使用公共数据库等适当地获得可用作生物体(诸如人、猴、小鼠、兔等)中的抗体的CH1或CL的序列。更具体地,CH1或CL的氨基酸序列信息可以通过下述实施例中描述的手段获得。

[0739] 例如,关于以下实例中描述的双特异性抗体,缔合后在CH1和CL的界面处接近(正对或接触)的氨基酸残基的具体实例包括以下所示的组合:

[0740] -在CH1中根据EU编号在位置175处的谷氨酰胺(Q),和在CL中根据Kabat编号在位置180处的对面(接触)苏氨酸(T)或丝氨酸(S);

[0741] -在CH1中根据EU编号在位置175处的谷氨酰胺(Q),和在CL中根据Kabat编号在位置131处的对面(接触)苏氨酸(T)或丝氨酸(S);

[0742] -在CH1中根据EU编号在位置175处的谷氨酰胺(Q),和在CL中根据Kabat编号在位置131处的对面(接触)丝氨酸(S)或苏氨酸(T)和在位置180处的丝氨酸(S)或苏氨酸(T);和,

[0743] -在CH1中根据EU编号在位置147处的赖氨酸(K)和在位置175处的谷氨酰胺(Q),和在CL中根据Kabat编号在位置131处的对面(接触)丝氨酸(S)或苏氨酸(T)和在位置180处的丝氨酸(S)或苏氨酸(T)。

[0744] 本发明中EU编号中描述的编号是依照EU编号(Sequences of proteins of immunological interest,NIH Publication No.91-3242)表示的。在本发明中,短语“根据EU编号在X位置处的氨基酸残基”和“根据EU编号在位置X处的氨基酸”(其中X是任意数)也可以被读为“根据EU编号对应于位置X的氨基酸残基”和“根据EU编号对应于位置X的氨基酸”。如以下描述的实例中所示,可以通过修饰这些氨基酸残基并实施本发明的方法来优先获得所需的抗原结合分子。

[0745] 在一个实施方案中,本发明提供了其中重链和轻链的缔合受到调节的抗原结合分子,其中所述抗原结合分子的重链和轻链中的选自以下(a)至(c)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一组或两组或更多组的氨基酸残基是相互静电排斥的氨基酸残基:

[0746] (a) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置180处包含的氨基酸残基;

[0747] (b) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编

号在位置131处包含的氨基酸残基;和

[0748] (c) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131和180处包含的氨基酸残基。

[0749] 在前述抗原结合分子中,“相互电排斥的氨基酸残基”或“具有相同电荷的氨基酸残基”优选选自例如以下(X)或(Y)中的一组中含有的氨基酸残基:

[0750] (X) 谷氨酸(E)或天冬氨酸(D);或

[0751] (Y) 赖氨酸(K),精氨酸(R)或组氨酸(H)。

[0752] 在前述抗原结合分子中,相互静电排斥的氨基酸残基的组的具体实例包括以下氨基酸残基的组:

[0753] (a) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置180处包含的氨基酸残基;

[0754] (b) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131处包含的氨基酸残基;

[0755] (c) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131和180处包含的氨基酸残基;

[0756] (d) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131和180处包含的氨基酸残基。

[0757] 本发明提供了抗原结合分子,其中所述抗原结合分子的重链和轻链中的选自由以下(a1)至(c2)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一组或两组或更多组的氨基酸残基是相互电排斥的氨基酸残基:

[0758] (a1) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置180处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基;

[0759] (a2) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置180处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基;

[0760] (b1) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基;

[0761] (b2) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基;

[0762] (c1) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处包含的分别各自为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131和180处包含的分别各自为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基;

[0763] (c2) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处包含的各自为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131和180处包含的各自为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基。

[0764] 在前述抗原结合分子中,相互静电排斥的氨基酸残基的具体实例包括以下氨基酸

残基:

[0765] (a1) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置180处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基;

[0766] (a2) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置180处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基;

[0767] (b1) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基;

[0768] (b2) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基;

[0769] (c1) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处包含的各自为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131和180处包含的各自为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基;

[0770] (c2) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处包含的各自为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131和180处包含的各自为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基;

[0771] (d1) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131和180处包含的各自为谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)的氨基酸残基;

[0772] (d2) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131和180处包含的各自为赖氨酸(K)、组氨酸(H)或精氨酸(R)的氨基酸残基。

[0773] 除上述之外,通过在CH1和CL之间的界面上引入电荷排斥来抑制非目标CH1/CL缔合的技术(WO 2013/065708)可以进一步应用于本发明的抗原结合分子中。更具体地,本发明提供了具有CH1和CL的抗原结合分子,其中选自由以下(a)至(d)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一组或两组或更多组的氨基酸残基相互电排斥:

[0774] (a) 在重链恒定区(CH1)中根据EU编号在位置147处包含的氨基酸残基,以及在轻链恒定区(CL)中根据EU编号在位置180处包含的氨基酸残基;

[0775] (b) 在CH1中根据EU编号在位置147处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131处包含的氨基酸残基;

[0776] (c) 在CH1中根据EU编号在位置175处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置160处包含的氨基酸残基;

[0777] (d) 在CH1中根据EU编号在位置213处包含的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置123处包含的氨基酸残基。

[0778] 将电排斥引入重链的第二恒定区(CH2)或重链的第三恒定区(CH3)的界面以抑制重链之间非所需的缔合的技术,将电排斥引入重链可变区和轻链可变区的界面以抑制重链

和轻链之间不期望的缔合的技术,或将重链可变区和轻链可变区的界面上存在的形成疏水性核心的氨基酸残基修饰为具有电荷的极性氨基酸以抑制重链和轻链之间不期望的缔合的技术可进一步应用于本发明的抗原结合分子(参见WO 2006/106905)。

[0779] 在通过在CH2或CH3的界面处引入电排斥来抑制重链之间不期望的缔合的技术中,在重链的其他恒定区的界面处接触的氨基酸残基的实例包括CH3区中对应于位置356(EU编号)和位置439(EU编号),位置357(EU编号)和位置370(EU编号),和位置399(EU编号)和位置409(EU编号)的区域。对于抗体恒定区的编号,可以参考Kabat等(Kabat,E.A.等,1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest,NIH)的出版物;对于重链恒定区的编号,显示了EU编号。

[0780] 更具体地,例如,在含有两种类型的重链CH3区的抗原结合分子中,第一重链CH3区域中的1至3组氨基酸残基(其选自以下(1)至(3)的氨基酸残基组),可以使得相互电排斥:

[0781] (1) 在重链CH3区中根据EU编号在位置356和位置439处包含的氨基酸残基;

[0782] (2) 在重链CH3区中根据EU编号在位置357和位置370处包含的氨基酸残基;和

[0783] (3) 在重链CH3区中根据EU编号在位置399和位置409处包含的氨基酸残基。

[0784] 此外,该抗体可以是在不同于前述第一重链CH3区的第二重链CH3区中具有一组氨基酸残基的抗体,其中该组氨基酸残基选自上述(1)至(3)中所示的氨基酸残基组,且其中与上述(1)至(3)中所示的氨基酸残基组相对应的1至3组氨基酸残基(其在第一重链CH3区相互电排斥)不与第一重链CH3区中相应氨基酸残基电排斥。

[0785] 上述(1)至(3)中描述的氨基酸残基在缔合后彼此接近。本领域技术人员将能够使用商业上可获得的软件通过同源性建模等,为所希望的重链CH3区或重链恒定区发现与上述(1)至(3)中描述的氨基酸残基相对应的位点,并在那些位点适当地修饰氨基酸残基。

[0786] 在前述抗原结合分子中,“电排斥”或“具有相同电荷”是指,例如,任何两个或更多个氨基酸残基具有包含在上述(X)和(Y)中的任一组中的氨基酸残基。

[0787] 在前述抗原结合分子的优选实施方式中,第一重链CH3区和第二重链CH3区可以通过二硫键交联。

[0788] 在本发明中,进行“修饰”的氨基酸残基不限于上述抗原结合分子可变区或抗体恒定区的氨基酸残基。本领域技术人员将能够使用商业上可获得的软件通过同源性建模等,发现多肽变体或异聚多聚体中形成界面的氨基酸残基,并在那些位点修饰氨基酸残基以调节缔合。同源性建模是使用商业上可获得的软件预测蛋白质三维结构的技术。当构建具有未知三维结构的蛋白质的结构时,首先要搜索一种已确定与该蛋白质具有高度同源的三维结构的蛋白质。接下来,利用这该三维结构作为模板,构建具有未知结构的蛋白质的结构,并通过分子动力学方法等进一步优化该结构以预测未知蛋白质的三维结构。

[0789] 在将电排斥引入重链可变区和轻链可变区的界面以抑制重链和轻链的非所需的缔合的技术中,在重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)的界面处接触的氨基酸残基的实例包括在VH(FR2区)中根据Kabat编号在位置39处的谷氨酰胺(Q)和在VL(FR2区)中根据Kabat编号在位置38处对面(接触)的谷氨酰胺(Q)。此外,优选的实例是在VH(FR2)中根据Kabat编号在位置45处的亮氨酸(L)和,在VL(FR2)中根据Kabat编号在位置44处的对面的脯氨酸(P)。对于这些位点的编号,在Kabat等的出版物中(Kabat,E.A.等,1991, Sequence of Proteins of Immunological Interest,NIH)提及。

[0790] 由于已知这些氨基酸残基在人和小鼠中高度保守(J.Mol.Recognit.2003;16:113-120),因此,通过修饰对应于上述氨基酸残基的氨基酸残基,可以调节抗原结合分子的可变区的缔合,用于除实施例中指出的那些之外的抗原结合分子的VH-VL缔合。

[0791] 一个具体的实例是抗原结合分子,其中形成VH和VL的界面的两个或更多个氨基酸残基是相互电排斥的氨基酸残基。更具体地,实例包括具有选自以下(a)或(b)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一组或两组氨基酸残基的抗原结合分子:

[0792] (a) 在VH中根据Kabat编号在位置39处包含的氨基酸残基,以及在VL中根据Kabat编号在位置38处包含的氨基酸残基;或

[0793] (b) 在VH中根据Kabat编号在位置45处包含的氨基酸残基,以及在VL中根据Kabat编号在位置44处包含的氨基酸残基。

[0794] 前述(a)或(b)中描述的每个氨基酸残基在缔合时彼此接近。本领域技术人员将能够使用商业上可获得的软件通过同源性建模等,在所需的VH或VL中发现与前述(a)或(b)中所述的氨基酸残基相对应的位点,并在那些位点适当地修饰氨基酸残基。

[0795] 在前述抗原结合分子中,“相互电排斥的氨基酸残基”优选选自例如以下(X)和(Y)中的任一组中含有的氨基酸残基:

[0796] (X) 谷氨酸(E)或天冬氨酸(D);或

[0797] (Y) 赖氨酸(K),精氨酸(R)或组氨酸(H)。

[0798] 在将存在于VH和VL的界面处的形成疏水性核心的氨基酸残基修饰成具有电荷的极性氨基酸以抑制重链和轻链不期望的缔合的技术中,能够在VH和VL的界面上形成疏水性核心的氨基酸残基的优选实例包括,在VH(FR2)中根据Kabat编号在位置45处的亮氨酸(L)和在VL(FR2)中根据Kabat编号在位置44处的对面脯氨酸(P)。对于这些位点的编号,Kabat等(Kabat,E.A.等,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest,NIH)用作参考。

[0799] 通常,术语“疏水性核心”是指在缔合的多肽内部由疏水性氨基酸侧链组装而成的部分。疏水性氨基酸的实例包括丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸和缬氨酸。此外,在疏水性核心的形成中可能涉及除疏水性氨基酸以外的氨基酸残基(例如酪氨酸)。该疏水性核心与亲水性表面(其中亲水性氨基酸侧链暴露于外部)一起成为促进水溶性多肽缔合的驱动力。当两个不同结构域的疏水性氨基酸存在于分子表面并暴露于水分子时,熵将增加,且自由能将增加。因此,两个结构域将彼此缔合以降低自由能并变得稳定,并且界面处的疏水性氨基酸将被埋入分子内部以形成疏水性核心。

[0800] 据认为,当发生多肽缔合时,通过将形成疏水性核心的疏水性氨基酸修饰为具有电荷的极性氨基酸,可以抑制疏水性核心的形成;因此,认为多肽缔合被抑制。

[0801] 通过分析所需抗原结合分子的氨基酸序列,本领域技术人员将能够识别疏水性核心,形成位点(区域)等的存在与否。即,本发明的抗原结合分子是特征在于能够在界面处形成疏水性核心的氨基酸残基修饰为具有电荷的氨基酸残基的抗原结合分子。更具体地,实例包括抗原结合分子,其中在以下(1)或(2)中任一个所示的氨基酸残基是具有电荷的氨基酸残基。以下(1)和(2)中所示的氨基酸残基的侧链彼此临近,并且可以形成疏水性核心:

[0802] (1) 在VH中包含的根据Kabat编号在位置45处的氨基酸残基;和

[0803] (2) 在VL中包含的根据Kabat编号在位置44处的氨基酸残基。

[0804] 在前述抗原结合分子中具有电荷的氨基酸残基的优选实例包括谷氨酸(E)、天冬氨酸(D)、赖氨酸(K)、精氨酸(R)和组氨酸(H)。更优选的实例包括谷氨酸(E)和赖氨酸(K)。

[0805] 通常,在人和小鼠中前述(1)和(2)中描述的氨基酸残基分别为:

[0806] (1)亮氨酸(L),和

[0807] (2)脯氨酸(P)。

[0808] 因此,在本发明的优选实施方案中,对这些氨基酸残基进行修饰(诸如用具有电荷的氨基酸取代)。此外,(1)和(2)的前述氨基酸残基的类型不必限于前述氨基酸残基,而是也可以是与其他氨基酸残基等同的其他氨基酸。

[0809] 可以将其他已知技术应用于本发明的抗原结合分子中。例如,为了促进第一VH(VH1)和第一VL(VL1)和/或第二VH(VH2)和第二VL(VL2)的缔合,存在于一条H链的可变区中的氨基酸侧链可以被更大的侧链(杵)取代,并且存在于另一条H链的相对的可变区中的氨基酸侧链可以被更小的侧链(臼)取代,使得杵可以配置在臼中,并且促进VH1和VL1和/或VH2和VL2的缔合;结果,可以进一步抑制VH1和VL2和/或VH2和VL1的缔合(WO 1996/027011; Ridgway, J. B. 等, *Protein Engineering* (1996) 9, 617-621; Merchant, A. M. 等, *Nature Biotechnology* (1998) 16, 677-681)。

[0810] 例如,在人IgG1的情况下,为了使在一条H链的CH3区中的氨基酸侧链成为更大的侧链(杵),进行Y349C和T366W的修饰,并且为了使在另一条H链的CH3区中的氨基酸侧链成为更小的侧链,进行D356C、T336S、L368A和Y407V的修饰。

[0811] 还可将其他已知技术应用于本发明的抗原结合分子中。使用链交换工程化结构域CH3,可以通过CH3的互补性缔合来有效制备目标抗原结合分子,在所述链交换工程化结构域CH3中,抗原结合分子的一条H链的CH3的一部分改变为对应于该部分的源自IgA的序列,并向另一条H链的CH3的互补部分导入对应于该部分的源自IgA的序列(*Protein Engineering Design&Selection*, 23:195-202, 2010)。

[0812] 还可将其他已知技术应用于本发明的抗原结合分子中。当产生双特异性抗体时,例如可以通过对两种类型的H链的每个可变区进行不同的氨基酸修饰来赋予等电点差异,并利用该等电点差异,通过离子交换层析法纯化,来制备目标双特异性抗体(WO 2007/114325)。

[0813] 将根据EU编号在位置435处的氨基酸残基(其为与IgG和蛋白质A之间结合相关的位点)修饰为针对蛋白质A具有不同结合强度的氨基酸(诸如Arg)的技术也可以与前述技术联合用于本发明的抗原结合分子。通过使用该技术,可以改变H链与蛋白质A之间的相互作用,并且使用蛋白质A柱,只有异源二聚体抗原结合分子可以有效地纯化。该技术也可以独立地使用,不与前述技术组合。

[0814] 本发明的修饰可以用于诸如以下的抗原结合分子,例如,具有以下结构的抗原结合分子:在所述结构中为了促进第一VH(VH1)和第一VL(VL1)和/或第二VH(VH2)和第二VL(VL2)的缔合,VH1通过第一CH1连接到Fc区且VL1连接到CL,且VH2通过第二CL连接到另一Fc区且VL2连接到第二CH1(WO 09/80254)。

[0815] 多种例如两种或更多种前述已知技术可以组合用于本发明的抗原结合分子中。此外,本发明的抗原结合分子可以基于已经进行前述已知技术的修饰的抗体来制备。

[0816] 本发明下述用于调节缔合的方法允许例如用于有效产生有活性的抗原结合分子。

此类活性的实例包括结合活性、中和活性、细胞毒活性、激动剂活性、拮抗剂活性和酶活性等。激动剂活性是通过抗原结合分子与抗原(例如受体)的结合,引起细胞中的信号转导等,诱导生理活性的某种变化的活性。生理活性的实例包括生长活性、存活活性、分化活性、转录活性、膜转运活性、结合活性、蛋白水解活性、磷酸化/去磷酸化活性、氧化还原活性、转移活性、溶核活性、脱水活性、诱导细胞死亡的活性和诱导细胞凋亡的活性等,但不限于此。

[0817] 通过本发明的方法,可以有效地产生与所需抗原结合或与所需受体结合的抗原结合分子。

[0818] 本发明的抗原没有特别限制,可以使用任何类型的抗原。抗原的实例包括受体或其片段、癌抗原、MHC抗原和分化抗原等,但不特别限于此。

[0819] 本发明的受体的实例包括属于造血因子受体家族、细胞因子受体家族、酪氨酸激酶型受体家族、丝氨酸/苏氨酸激酶型受体家族、TNF受体家族、G蛋白偶联受体家族、GPI锚定型受体家族、酪氨酸磷酸酶型受体家族、粘附因子家族、激素受体家族等的受体。关于属于这些受体家族的受体及其特征报道可在各种来源的文献中找到,例如在Cooke BA., King RJB., van der Molen HJ. ed. *New Comprehensive Biochemistry Vol.18B "Hormones and their Actions Part II"* pp.1-46 (1988) Elsevier Science Publishers BV., New York, USA; Patthy L. (1990) *Cell*, 61:13-14; Ullrich A. 等, (1990) *Cell*, 61:203-212; Massagul J. (1992) *Cell*, 69:1067-1070; Miyajima A. 等, (1992) *Annu. Rev. Immunol.*, 10:295-331; Taga T. 和 Kishimoto T. (1992) *FASEB J.*, 7:3387-3396; Fantl WI. 等, (1993) *Annu. Rev. Biochem.*, 62:453-481; Smith CA. 等 (1994) *Cell*, 76:959-962; Flower DR. (1999) *Biochim. Biophys. Acta*, 1422:207-234; Miyasaka M. ed. *Cell Technology, Handbook Series "Handbook for adhesion factors"* (1994) Shujunsha, 东京, 日本; 等等。属于上述受体家族的具体受体的实例包括人或小鼠促红细胞生成素 (EPO) 受体、人或小鼠粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 受体、人或小鼠血小板生成素 (TPO) 受体、人或小鼠胰岛素受体、人或小鼠 Flt-3 配体受体、人或小鼠血小板衍生生长因子 (PDGF) 受体、人或小鼠干扰素 (IFN) - $\alpha$  或 - $\beta$  受体、人或小鼠瘦蛋白受体、人或小鼠生长激素 (GH) 受体、人或小鼠白细胞介素 (IL) -10 受体、人或小鼠胰岛素样生长因子 (IGF) -I 受体、人或小鼠白血病抑制因子 (LIF) 受体以及人或小鼠睫状神经营养因子 (CNTF) 受体 (hEPOR: Simon, S. 等, (1990) *Blood* 76, 31-35; mEPOR: D' Andrea, Ad. 等, (1989) *Cell* 57, 277-285; hG-CSFR: Fukunaga, R. 等, (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 8702-8706; mG-CSFR: Fukunaga, R. 等, (1990) *Cell* 61, 341-350; hTPOR: Vigon, I. 等, (1992) 89, 5640-5644.; mTPOR: Skoda, R. 等, (1993) 12, 2645-2653; hInsR: Ullrich, A. 等, (1985) *Nature* 313, 756-761; hFlt-3: Small, D. 等, (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 459-463; hPDGFR: Gronwald, R. G. 等, (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 3435-3439; hIFN  $\alpha/\beta$  R: Uze, G. 等, (1990) *Cell* 60, 225-234; 和 Novick, D. 等, (1994) *Cell* 77, 391-400)。

[0820] 癌抗原是细胞恶性转化后表达的抗原,且也称为肿瘤特异性抗原。另外,当细胞癌变时,在细胞表面或蛋白质分子上出现的异常糖链也是癌抗原,且它们也被称为癌糖链抗原。癌抗原的实例包括 EpCAM, 其在包括肺癌在内的多种癌症中表达 (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1989) 86 (1), 27-31) (其多核苷酸序列表示为 RefSeq 登录号 NM\_002354.2, 且多肽序列表示为 RefSeq 登录号 NP\_002345.2), CA19-9, CA15-3, 唾液酸 SSEA-1

(SLX)等。

[0821] MHC抗原可大致分为MHC I类抗原和MHC II类抗原:MHC I类抗原包括HLA-A,-B,-C,-E,-F,-G和-H;MHC II类抗原包括HLA-DR,-DQ和-DP。

[0822] 分化抗原包括CD1、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、CD13、CD14、CD15、CD16、CD18、CD19、CD20、CD21、CD23、CD25、CD28、CD29、CD30、CD32、CD33、CD34、CD35、CD38、CD40、CD41a、CD41b、CD42a、CD42b、CD43、CD44、CD45、CD45R0、CD48、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD51、CD54、CD55、CD56、CD57、CD58、CD61、CD62E、CD62L、CD62P、CD64、CD69、CD71、CD73、CD95、CD102、CD106、CD122、CD126和CDw130。

[0823] 本发明的抗原结合分子可以是双特异性抗体。在这种情况下,可以从前述受体或其片段、癌抗原、MHC抗原、分化抗原等中任意选择被由该抗体识别的两种抗原(或表位)。例如,两种抗原可以选自受体或其片段,两种抗原可以选自癌抗原,两种抗原可以选自MHC抗原,或者两种抗原可以选自分化抗原。另外,一种抗原各自可以选自任意选自例如受体或其片段、癌抗原、MHC抗原和分化抗原的两种抗原。

[0824] 另外,本发明提供产生其中重链和轻链之间的缔合受到调节的抗原结合分子的方法。本发明的产生方法的一个优选实施方案是产生其中重链和轻链之间的缔合受到调节的抗原结合分子的方法,包括:

[0825] (1) 修饰编码CH1和CL的核酸,使得选自由以下(a)至(c)中所示的氨基酸残基的组成的群组中的一组或两组或更多组的氨基酸残基是彼此静电排斥的氨基酸残基:

[0826] (a) 在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置180处的氨基酸残基;

[0827] (b) 在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131处的氨基酸残基,和

[0828] (c) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处的氨基酸残基,以及在CL中根据Kabat编号在位置131和180处的氨基酸残基;

[0829] (2) 将修饰的核酸引入宿主细胞,并培养宿主细胞使得表达核酸;和

[0830] (3) 从宿主细胞的细胞培养物中收集抗原结合分子。

[0831] 另外,本发明涉及一种产生方法,其包括在前述步骤(1)中,对核酸进行修饰,以使彼此电排斥的氨基酸残基选自前述(X)和(Y)的任一组所包含的氨基酸残基。

[0832] 此外,本发明涉及一种产生方法,其包括在前述步骤(1)中,对核酸进行修饰,以使形成VH和VL的界面的两个或更多个氨基酸残基为彼此电排斥的氨基酸残基。优选地,彼此电排斥的氨基酸残基是选自例如由以下(a)和(b)中所示的氨基酸残基的组成的群组中的任一组氨基酸残基:

[0833] (a) 在VH中根据Kabat编号在位置39处包含的氨基酸残基,以及在VL中根据Kabat编号在位置38处包含的氨基酸残基;或

[0834] (b) 在VH中根据Kabat编号在位置45处包含的氨基酸残基,以及在VL中根据Kabat编号在位置44处包含的氨基酸残基。

[0835] 前述的彼此电排斥的氨基酸残基优选选自前述(X)和(Y)中任一组所包含的氨基酸残基。

[0836] 另外,本发明提供了调节抗原结合分子的重链和轻链的缔合的方法。本发明的调

节缔合方法的优选实施方案是调节抗原结合分子的重链和轻链的缔合的方法,其包括修饰核酸,使得选自由以下(a)至(c)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的一组或两组或更多组的氨基酸残基是彼此静电排斥的氨基酸残基:

[0837] (a) 在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置180处的氨基酸残基,

[0838] (b) 在CH1中根据EU编号在位置175处的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131处的氨基酸残基,和

[0839] (c) 在CH1中根据EU编号在位置147和175处的氨基酸残基,以及在CL中根据EU编号在位置131和180处的氨基酸残基。

[0840] 另外,本发明涉及用于调节缔合的方法,其包括在前述步骤(1)中,对核酸进行修饰,使得彼此静电排斥的氨基酸残基选自前述(X)或(Y)的任一组所包括的氨基酸残基。

[0841] 此外,本发明涉及用于调节缔合的方法,其包括在前述步骤(1)中,对核酸进行修饰,使得形成VH-VL界面的两个或更多个氨基酸残基为彼此静电排斥的氨基酸残基。本文中,彼此静电排斥的氨基酸残基优选为选自例如由以下(a)和(b)中所示的氨基酸残基的组组成的群组中的任一组氨基酸残基:

[0842] (a) 在VH中根据Kabat编号在位置39处的氨基酸残基,以及在VL中根据Kabat编号在位置38处的氨基酸残基,

[0843] (b) 在VH中根据Kabat编号在位置45处的氨基酸残基,以及在VL中根据Kabat编号在位置44处的氨基酸残基。

[0844] 根据本发明的调节缔合的方法,可以如前所述优先且有效地获得所需的双特异性抗体。即,可以从单体混合物有效地形成双特异性抗体形式的所需的异聚多聚体。

[0845] 在本发明的上述方法中,短语“修饰核酸”是指修饰核酸,使得它们对应于由本发明的“修饰”引入的氨基酸残基。更具体地,其是指将编码原始(预修饰的)氨基酸残基的核酸修饰为编码将通过修饰引入的氨基酸残基的核酸。通常,这意味着进行基因操作或突变处理,其将导致对原始核酸的至少一个核苷酸插入、缺失或取代,从而形成编码目的氨基酸残基的密码子。更具体地,将编码原始氨基酸残基的密码子替换为编码将通过修饰引入的氨基酸残基的密码子。这样的核酸修饰可以由本领域技术人员使用已知技术(诸如位点特异性诱变和PCR诱变)适当地进行。

[0846] 另外,本发明提供了编码本发明的抗原结合分子的核酸。此外,携带核酸的载体也包括在本发明中。

[0847] 此外,本发明涉及包含本发明的抗原结合分子和药学上可接受的载体的药物制剂。在本发明中,药物制剂通常是指用于治疗或预防或测试和诊断疾病的药剂。

[0848] 本发明的药物制剂可以通过本领域技术人员已知的方法进行配制。此外,本发明的抗原结合分子可以根据需要与其他药物物质组合配制。例如,它们可以以水或另一种药学上可接受的液体的无菌溶液或悬浮液的注射形式肠胃外使用。例如,可以通过与药学上可接受的载体或介质(具体和无菌水、生理盐水、植物油、乳化剂、悬浮剂、去垢剂、稳定剂、调味剂、赋形剂、载体、防腐剂、粘合剂等)适当组合,将它们配制成满足制备药物要求的单位剂量。在这样的制剂中,调节活性成分的量以使剂量落在适当的预定范围内。

[0849] 可以对本发明的氨基酸序列中包含的氨基酸进行翻译后修饰(例如,通过焦谷氨

酰化 (pyroglutamylation) 将N端谷氨酰胺修饰成焦谷氨酸是本领域技术人员公知的)。自然地,这种翻译后修饰的氨基酸包括在本发明的氨基酸序列中。

[0850] 本说明书中引用的所有现有技术文献通过引用并入本文。

## 实施例

[0851] 以下是本发明的方法和组合物的实施例。应理解,在给出上文提供的一般描述的情况下,可以实施各种其他实施方案。

[0852] 尽管为了清楚理解的目的,已经通过说明和例子详细地描述了前述发明,但是说明和例子不应被解释为限制本发明的范围。本文引用的所有专利和科学文献的公开内容明确地通过引用将其整体并入。

[0853] [实施例1]获得与ACE910(艾美赛珠单抗)的各H链相容的新型L链

[0854] ACE910(艾美赛珠单抗)是人源化IgG4抗体,其由抗FIX(a)和抗FX组成,且显示替代FVIII辅因子功能的活性。它由分别与FIX(a)和FX结合的两条不同的重链(Q499和J327)和共同的L链(L404)组成(重链:SEQ ID NO:10和11;轻链:SEQ ID NO:12)。降低与抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体的反应性并提高替代FVIII辅因子功能的活性的可能方法是,从人抗体库中获得序列与共同L链完全不同的新型L链(相对于抗FIX(a)抗体和抗FX抗体的各自的H链(Q499和J327))。因此,本发明人根据参考例1获得了如图10和表7所示的新型L链。在本实施例中,FIX(a)是指FIX和/或FIXa。

[0855] 检验了这些抗体与抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体的反应性。通过以下方法获得抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体。首先,将分别识别FIX(a)和FX的来自ACE910(艾美赛珠单抗)的Q499/L404的F(ab')<sub>2</sub>和J327/L404的F(ab')<sub>2</sub>施用于兔,获得了抗Q499/L404 F(ab')<sub>2</sub>兔血清和抗J327/L404 F(ab')<sub>2</sub>兔血清。将这些血清的硫酸铵级分流过人IgG结合柱,以去除人IgG反应性抗体。接下来,使用Q499/L404(或J327/L404)结合柱进行亲和纯化,然后用J327/L404(或Q499/L404)结合柱进行处理以去除J327/L404(或Q499/L404)反应性抗体,从而获得特异性结合Q499/L404(或J327/L404)的多克隆抗独特型抗体。

[0856] 通过电化学发光免疫测定法,所获得的抗独特型抗体用于测量其与标记的ACE910(艾美赛珠单抗)的结合强度,从而评估测试物质对结合的抑制。首先,将测试物质(双特异性抗体)以0、1、3、10、30或100μg/mL的浓度添加到Q499/L404独特型抗体、抗J327/L404独特型抗体、生物素标记的ACE910(艾美赛珠单抗)和SULFO-TAG标记的ACE910(艾美赛珠单抗)的混合物中。将所得混合物在冰箱中温育过夜。然后将混合物加入96孔板。洗涤板后,通过电化学发光法测量结合强度。

[0857] 例如,实施例3中制备的表2中所示的双特异性抗体Q499/QNK131//J327/JNL095(可变区:SEQ ID NO:45/13//46/31;恒定区:SEQ ID No:95/99//97/101)的结果和Q499/QL20//J327/JL01(可变区:SEQ ID NO:45/43//46/44;恒定区:SEQ ID NO:95/99//97/101)的结果在图1中展示。ACE910(艾美赛珠单抗)以依赖于所添加抗体的浓度的方式降低了标记的ACE910(艾美赛珠单抗)与抗独特型抗体之间的结合强度,从而显示出抑制作用。另一方面,发现具有新型L链的抗体显示出与抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体的结合显著降低。

[0858] 因此,本发明人成功地获得了新型L链,即使当它们与ACE910(艾美赛珠单抗)的相

同的H链配对 (SEQ ID NO:45和46), 显示出与抗ACE910 (艾美赛珠单抗) 独特型抗体的结合显著降低且具有替代FVIII辅因子功能的活性。因此, 期望这些双特异性抗体甚至可以施用于已经诱导出抗ACE910 (艾美赛珠单抗) 独特型抗体的血友病A患者。

[0859] [表2]

[0860] 检验双特异性抗体与抗ACE910 (艾美赛珠单抗) 独特型抗体的反应性

[0861]	克隆名称	重链1可变 区SEQ ID NO	轻链1可变 区SEQ ID NO	重链2可变 区SEQ ID NO	轻链2可变 区SEQ ID NO
	Q499/QNK131//J327/JNL095	45	13	46	31
	Q499/QL20//J327/JL01	45	43	46	44

[0862] [实施例2] 具有新型L链的双特异性抗体的变体和H链变体的产生

[0863] 为了改善参考例1中获得的具有新型L链的双特异性抗体的FVIII辅因子功能替代活性, 选择QNK131 (SEQ ID NO:13) (抗FIX(a) 抗体的新型L链) 和JNL095 (SEQ ID NO:31) (抗FX抗体的新型L链), 并通过本领域技术人员已知的方法 (诸如PCR) 将其氨基酸全面突变。对突变体进行FVIII辅因子功能替代活性的大规模筛选, 从而产生具有改善的FVIII辅因子功能替代活性的氨基酸取代变体。

[0864] 同时, 使用获得的新型L链, 产生取代变体, 其中Q499和J327的所有CDR通过用除半胱氨酸之外的所有氨基酸取代而全面突变。对该变体进行FVIII辅因子功能替代活性的大规模筛选, 以发现改善FVIII辅因子功能替代活性的氨基酸取代。

[0865] 在W02012/067176中, 已经成功地获得了其FVIII辅因子功能替代活性增加但使用FVIIIa作为辅因子对FIXa活化FX的抑制作用没有增强的双特异性抗体。本优化过程还改善了FVIII辅因子功能替代活性, 而没有增强使用FVIIIa作为辅因子对FIXa活化FX的抑制作用, 但是最近发现其可以通过FXIa影响FIX的活化 (图3 (1))。图3 (1), 图3 (2) 和图4中所示的FVIII辅因子功能替代活性通过参考例1中所述的方法测量, 除了将人因子X的浓度更改为22.9 $\mu$ g/mL, 且将磷脂的浓度更改为6.0 $\mu$ M。另外, 抑制FIX活化的活性是指如使用比色法所确定的, FXIa对FIX的活化反应中的吸收降低。具体地, 测量通过以下方法进行。将5 $\mu$ L用TBSB稀释的抗体溶液与5 $\mu$ L 3U/mL人因子IX (Christmassin M, 日本血液制品机构) 混合, 并在384孔板中于室温温育30分钟。混合物中的酶促反应通过加入5 $\mu$ L 90ng/mL人因子XIa (酶研究实验室) 引发。60分钟后, 通过加入5 $\mu$ L 0.5M EDTA终止反应。显色反应通过加入10 $\mu$ L的显色底物溶液来引发。在60分钟的显色反应后, 使用SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices) 测量405nm处的吸光度变化。人因子IX和人因子XIa的溶剂是TBSB, 其含有6.0 $\mu$ M磷脂溶液 (SYSMEX CO.) 和1.5mM CaCl<sub>2</sub>。将显色底物溶液Spectrozyme FIX (Sekisui Diagnostics) 溶解在纯净水中以产生6.7mM溶液, 然后以5:8的比例与乙二醇混合后, 用于该测定。结果, 与无抗体条件相比, 上述样品显示OD值降低, 表明FIXa的产生减少。如图3所示, 在FVIII辅因子功能替代活性和FIX活化抑制活性中, 抗体的终浓度为100 $\mu$ g/mL。抗体的终浓度是指在抗体溶液、人因子IX和人因子XIa的混合溶液中的浓度。在体内固有的凝血反应中, FIXa是通过由FXIa活化FIX而产生的。因此, 该活化过程的抑制导致FIXa的产生降低, 这进一步对具有FVIII辅因子功能替代活性的双特异性抗体对FIXa介导的FX活化的增加幅度有负面影响 (图2)。因此, 为了旨在获得具有更高的FVIII辅因子功能替代活性的双特异性抗体, 优选对于FIX活化抑制活性尽可能低。

[0866] 因此,基于上述FVIII辅因子功能替代活性的大规模筛选的结果,本发明人发现了多个氨基酸修饰,其与FIX活化抑制活性的提高相比,显著提高了FVIII辅因子功能替代活性。具体地,它们是S30R、S31R、T53R(全为Kabat编号)等。将这些修饰多重引入QNK131(SEQ ID NO:13)以产生QL20(QAL201)(SEQ ID NO:43)。此外,通过将多个CDR氨基酸取代全面引入到具有QL20作为抗FIX(a)抗体的L链的变体中来产生氨基酸取代变体。对这些变体进行大规模筛选,测量FVIII辅因子功能替代活性和FIX活化抑制活性。结果,发现了修饰组合,其降低了FIX活化抑制活性,同时保持FVIII辅因子功能替代活性。具体地,它们是在抗FIX(a)抗体的L链中碱性和酸性残基的组合,诸如S30R/S31R/N32D、S30R/S31R/N32E和Q27R/R93D(全为Kabat编号)。

[0867] 另外,氨基酸取代变体还通过将氨基酸取代全面引入FR,非抗原接触位点,并进行活性筛选而产生。结果,发现了多种修饰,其进一步提高了FVIII辅因子功能替代活性,同时保持FIX活化抑制活性。具体地,氨基酸取代变体(其中抗FIX(a)抗体的L链中的Phe83被Met残基、Ala残基等取代,或Arg45被Glu残基取代)显示出增加的FVIII辅因子功能替代活性。

[0868] 为了优化上述修饰的组合以及抗FIX(a)臂和抗FX臂之间的抗原结合亲和力(缔合和解离)的平衡,进行了抗FIX(a)和抗FX抗体的彻底配对。具体地,对于抗FIX(a)抗体,通过引入Y100E、Y100eI、或缺失G100a,或这些的组合来修饰H链,或通过引入A55E、K92R、在位置95处插入Pro、或L96G,或这些的组合来修饰L链。对于抗FX抗体,通过引入T28E/D31H或D31N/Q、I51S、G56T/R、S57V、Y59S、E61R、E62K、D65N/Q、V67L、K73I、S82bE、E102V或这些修饰的组合来修饰H链,对于L链,通过引入E24T、N26E、H27Q、G29S、D30S/Q/E、K31R、H32E/Q、R50Q、D92A、S94D、S95D/A、A95aY、V96T或这些修饰的组合(全为Kabat编号)来修饰JNL095(SEQ ID NO:31),从而优化抗原结合亲和力。

[0869] 结果,本发明人成功地产生了变体,所述变体的与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,且与W02012067176中已证实具有比ACE910(艾美赛珠单抗)更高的FVIII辅因子功能替代活性的变体(双特异性抗体,其由SEQ ID NO:95或97的H链恒定区,SEQ ID NO:99的L链恒定区,以及表3中所示的可变区的组合组成)相比, FIX活化抑制活性没有提高但其FVIII辅因子功能替代活性显著改善(双特异性抗体,其由SEQ ID NO:95-98中任一个的H链恒定区和SEQ ID NO:99-104中任一个的L链恒定区的组合,以及表4中所示的可变区的组合组成)(图3(2))。此外,如图4所示,与ACE910(艾美赛珠单抗)相比,发现这些变体具有显著改善的最大活性和比活性。图4中所示的FVIII辅因子功能替代活性通过参考例1中所述的方法测量,除了将人因子X的浓度更改为22.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,且将磷脂的浓度更改为6.0 $\mu\text{M}$ 。

[0870] 此外,为了确认FVIII辅因子功能替代活性促进血浆中凝血酶的生成,通过本领域技术人员已知的方法进行了凝血酶生成测试。具体地,将8 $\mu\text{L}$ 用TBSB稀释的双特异性抗体添加至72 $\mu\text{L}$  FVIII缺陷血浆(George King),并在室温下温育30分钟或更长时间。接下来,添加20 $\mu\text{L}$ 触发试剂,其含有20 $\mu\text{M}$ 磷脂和5ng/mL人因子XIa(酶研究实验室)。此外,添加20 $\mu\text{L}$  FluCa-Kit(Thrombinoscope)的荧光缓冲液和荧光底物的混合溶液以引发凝血反应。使用凝血酶生成荧光测定法/分析系统(Thrombinoscope)评估凝血酶生成量。添加抗体至终浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。抗体的终浓度是指在FVIII缺陷血浆和抗体溶液的混合物中的浓度。当将添加抗体时的峰高用作凝血酶生成水平的指标时,结果显示,与ACE910(艾美赛珠单抗,Q499/L404//J327/L404)相比,表5中的所有双特异性抗体显示凝血酶生成水平进一步增加。此

外,当与作为阳性对照添加的FVIII (Kogenate-FS BIO-SET;Bayer) 相比时,许多变体 (QH01/QL21//JH01/JL01, QH02/QL22//JH01/JL01, QH03/QL23//JH02/JL02, QH03/QL24//JH02/JL02, QH02/QL22//JH04/JL04, QH04/QL26//JH02/JL02, QH04/QL26//JH05/JL05, QH06/QL30//JH07/JL07, QH04/QL31//JH08/JL08, QH06/QL32//JH07/JL07, QH06/QL32//JH09/JL09, QH06/QL30//JH10/JL10, QH07/QL33//JH11/JL11) 比添加40U/dL FVIII (其为健康人的水平) 显示更高的凝血酶生成水平 (图5)。

[0871] [表3]

[0872] ACE910 (艾美赛珠单抗) 和在W02012067176中证实比ACE910 (艾美赛珠单抗) 具有更高的FVIII辅因子功能替代活性的变体的可变区的组合

克隆名称	抗FIX(a)抗体		抗FX抗体	
	重链可变区 SEQ ID NO	轻链可变区 SEQ ID NO	重链可变区 SEQ ID NO	轻链可变区 SEQ ID NO
[0873] Q499/L377//J327/L377	45	52	46	52
Q499/L248//J346/L248	45	53	50	53
Q354/L324//J259/L324	49	54	51	54
Q460/L334//J327/L334	48	55	46	55
Q499/L334//J327/L334	45	55	46	55

[0874] [表4]

[0875] 仅FVIII辅因子功能替代活性显著改善的变体

克隆名称	抗FIX(a)抗体		抗FX抗体	
	重链可变区 SEQ ID NO	轻链可变区 SEQ ID NO	重链可变区 SEQ ID NO	轻链可变区 SEQ ID NO
[0876] QH01/QL21//JH01/JL01	56	61	73	84
QH02/QL22//JH01/JL01	57	62	73	84
QH03/QL23//JH02/JL02	58	63	74	85
QH03/QL24//JH02/JL02	58	64	74	85
QH02/QL22//JH03/JL03	57	62	75	86
QH02/QL22//JH04/JL04	57	62	76	87
QH02/QL22//JH02/JL02	57	62	74	85
QH04/QL25//JH02/JL02	59	65	74	85
QH04/QL26//JH02/JL02	59	66	74	85
QH04/QL26//JH05/JL05	59	66	77	88
QH04/QL28//JH05/JL05	59	67	77	88
QH04/QL28//JH06/JL06	59	67	78	89
QH04/QL29//JH05/JL05	59	68	77	88
QH04/QL29//JH06/JL06	59	68	78	89
QH06/QL30//JH07/JL07	60	69	79	90
QH04/QL31//JH08/JL08	59	70	80	91
QH06/QL32//JH07/JL07	60	71	79	90
QH06/QL32//JH09/JL09	60	71	81	92
QH06/QL30//JH10/JL10	60	69	82	93
QH07/QL33//JH11/JL11	105	72	83	94

[0877] [实施例3]产生的双特异性抗体的抗体PK (药代动力学)

[0878] 为了方便血友病A患者的药物治疗,优选地,为了减少施用频率,待施用的抗体具

有更长的半衰期。改善抗体PK (药代动力学) 的主要方法包括通过FcRn增加循环到血液的方法以及通过非特异性结合减少细胞摄取的方法 (ADME and Translational Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Therapeutic Proteins (2015) p25-37)。

[0879] 如实施例2中所证实的, 本发明人成功地产生了具有显著改善的FVIII辅因子功能替代活性同时阻止其FIX活化抑制活性增加的双特异性抗体。在产生这些抗体的过程中, 发明人还尝试改善可能影响抗体PK的非特异性结合。

[0880] 具体地, 一种测定与细胞外基质 (ECM) 结合的系统 (称为在体外作为评估非特异性结合的系统) 用于评估抗体 (美国专利2014/0080153)。结果, 与ACE910 (艾美赛珠单抗) 相比, 在实施例2中显示出高的FVIII辅因子功能替代活性的变体Q499/QL20//J327/JL01 (可变区: SEQ ID NO: 45/43/46/44) 的ECM结合非常高。然而, 对于其中抗FIX (a) 抗体的H链被G97D、Y100D、Y100E等修饰, 且抗FIX (a) 抗体的L链被N32D、N32E、A55E等修饰的变体 (由SEQ ID NO: 95-98中任一个的Hch恒定区和SEQ ID NO: 99-104中任一个的Lch恒定区的组合以及表5中所示的可变区的组合组成), 成功地显著降低了ECM结合 (图6)。

[0881] 此外, 对通过将ACT-Fc修饰 (Mabs, (2017) Vol. 9, No. 5, 844-853) (其通过FcRn改善向血液的循环) 引入上述变体的抗体恒定区而制成的变体进行了小鼠静脉内施用测试。施用抗体后, 随时间采样血液并获得血浆。然后通过LC-MS/MS方法测量血浆中所施用抗体的浓度。用WinNonlin ver 7.0 (Certara) 分析血浆中抗体浓度的时间进程数据, 以计算抗体清除率 (CL)。结果, 当与没有ACT-Fc修饰的变体 (即QH01/QL21//JH01/JL01 (可变区: SEQ ID NO: 56/61//73/84) 或QH02/QL22//JH02/JL02 (可变区: SEQ ID NO: 57/62//74/85)) 相比时, 在具有ACT-Fc修饰的变体 (即QH04/QL28//JH05/JL05 (可变区: SEQ ID NO: 59/67//77/88), QH04/QL28//JH06/JL06 (可变区: SEQ ID No: 59/67//78/89), QH04/QL29//JH05/JL05 (可变区: SEQ ID NO: 59/68//77/88), 和QH04/QL29//JH06/JL06 (可变区: SEQ ID NO: 59/68//78/89)) 中成功地显著改善了抗体PK (清除率: CL) (图7)。

[0882] [表5]

[0883] 显示出对ECM的低结合亲和力的双特异性抗体的可变区的组合

克隆名称	抗FIX(a)抗体		抗FX抗体	
	重链可变区 SEQ ID NO	轻链可变区 SEQ ID NO	重链可变区 SEQ ID NO	轻链可变区 SEQ ID NO
QH01/QL21//JH01/JL01	56	61	73	84
QH02/QL22//JH02/JL02	57	62	74	85
QH04/QL28//JH05/JL05	59	67	77	88
[0884] QH04/QL28//JH06/JL06	59	67	78	89
QH04/QL29//JH05/JL05	59	68	77	88
QH04/QL29//JH06/JL06	59	68	78	89
QH06/QL30//JH07/JL07	60	69	79	90
QH04/QL31//JH08/JL08	59	70	80	91
QH06/QL32//JH07/JL07	60	71	79	90
QH06/QL32//JH09/JL09	60	71	81	92
QH06/QL30//JH10/JL10	60	69	82	93
QH07/QL33//JH11/JL11	105	72	83	94

[0885] [实施例4]双特异性抗体的产生

[0886] 如上所述,本发明人将修饰引入双特异性抗体的两条不同的重链(H链)和两条不同的轻链(L链)中,以产生具有有益功效和特性的抗体。

[0887] 当表达双特异性抗体时,表达两个不同的H链和两个不同的L链。因此,10种不同的组合是可能的。由于这些组合中只有一种具有目标双特异性,因此获得目标双特异性抗体需要从10种不同的抗体中纯化一种目标抗体,这是非常低效且困难的。作为解决该问题的方法,存在一种已知的方法,其中将氨基酸取代引入到IgG H链的CH3结构域中,从而优先分泌组合有两个不同H链的IgG,并进一步有效地获得目标分子,在可变区和CH1-CL结构域界面中存在已知的氨基酸取代及其组合,以促进所需的H链-L链缔合(WO2013065708)。然而,还检查了新的修饰对。

[0888] 产生的抗体和产生方法

[0889] 在以下描述中,将抗FIX(a)抗体侧的重链和轻链分别表示为Q和κ,且将抗FX抗体侧的重链和轻链分别表示为J和λ。

[0890] 双特异性抗体Q1014-G4T1k.LG.A5/AL869AE.F83M-kT0//J1494-G4T1h.LG.A5/YL681K27Q-lam1NL95(可变区:SEQ ID NO:106/108//109/111,恒定区:SEQ ID NO:107/99//110/101)用作模板序列。将表6中所示的修饰的组合引入该抗体以产生变体。

[0891] 该实验的目的是评估重链-轻链缔合的调节。然而,当一条重链具有容易发生同源缔合的恒定区时,所有九种类型的错配分子,不仅包括如图8(8)-(10)所示具有两条异源缔合的不同的重链的那些,还包括图8(2)-(7)中所示的那些被表达。这使得难以分析和评估目标分子(图8(1))。因此,为了防止一条重链引起同源缔合,将“杵”和“臼”修饰(KiH:杵臼结构)分别引入重链的恒定区(Q和J)中(SEQ ID NO:107和110),从而将可能表达为错误配对的抗体从9种类型减少到3种类型(图8(8)-(10)),并进行测定。

[0892] 转染时,四条链以三种质粒量比率(Q:κ:J:λ=1:3:1:1,1:1:1:1,和1:1:1:3)表达,并通过本领域技术人员已知的方法纯化。当这些链在轻链过多的条件下表达时,重链和

轻链之间的调节不足将促进错误配对的形成。相反,如果在所有三个条件下都以高速率形成了目标双特异性抗体,则可以认为引入的修饰对具有更高的调节能力。

[0893] 另外,作为CIEX(阳离子交换层析)分析中使用的错误配对的参考标准品,通过表达三条链Q/κ/J或Q/λ/J,制备了具有共同轻链的参考标准品(Q/κ//J/κ和Q/λ//J/λ)。

[0894] 测定与分析方法

[0895] 使用Alliance系统(Waters)通过CIEX方法测定产生的抗体。进行两液梯度法,使用YMC-BioPro SP-F,4.6x100mm作为测定柱,CX-1pH梯度缓冲液A,pH 5.6(Thermo)作为流动相A,和CX-1pH梯度缓冲液B,pH 10.2(Thermo)作为流动相B。在280nm的波长下进行测量。使用Empower3(Waters)分析数据,并计算每个检测到的峰的比例。当表达四条链时仅观察到一个峰的情况下,该峰被指定为主峰,即双特异性抗体的峰。当观察到多个峰时,将不与具有共同轻链的错误配对的参照标准品的峰重叠的峰指定为主峰。

[0896] 结果和讨论

[0897] 由测定数据计算出的双特异性抗体的峰比例示于表6,各层析谱示于图9。

[0898] 发现新修饰对No.14(CH1中在位置175处(EU编号)的氨基酸残基和CL中在位置180处(Kabat编号)的氨基酸残基对)和No.15(CH1中在位置175处(EU编号)的氨基酸残基和CL中在位置131处(Kabat编号)的氨基酸残基对),其表现出与W02013065708中的已知修饰No.10(CH1中在位置147处(EU编号)的氨基酸残基和CL中在位置180处(Kabat编号)的氨基酸残基对)和No.11(CH1中在位置147处(EU编号)的氨基酸残基和CL中在位置131处(Kabat编号)的氨基酸残基对)相当的调节能力。

[0899] 此外,发现新修饰对No.9(CH1中在位置147处(EU编号)和位置175处(EU编号)的氨基酸残基和CL中在位置131处(Kabat编号)和位置180处(Kabat编号)的氨基酸残基对),其表现出与已知的No.6组合(CH1中在位置147处(EU编号)和位置175处(EU编号)的氨基酸残基和CL中在位置131处(Kabat编号)和位置160处(Kabat编号)的氨基酸残基对)一样高的调节能力。

[0900] 此外,已知通过VH中在位置39处(Kabat编号)的氨基酸残基和VL中在位置38处(Kabat编号)的氨基酸残基的修饰对促进了重链和轻链之间的特异性缔合(W02013065708)。因此,将该修饰对引入到No.9中以产生No.18和No.19,并对这些进行评估。结果,观察到所有修饰导致高调节能力。

[0901] 另外,当将本发明中新发现的No.9修饰对应用于具有用于促进H链缔合的不同于KiH的一对修饰(E356K-K439E)的模板(Q1014Q39E-G4T1A5LG409K.E356K/AL869Q38KAE.F83M-kT0//J1494Q39K-G4T1A5LG409K.K439E/YL681.K27Q.Q38E-lam1NL95(可变区:SEQ ID NO:112/113//114/115,恒定区:SEQ ID NO:117/99//116/101))时,也观察到了高调节能力(No.20:Q1014Q39E-G4T1th2A5LG409K.E356K/AL869Q38KAE.F83M-kOMTt117E160Q//J1494Q39K-G4T1th13A5LG409K.K439E/YL681.K27Q.Q38E-lam1p9(可变区:SEQ ID NO:112/113//114/115,恒定区:SEQ ID NO:119/100//118/102))。

[0902] [表6]

[0903]

每种表达条件下引入的修饰和双特异性抗体的百分比 (%)

No.	Q链												J链												Fc	双特异性抗体的百分比 (%)		
	H链(Q)						L链(K)						H链(J)						L链(L)							质量比率(Q:κ:λ)		
	Q39	K147	Q175	K213	K213	Q38	Q38	E123	S131	Q160	T180	Q39	K147	Q175	K213	Q38	E123	T131	E160	S180	1:3:1	1:1:1	1:1:1					
1	K	-	K	-	-	E	-	-	E	E	E	E	E	E	E	E	K	K	K	K	100.00	99.63	99.84					
2	-	-	K	-	-	E	-	-	E	E	-	E	E	E	-	-	K	K	K	K	98.89	98.80	99.58					
3	-	-	-	-	-	E	-	-	E	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	94.57	95.90	94.63					
4	-	-	-	-	-	E	-	-	E	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96.95	98.67	49.99					
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89.47	82.13	42.25					
6	-	-	-	-	-	E	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.15	98.98	95.23					
7	-	-	-	-	-	E	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.19	93.81	81.57					
8	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	83.85	79.87	23.41					
9	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	97.53	97.75	96.62					
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	83.72	78.41	43.93					
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	91.72	86.80	36.37					
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	82.07	78.11	23.14					
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	73.93	66.69	24.94					
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80.27	76.61	46.85					
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84.05	87.10	79.13					
16	-	-	E	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.30	95.98	81.09					
17	-	-	E	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	93.48	83.38	50.66					
18	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96.50	99.24	99.85					
19	K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	99.59	98.42	97.75					
20	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	79.51	85.59	82.39					

[0904] “-”表示未引入修饰。每个残基的编号通过H链可变区、L链可变区和L链恒定区的Kabat编号和通过H链恒定区的EU编号表示。

[0905] 本发明发现了新型轻链,其降低与抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体的反应性

并表现出FVIII辅因子功能替代活性,并发现了重链和轻链的氨基酸取代及其组合,其改善了具有那些轻链的双特异性抗体的FVIII辅因子功能替代活性而不增加其FIX活化抑制活性。这些氨基酸取代及其组合对于产生双特异性抗体是有用的,所述双特异性抗体具有比ACE910(艾美赛珠单抗)更优的FVIII辅因子功能替代活性。

[0906] [参考例1]

[0907] 改善ACE910替代FVIII辅因子功能的活性的一种可能方法是,关于抗FIX(a)抗体和抗FX抗体的各自的H链(Q499和J327),从人抗体库中获得序列与共同L链完全不同的新型L链。

[0908] 参照本领域技术人员已知的方法,具体地,Biochemical and Biophysical Research Communications, (2000), 275, 2, 553-557等,本发明人通过用人L链文库代替抗ACE910(艾美赛珠单抗)独特型抗体的L链产生新的文库,并针对生物素标记的人FIXa或生物素标记的人FX进行淘选,以获得具有新型轻链的抗体,该抗体具有FVIII辅因子功能替代活性。

[0909] 结果,发现QNK131(SEQ ID NO:13)、QNK284(SEQ ID NO:14)、QNK315(SEQ ID NO:15)、QNL182(SEQ ID NO:16)、QNL492(SEQ ID NO:17)和QNL576(SEQ ID NO:18)作为具有FVIII辅因子功能替代活性的双特异性抗体的抗人FIX(a)抗体的L链可变区,且发现JNK131(SEQ ID NO:19)、JNK163(SEQ ID NO:20)、JNK252(SEQ ID NO:21)、JNK263(SEQ ID NO:22)、JNK339(SEQ ID NO:23)、(SEQ ID NO:24)、JNK351(SEQ ID NO:25)、JNK360(SEQ ID NO:26)、JNK378(SEQ ID NO:27)、JNK382(SEQ ID NO:28)、JNL036(SEQ ID NO:29)、JNL072(SEQ ID NO:30)、JNL095(SEQ ID NO:31)、JNL176(SEQ ID NO:32)、JNL208(SEQ ID NO:33)、JNL224(SEQ ID NO:34)、JNL260(SEQ ID NO:35)、JNL056(SEQ ID NO:36)、JNL059(SEQ ID NO:37)、JNL226(SEQ ID NO:38)、JNL250(SEQ ID NO:39)、JNL263(SEQ ID NO:40)和JNL281(SEQ ID NO:41)作为抗人FX抗体的L链可变区。

[0910] 通过本领域技术人员已知的方法表达和纯化具有这些新型L链的各种双特异性抗体。制备的抗体显示于表7中(显示克隆名称、重链可变区的SEQ ID NO和轻链可变区的SEQ ID NO)。一种新型L链可变区仅用于一条链。对于另一条链,使用可变区L404,ACE910的共同L链(SEQ ID NO:45)。对于H链,使用可变区Q499(SEQ ID NO:45)和可变区J327(SEQ ID NO:46)。为了方便起见,将新型L链的名称用作克隆名称。对于抗FIX(a)抗体,分别将QC1(SEQ ID NO:95)和CL1(SEQ ID NO:99)用作H链和L链恒定区。对于抗FX抗体,分别将JC1(SEQ ID NO:97)和CL3(SEQ ID NO:101)用作H链和L链恒定区。

[0911] 通过本领域技术人员已知的方法,将每种纯化的双特异性抗体用于评估FVIII辅因子功能替代活性。具体地,测量通过以下方法进行。所有反应均在室温下进行。用含有0.1%牛血清白蛋白的Tris缓冲盐水(以下缩写为TBSB)稀释的5 $\mu$ L抗体溶液与5 $\mu$ L 150ng/mL人因子IXa $\beta$ (酶研究实验室)混合,在384孔板中室温温育30分钟。混合物中的酶促反应通过加入5 $\mu$ L 24.7ng/mL人因子X(酶研究实验室)引发。4分钟后,通过加入5 $\mu$ L 0.5M EDTA终止反应。显色反应通过加入5 $\mu$ L的显色底物溶液来引发。在30分钟的显色反应后,使用SpectroMax 340PC384(Molecular Devices)测量405nm处的吸光度变化。人因子IXa $\beta$ 和人因子X的溶剂是TBSB,其含有4.0 $\mu$ M磷脂溶液(SYSMEX CO.)和1.5mM CaCl<sub>2</sub>。用纯净水将显色底物溶液S-2222(SEKISUI MEDICAL)溶解至1.47mg/mL,并用于该测定。测量每种纯化的双

特异性抗体的FVIII辅因子功能替代活性的结果显示在图10中。图10所示的用于测量FVIII辅因子功能替代活性的抗体的终浓度,对于由新型抗FIX(a)轻链形成的抗体为66.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,或对于由新型抗FX轻链形成的抗体为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。抗体的终浓度是指在抗体溶液、人因子IXa $\beta$ 和人因子X的混合物中的浓度。发现与任何新型L链形成的所有双特异性抗体都具有FVIII辅因子功能替代活性。

[0912] [表7]

[0913] 已制备的具有新型L链的双特异性抗体

克隆名称	重链可变区 SEQ ID NO	轻链可变区 SEQ ID NO
QNK131	45	13
QNK284	45	14
QNK315	45	15
QNL182	45	16
QNL492	45	17
QNL576	45	18
JNK131	46	19
JNK163	46	20
JNK252	46	21
JNK263	46	22
JNK339	46	23
JNK348	46	24
JNK351	46	25
JNK360	46	26
JNK378	46	27
JNK382	46	28
JNL036	46	29
JNL072	46	30
JNL095	46	31
JNL176	46	32
JNL208	46	33
JNL224	46	34
JNL260	46	35
JNL056	46	36
JNL059	46	37
JNL226	46	38
JNL250	46	39
JNL263	46	40
JNL281	46	41

[0914]

[0915] [参考例2]

[0916] 产生了替代变体,其中通过用除半胱氨酸以外的所有氨基酸取代,对Q499和J327(ACE910的H链)的所有CDR进行穷尽突变。使用这些变体和参考例1中获得的新型L链,对FVIII辅因子功能替代活性实施大规模筛选,以发现改善FVIII辅因子功能替代活性的氨基酸取代。例如,将氨基酸取代引入抗FIX(a)抗体的新型L链QNK131(可变区:SEQ ID NO:13),以获得QAL187(可变区:SEQ ID NO:42)和QAL201(可变区:SEQ ID NO:43)。类似地,将氨基酸取代引入抗FX抗体的新型L链JNL095(可变区:SEQ ID NO:31),以获得JYL280(可变区:

SEQ ID NO:44)。对于抗FIX(a)抗体,分别将QC1(SEQ ID NO:95)和CL1(SEQ ID NO:99)用作H链和L链恒定区。对于抗FX抗体,分别将JC1(SEQ ID NO:97)和CL3(SEQ ID NO:101)用作H链和L链恒定区。

[0917] 结果显示,下表8中所示的一些氨基酸取代可以改善ACE910(艾美赛珠单抗)的FVIII辅因子功能替代活性。在测量FVIII辅因子功能替代活性中,参考例1中描述的方法用于抗FX抗体具有修饰的H链的变体。对于抗FIX(a)抗体具有修饰的H链的变体,使用参考例1中描述的方法进行测量,只是将人因子IXa  $\beta$ 的浓度改变为450ng/mL。表8显示了每个氨基酸取代变体相对于ACE910(艾美赛珠单抗)的比活性(表中的每个值)。在表8中,(-)表示抗体的表达水平低。

[0918] [表8]

[0919] 变体双特异性抗体(其中在Q499和J327中引入了氨基酸取代)的FVIII辅因子功能替代活性

[0920] 抗FIX(a)抗体的H链修饰

[0921]

位置	突变	A	I	L	M	P	V	G	N	Q	S	T	D	E	H	K	R	F	W	Y
31	Y	0.4	0.0	-	-	0.0	0.0	0.0	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	3.5	0.0	0.0	0.0	10.0	/
32	Y	0.6	1.3	0.0	0.0	0.0	1.5	-	1.4	2.0	0.0	6.2	2.2	0.1	0.9	1.2	0.0	8.1	0.6	/
33	D	-	-	-	0.0	-	0.1	-	0.0	-	-	0.2	/	0.1	-	-	-	-	-	-
34	I	1.2	/	10.7	8.9	0.0	0.0	2.4	-	8.0	0.2	2.9	0.2	1.5	0.0	1.1	0.0	41.8	13.2	0.0
35	Q	0.4	4.6	76.2	-	39.0	45.7	73.9	0.0	/	22.8	56.0	0.0	0.1	0.1	1.4	0.0	0.5	0.0	0.1
50	S	5.4	1.0	0.9	4.1	0.0	-	2.8	6.0	0.0	/	0.0	3.3	0.0	-	0.2	0.0	1.2	3.3	1.3
51	I	0.0	/	-	0.0	0.0	2.3	0.0	0.0	-	0.3	0.0	0.0	-	-	0.0	0.0	-	0.0	0.0
52	S	1.1	4.8	0.0	0.0	0.0	3.8	1.0	9.9	8.1	/	-	13.1	0.0	34.0	0.1	-	26.0	8.2	2.0
52a	P	0.4	-	0.7	-	/	0.1	4.9	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	-	0.0	0.0	0.1	1.3
53	S	0.9	0.1	0.3	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	/	1.4	0.1	0.0	1.3	0.0	0.2	0.3	0.0	0.2
54	G	1.3	0.0	0.0	-	0.0	0.0	/	0.0	0.1	1.2	-	0.0	0.0	-	0.0	-	-	0.0	0.1
55	Q	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.2	3.9	0.0	/	-	0.0	-	0.0	4.1	-	7.4	0.0	0.0	0.0
56	S	-	0.0	1.9	13.1	0.2	0.0	3.2	0.0	-	/	0.2	1.1	0.6	6.2	0.8	1.9	0.0	-	25.8
57	T	2.7	2.1	3.0	3.1	0.2	1.7	-	0.9	3.8	2.6	/	0.2	1.6	1.9	4.2	0.7	2.3	1.5	2.0
58	Y	-	1.7	1.9	0.4	-	1.1	0.2	5.0	0.6	0.6	14.7	3.8	-	3.8	3.6	0.2	4.5	1.5	/
59	Y	0.0	0.5	-	1.0	0.0	1.0	0.0	0.1	-	-	-	0.0	1.5	-	0.0	0.0	1.0	0.4	/
60	R	3.7	4.1	3.4	3.9	1.2	3.4	2.8	-	4.1	3.5	2.3	-	-	4.1	3.7	/	4.0	0.0	-
61	R	1.8	1.5	1.5	1.6	1.7	1.6	2.0	2.1	2.2	0.0	1.9	1.1	0.7	3.7	-	/	1.7	1.1	-
62	E	3.3	1.1	1.8	1.3	3.4	1.4	4.2	4.8	4.4	5.2	4.5	6.0	/	3.0	3.0	0.0	-	1.6	0.0
63	V	2.9	2.5	3.1	1.3	1.0	/	0.1	0.5	0.1	0.4	1.1	0.5	0.1	3.5	0.1	0.0	4.0	0.5	6.6
64	K	1.2	1.5	1.3	1.2	0.0	1.1	1.1	1.0	1.2	1.3	1.1	0.4	0.4	1.2	/	4.8	0.0	0.8	1.1
65	G	2.1	4.4	3.0	2.9	0.2	1.2	/	3.5	20.4	2.3	3.1	3.8	2.5	4.1	1.4	2.7	2.5	3.5	3.3
95	R	0.0	0.4	0.0	-	0.1	0.2	0.0	0.0	1.1	0.0	0.1	-	-	-	1.2	/	0.0	0.0	0.0

96	T	5.5	0.5	0.4	1.6	0.1	1.3	-	3.3	15.0	15.0	/	4.2	1.5	1.6	0.5	0.3	1.3	2.1	2.6
97	G	-	0.1	0.0	0.3	3.1	0.4	/	1.4	0.7	2.1	0.4	11.6	1.8	1.2	0.2	0.1	1.0	1.9	1.1
98	R	4.5	9.0	9.5	5.8	2.2	4.1	5.7	7.7	7.6	5.7	8.1	3.7	4.1	5.8	4.0	/	5.8	3.9	8.2
99	E	3.4	10.4	7.0	5.5	5.8	7.0	1.7	3.0	4.3	4.0	4.8	3.4	/	4.2	2.2	2.0	3.3	1.8	3.6
100	Y	1.6	5.0	1.6	3.3	2.7	3.4	1.2	3.2	1.5	1.3	1.6	3.0	1.5	3.2	1.9	2.2	2.1	3.6	/
100a	G	3.4	1.1	5.1	5.8	0.4	0.6	/	2.7	-	1.7	1.0	2.6	0.9	2.5	6.5	7.1	2.1	2.0	2.7
100b	G	5.3	1.0	0.4	0.4	0.8	0.9	/	1.1	1.0	2.3	1.1	1.4	1.2	0.6	-	0.2	0.0	0.0	0.2
100c	G	0.2	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	/	1.1	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0
100d	W	0.0	0.5	0.3	0.3	0.3	0.6	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	1.4	0.0	0.0	10.3	/	3.6
100e	Y	3.1	4.5	3.7	3.0	0.4	4.9	1.0	5.1	3.2	3.8	5.2	1.7	1.5	9.4	1.1	-	3.1	1.5	/
100f	F	11.7	24.9	7.6	8.6	7.8	23.2	-	18.6	6.3	8.0	11.3	1.3	2.0	0.7	0.0	0.6	/	0.1	0.7
101	D	3.2	4.1	2.1	1.8	8.6	3.9	2.3	3.2	2.6	3.1	2.9	/	2.7	2.4	2.3	2.5	2.1	3.0	2.5
102	Y	4.4	4.1	4.6	4.1	4.6	5.8	6.3	4.3	4.3	2.6	5.9	8.6	6.5	4.6	3.6	3.2	3.9	3.5	/

[0922] 抗FX抗体的H链修饰

[0923]

位置	突变	A	I	L	M	P	V	G	N	Q	S	T	D	E	H	K	R	F	W	Y
31	D	-	8.9	13.0	14.2	-	11.0	15.5	14.7	14.6	15.3	12.5	/	14.0	17.4	12.6	11.2	13.7	13.3	13.6
32	N	10.7	0.4	0.8	5.6	0.3	1.9	3.3	/	4.1	12.5	4.2	0.2	0.8	5.2	3.1	3.5	4.4	1.5	4.3
33	N	0.4	1.8	2.8	1.7	0.0	1.2	1.2	/	1.8	3.4	0.1	0.2	0.0	0.0	1.5	0.1	0.0	0.2	0.0
34	M	2.6	11.0	12.1	/	-	12.4	-	-	-	-	1.6	-	-	7.8	-	-	7.4	1.3	3.4
35	D	3.4	4.2	3.1	6.6	-	5.0	3.5	13.1	11.4	5.0	0.3	/	11.4	6.0	-	-	3.5	4.8	2.3
50	D	3.1	0.3	0.2	0.5	-	2.4	1.2	4.1	1.8	3.9	1.7	/	1.3	0.1	0.1	0.0	0.6	0.0	0.1
51	I	10.2	/	10.3	10.2	-	12.8	1.6	-	9.5	11.5	12.7	0.6	0.7	-	3.1	0.1	4.8	0.7	4.7
52	N	1.8	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.6	/	0.7	2.9	0.0	0.1	0.5	3.5	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0
52a	T	6.0	7.7	4.2	3.9	7.2	9.0	3.2	-	0.9	11.9	/	0.1	0.0	1.0	0.3	0.1	1.5	4.0	0.7
53	R	3.7	7.4	5.0	5.3	3.0	6.9	3.9	12.4	6.0	3.8	0.3	1.4	1.9	7.2	9.8	/	7.4	8.9	5.8
54	S	12.8	4.3	3.6	6.2	0.1	8.0	10.8	5.3	5.4	/	6.3	2.7	1.1	5.8	3.1	4.7	10.1	16.0	12.2
55	G	11.0	6.2	8.3	8.7	3.1	8.0	/	2.7	11.0	12.1	9.2	4.1	6.6	10.4	7.0	7.9	7.6	7.3	6.7
56	G	8.3	11.2	11.4	11.6	-	8.8	/	11.3	13.3	13.3	13.8	4.6	3.2	8.4	10.2	12.3	10.4	13.7	10.3
57	S	11.9	10.9	6.5	12.2	12.1	12.9	13.7	10.6	12.9	/	10.9	6.9	0.7	2.5	0.1	0.3	0.8	3.0	0.1

58	I	5.8	/	7.7	3.9	-	3.7	1.3	6.3	7.2	2.7	11.3	0.1	2.7	3.3	7.5	4.2	4.8	2.6	5.5
59	Y	3.2	11.8	5.9	3.7	0.4	1.3	1.7	5.9	7.8	7.2	9.4	6.7	6.0	12.7	4.0	3.2	4.9	6.6	/
60	N	11.0	9.0	10.4	10.2	5.0	9.6	5.2	/	6.1	2.2	1.1	10.7	4.4	2.2	4.6	10.1	9.8	10.0	11.7
61	E	17.6	12.5	10.8	6.4	6.8	2.3	7.5	2.6	11.1	12.0	7.9	3.6	/	5.3	9.6	6.9	8.1	7.7	6.9
62	E	9.5	9.9	10.6	11.1	9.3	11.6	13.6	13.0	15.2	4.2	2.9	-	/	9.3	9.8	12.6	10.0	13.7	10.9
63	F	12.5	11.3	6.3	12.1	-	12.2	13.1	12.6	10.2	12.3	-	11.3	6.3	15.9	7.8	6.2	/	16.7	16.3
64	Q	16.2	14.7	11.8	16.0	9.7	14.8	15.0	15.0	/	15.8	15.3	14.4	16.2	13.7	14.2	12.4	15.7	13.9	15.5
65	D	14.3	-	12.6	15.5	16.1	-	11.5	15.0	15.4	15.6	14.9	/	14.2	14.8	12.9	14.5	14.9	14.4	14.8
95	R	0.2	0.6	1.6	1.0	0.7	1.0	0.1	0.0	0.8	0.1	0.2	0.0	-	1.2	5.7	/	0.0	0.4	0.3
96	K	3.0	2.0	1.8	4.3	0.0	3.6	1.1	1.0	2.3	1.2	1.7	0.0	1.0	1.7	/	15.7	1.9	1.9	1.4
97	S	14.8	2.2	1.6	5.2	1.4	3.7	10.2	5.4	6.5	/	7.6	2.9	3.9	7.2	3.5	-	3.2	1.5	3.2
98	Y	2.2	1.1	1.9	7.3	0.1	1.4	1.4	1.3	1.9	1.9	1.0	0.2	0.2	8.8	1.5	7.9	6.9	4.2	/
99	G	4.6	-	-	5.2	0.0	0.5	/	7.6	7.6	6.8	1.7	8.8	3.7	6.1	5.7	7.2	6.3	3.7	4.0
100	Y	12.6	8.3	14.5	10.8	6.2	10.9	9.3	12.6	12.9	12.0	11.5	10.9	7.8	12.0	12.8	12.2	13.9	6.5	/
100	Y a	5.9	2.7	5.7	3.5	1.3	7.0	2.8	8.9	3.9	7.1	7.7	3.3	3.9	14.7	2.4	6.7	13.4	11.6	/
100	L b	4.1	10.6	/	12.9	0.6	7.2	0.0	4.8	3.9	1.9	3.1	1.5	0.3	8.0	0.8	0.2	14.8	6.2	11.2
101	D	6.5	5.2	5.4	5.3	6.7	6.8	6.7	6.7	7.0	6.8	6.2	/	7.0	3.4	4.4	4.1	-	-	-
102	E	12.1	11.7	10.8	11.7	6.9	13.3	12.6	11.2	11.3	9.4	10.2	12.5	/	10.3	10.9	10.5	10.5	12.7	12.9

## 序列表

<110> 中外制药株式会社

<120> 具有凝血因子VIII (FVIII) 辅因子功能替代活性的多特异性抗原结合分子及含有所述分子作为活性成分的药物制剂

<130> C1-A1716P

<150> JP 2017-189647

<151> 2017-09-29

<160> 287

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 1

Tyr Tyr Asp Ile Gln

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 2

Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys

1 5 10 15

[0001]

Gly

<210> 3

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 3

Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 4

Asp Asn Asn Met Asp

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 5

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln

	1	5	10	15
	Asp			
	<210>	6		
	<211>	10		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	6		
	Arg	Lys	Ser	Tyr
		Gly	Tyr	Tyr
			Leu	Asp
				Glu
	1	5	10	
	<210>	7		
	<211>	11		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	7		
	Lys	Ala	Ser	Arg
		Asn	Ile	Glu
			Arg	Gln
				Leu
				Ala
	1	5	10	
	<210>	8		
	<211>	7		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	8		
[0002]	Gln	Ala	Ser	Arg
		Lys	Glu	Ser
	1	5		
	<210>	9		
	<211>	9		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	9		
	Gln	Gln	Tyr	Ser
		Asp	Pro	Pro
			Leu	Thr
	1	5		
	<210>	10		
	<211>	448		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	10		
	Gln	Val	Gln	Leu
		Val	Glu	Ser
			Gly	Gly
			Gly	Gly
			Leu	Val
			Gln	Pro
				Gly
				Gly
	1	5	10	15
	Ser	Leu	Arg	Leu
		Ser	Cys	Ala
			Ala	Ser
			Gly	Gly
			Phe	Thr
				Phe
				Ser
				Tyr
				Tyr
		20	25	30
	Asp	Ile	Gln	Trp
		Val	Arg	Gln
			Ala	Pro
			Gly	Gly
			Lys	Gly
				Leu
				Glu
				Trp
				Val
		35	40	45
	Ser	Ser	Ile	Ser
		Pro	Ser	Gly
			Gln	Ser
			Thr	Tyr
				Tyr
				Arg
				Arg
				Glu
				Val
		50	55	60
	Lys	Gly	Arg	Phe
		Thr	Ile	Ser
			Arg	Asp
			Asn	Ser
				Lys
				Asn
				Thr
				Leu
				Tyr
				Tyr
				Cys
		65	70	75
	Leu	Gln	Met	Asn
		Ser	Leu	Arg
			Ala	Glu
			Asp	Thr
				Ala
				Val
				Tyr
				Tyr
				Cys

					85					90					95	
	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Arg	Glu	Tyr	Gly	Gly	Trp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	
				100					105				110			
	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
			115					120					125			
	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser
			130				135					140				
	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
			145			150					155					160
	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
				165						170						175
	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
			180						185					190		
	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val
			195					200					205			
	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys
			210				215					220				
	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly
			225			230					235					240
	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
				245						250						255
	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu
			260						265							270
	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
			275					280					285			
	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
			290				295					300				
	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
[0003]					310						315					320
	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu
				325							330					335
	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
			340						345							350
	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Lys	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
			355					360					365			
	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
			370			375						380				
	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
			385			390					395					400
	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
				405						410						415
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
			420						425							430
	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
			435					440								445
	<210>															
		11														
	<211>															
		444														
	<212>															
		PRT														
	<213>															
		人工序列														
	<220>															
	<223>															
		人工合成的序列														
	<400>															
		11														
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
				5						10					15	
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Asn
				20						25					30	
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met

		35					40				45						
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	Tyr	Asn	Glu	Glu	Phe	
		50					55					60					
	Gln	Asp	Arg	Val	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr	
	65					70					75					80	
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys	
					85					90					95		
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Glu	Trp	Gly	Glu	Gly	
				100					105					110			
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
				115					120					125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	
				130					135					140			
	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
	145					150						155				160	
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
					165					170					175		
	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
				180					185					190			
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	
				195					200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	
				210				215						220			
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
	225					230						235				240	
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
					245					250					255		
[0004]	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
				260					265					270			
	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
				275				280					285				
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
				290				295					300				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
	305					310						315				320	
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
					325					330					335		
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	
				340					345					350			
	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	
				355					360					365			
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
				370			375						380				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	
	385					390						395				400	
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
					405						410				415		
	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
				420					425					430			
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Glu	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro					
				435					440								
	<210>	12															
	<211>	214															
	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	人工合成的序列															

<400> 12  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

[0005]

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工合成的序列

&lt;400&gt; 13

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

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工合成的序列

&lt;400&gt; 14

	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Tyr
				20					25					30		
	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35					40					45			
	Tyr	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50					55					60				
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
	65					70					75				80	
	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Leu	Asn	Ser	Tyr	Leu	Gly
					85					90					95	
	Ile	Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys				
				100					105							
	<210>			15												
	<211>			111												
	<212>			PRT												
	<213>			人工序列												
	<220>															
	<223>			人工合成的序列												
	<400>			15												
	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly
	1				5					10					15	
	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Arg	Thr
				20					25					30		
	Asp	Gly	Lys	Ala	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
			35					40					45			
[0006]	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Glu	Val	Ser	Lys	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
		50					55					60				
	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
	65				70						75				80	
	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Arg
					85					90					95	
	Ile	Gln	Ala	Leu	Ser	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys	
				100					105						110	
	<210>			16												
	<211>			107												
	<212>			PRT												
	<213>			人工序列												
	<220>															
	<223>			人工合成的序列												
	<400>			16												
	Ser	Ser	Gly	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gln
	1				5					10					15	
	Thr	Ala	Ser	Ile	Thr	Cys	Ser	Gly	His	Lys	Val	Gly	Asp	Lys	Tyr	Ala
				20					25					30		
	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr
			35					40					45			
	Gln	Asp	Ser	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Ala	Ser
		50					55					60				
	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Thr	Gln	Ala	Val
	65				70						75				80	
	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Ala	Trp	Val	Pro	Asn	Ser	Gly	Tyr
					85					90					95	
	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Val					
				100					105							

<210> 17  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 17  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45  
 Met Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser  
 85 90 95  
 Ser Thr Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 100 105 110

<210> 18  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 18

[0007] Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Ser Pro Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly His Lys Val Gly Asp Lys Tyr Ala  
 20 25 30  
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr  
 35 40 45  
 Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Ala Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Val  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Val Pro Asn Ser Gly Tyr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Thr Gly Thr Gln Val Thr Val Val  
 100 105

<210> 19  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 19

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

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

<210> 20  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 20

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

[0008]

<210> 21  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 21

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

<210> 22  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 22

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

	Asp	Ser	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Phe	Thr	Asn	Tyr
				20					25					30		
	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Val	Leu	Ile
			35					40					45			
	Tyr	Gly	Ala	Ser	Thr	Leu	Gln	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50					55					60				
	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Glu	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Gln	Pro
	65					70					75					80
	Asp	Asp	Ser	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp
					85					90					95	
	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
				100					105							
	<210>	23														
	<211>	107														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	23														
	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Thr	Ser	Gln	Tyr	Ile	Gly	Thr	Tyr
				20					25					30		
	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35					40					45			
	Asn	Ser	Val	Ser	Arg	Leu	Gln	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Thr	Gly
		50					55					60				
[0009]	Gly	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
	65					70					75					80
	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp
					85					90					95	
	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Arg	Val	Glu	Ile	Lys					
				100					105							
	<210>	24														
	<211>	112														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	24														
	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly
	1				5					10					15	
	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Arg	Ser
				20					25					30		
	Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Gln	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
			35					40					45			
	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Glu	Val	Ser	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
		50					55					60				
	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Glu	Ile
	65					70					75					80
	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Asp	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly
					85					90					95	
	Leu	His	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Val	Lys
				100					105					110		
	<210>	25														
	<211>	108														
	<212>	PRT														

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 25

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

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 26

[0010]

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

<210> 27

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 27

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

				85					90					95	
Ser	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Asn	Val	Glu	Ile	Lys					
			100					105							
<210>	28														
<211>	107														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	人工合成的序列														
<400>	28														
Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Lys	Trp
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35				40						45			
Asp	Ser	Ala	Thr	Asn	Leu	Arg	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Leu	Ala	Phe	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Lys	Ser	Phe	Pro	Trp
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
			100					105							
<210>	29														
<211>	110														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	人工合成的序列														
<400>	29														
Gln	Ser	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35				40						45			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70					75					80
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu
				85					90					95	
Ser	Ala	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu		
			100					105					110		
<210>	30														
<211>	106														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	人工合成的序列														
<400>	30														
Ser	Tyr	Glu	Leu	Thr	Gln	Pro	Leu	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Thr	Ala	Arg	Ile	Pro	Cys	Gly	Gly	Asn	Asn	Ile	Gly	Asn	Lys	Asn	Val
			20					25				30			
His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr

35 40 45  
 Arg Asp Thr Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly His Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Ala Asp Tyr Ser Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Thr Val Val  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 100 105  
 <210> 31  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 31  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Ala Val  
 85 90 95  
 [0012] Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
 100 105  
 <210> 32  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 32  
 Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Ala Ala Pro Gly Gln Arg  
 1 5 10 15  
 Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn His Leu  
 20 25 30  
 Val Ser Trp His Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ala Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Asp Asn Asp Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Asp Ile Thr Gly Leu Gln Thr  
 65 70 75 80  
 Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Ala Ser Leu Arg  
 85 90 95  
 Ala Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 100 105  
 <210> 33  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列

<400> 33  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Arg Val Thr Val Ser Cys Asn Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Thr Gly  
 20 25 30  
 Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ile  
 35 40 45  
 Val Ile Phe Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Val Ile Ala Gly Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Ser  
 85 90 95  
 Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu  
 100 105 110

<210> 34  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 34

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Arg Tyr  
 20 25 30  
 Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val  
 35 40 45  
 [0013] Met Ile Tyr Asp Val Ile Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Ala  
 85 90 95  
 Ser Ser Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu  
 100 105 110

<210> 35  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 35

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

<210> 36  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 36  
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn  
 20 25 30  
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu  
 85 90 95  
 Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu  
 100 105 110

<210> 37  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 37

[0014] Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Arg Gln  
 1 5 10 15  
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Arg  
 20 25 30  
 Ala Val Ser Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Lys Pro Pro Arg Leu Ile  
 35 40 45  
 Val Tyr His Asp Asp Val Leu Ser Ser Gly Val Ser Gly Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln  
 65 70 75 80  
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Trp Asp Ala Arg Leu  
 85 90 95  
 Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 100 105 110

<210> 38  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 38

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

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

<210> 39  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 39

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

[0015]

<210> 40  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 40

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

<210> 41  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 41

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Phe Tyr  
 20 25 30  
 Lys Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45  
 Met Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser  
 85 90 95  
 Asn Thr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu  
 100 105  
 <210> 42  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 42  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 [0016] Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 <210> 43  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 43  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 <210> 44  
 <211> 107  
 <212> PRT

<213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 44  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
 100 105  
 <210> 45  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 45  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 46  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 46  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn  
 20 25 30  
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr



<400> 49  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Ser Gly His Asn Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 50  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 50  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn  
 20 25 30  
 [0019] Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr His Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 51  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 51  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn  
 20 25 30  
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Gly Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 52  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 52

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

[0020]

<210> 53  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 53

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

<210> 54  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 54

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Asn  
                           20                          25                          30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile  
                           35                          40                          45  
 Tyr Arg Ala Asp Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
                           50                          55                          60  
 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                          70                          75                          80  
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu  
                           85                          90                          95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                           100                          105  
 <210> 55  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 55  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1                          5                          10                          15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Asn  
                           20                          25                          30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile  
                           35                          40                          45  
 Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
                           50                          55                          60  
 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                          70                          75                          80  
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu  
                           85                          90                          95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                           100                          105  
 <210> 56  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 56  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                          5                          10                          15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr  
                           20                          25                          30  
 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                           35                          40                          45  
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val  
                           50                          55                          60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                          70                          75                          80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                           85                          90                          95  
 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Asp Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
                           100                          105                          110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                           115                          120  
 <210> 57

<211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 57  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ala Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 58  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 58

[0022]

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

<210> 59  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 59

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

		35					40					45					
	Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Glu	Val	
		50					55					60					
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65					70					75					80	
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90					95		
	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Arg	Glu	Glu	Gly	Gly	Trp	Ile	Phe	Asp	Tyr	Trp	
				100					105					110			
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
			115					120									
	<210>	60															
	<211>	122															
	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	人工合成的序列															
	<400>	60															
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Tyr	
				20					25					30			
	Asp	Ile	Gln	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35				40						45				
	Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Glu	Val	
		50					55					60					
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65					70					75				80		
[0023]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90					95		
	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Arg	Glu	Glu	Gly	Gly	Trp	Ile	Phe	Asp	Tyr	Trp	
				100					105					110			
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
			115					120									
	<210>	61															
	<211>	106															
	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	人工合成的序列															
	<400>	61															
	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	
	1				5					10					15		
	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Arg	Arg	Asp	
				20					25					30			
	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	
			35					40					45				
	Tyr	Gly	Ala	Ser	Arg	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	
		50					55				60						
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	
	65					70					75				80		
	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Lys	Ser	Pro	Leu	Thr	
					85					90					95		
	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys							
				100					105								
	<210>	62															
	<211>	106															

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 62  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 <210> 63  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 63  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 [0024] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 <210> 64  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 64  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80

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

<210> 65  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 65

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

<210> 66  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 66

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

<210> 67  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 67

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp  
 20 25 30

[0025]

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

<210> 68  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 68

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

[0026]

<210> 69  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 69

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

<210> 70  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>

<223> 人工合成的序列

<400> 70

```

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

```

<210> 71

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 71

```

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

```

[0027]

<210> 72

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 72

```

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

```

		100		105	
<210>	73				
<211>	119				
<212>	PRT				
<213>	人工序列				
<220>					
<223>	人工合成的序列				
<400>	73				
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala					
1		5		10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn		20		25	30
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		35		40	45
Gly Asp Ser Asn Thr Arg Ser Gly Thr Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe		50		55	60
Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr		65		70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys		85		90	95
Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly		100		105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
		115			
<210>	74				
<211>	119				
<212>	PRT				
<213>	人工序列				
<220>					
<223>	人工合成的序列				
<400>	74				
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala					
1		5		10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Asn		20		25	30
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		35		40	45
Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe		50		55	60
Gln Asn Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr		65		70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys		85		90	95
Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly		100		105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
		115			
<210>	75				
<211>	119				
<212>	PRT				
<213>	人工序列				
<220>					
<223>	人工合成的序列				
<400>	75				
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala					
1		5		10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn					

[0028]



			100					105						110			
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
			115														
	<210>	78															
	<211>	119															
	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	人工合成的序列															
	<400>	78															
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
	1			5						10					15		
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Glu	Phe	Thr	His	Asn	
			20						25					30			
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Lys	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
			35					40					45				
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Arg	Ser	Ile	Tyr	Asn	Glu	Glu	Phe	
	50						55					60					
	Gln	Asp	Arg	Val	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Ile	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr	
	65				70						75					80	
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys	
				85						90					95		
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Glu	Gly	
			100						105					110			
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
			115														
	<210>	79															
	<211>	119															
[0030]	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	人工合成的序列															
	<400>	79															
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
	1			5						10					15		
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gln	Asn	
			20						25					30			
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
			35					40					45				
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Gly	Val	Ile	Tyr	Asn	Glu	Glu	Phe	
	50						55					60					
	Gln	Asp	Arg	Leu	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr	
	65				70						75					80	
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys	
				85						90					95		
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Glu	Gly	
			100						105					110			
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
			115														
	<210>	80															
	<211>	119															
	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	人工合成的序列															
	<400>	80															
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	



Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 83  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 83  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn  
 20 25 30  
 Asn Met Asp Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Glu Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 84  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 84  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
 100 105  
 <210> 85  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 85  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln  
 1 5 10 15

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

<210> 86  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 86

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

[0033]

<210> 87  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 87

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

<210> 88  
 <211> 107  
 <212> PRT

<213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 88  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
 100 105  
 <210> 89  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 89  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 [0034] Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
 100 105  
 <210> 90  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 90  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65 70 75 80

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
 100 105

<210> 91  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 91

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

<210> 92  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 92

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

<210> 93  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 93

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Glu Lys Glu Val  
 20 25 30

[0035]

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
                   35                                  40                                  45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
                   50                                  55                                  60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65                                  70                                  75                                  80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val  
                                   85                                  90                                  95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
                                   100                                  105  
 <210> 94  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 94  
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1                                  5                                  10                                  15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Ile Gly Ser Lys Glu Val  
                                   20                                  25                                  30  
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
                   35                                  40                                  45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
                   50                                  55                                  60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65                                  70                                  75                                  80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
                                   85                                  90                                  95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
                                   100                                  105  
 <210> 95  
 <211> 325  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 95  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1                                  5                                  10                                  15  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
                                   20                                  25                                  30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
                   35                                  40                                  45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
                   50                                  55                                  60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65                                  70                                  75                                  80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
                                   85                                  90                                  95  
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
                                   100                                  105                                  110  
 Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
                   115                                  120                                  125  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
                   130                                  135                                  140  
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

[0036]

145 150 155 160  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr  
 165 170 175  
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 210 215 220  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys  
 225 230 235 240  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 245 250 255  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 260 265 270  
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 275 280 285  
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
 290 295 300  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 305 310 315 320  
 Leu Ser Leu Ser Pro  
 325

<210> 96

<211> 325

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0037] <223> 人工合成的序列

<400> 96

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





<211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 99  
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 20 25 30  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 35 40 45  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 65 70 75 80  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

<210> 100  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 100

[0040] Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 20 25 30  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 35 40 45  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 65 70 75 80  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

<210> 101  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 101

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

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

<210> 102  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工合成的序列  
<400> 102

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

[0041]

<210> 103  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工合成的序列  
<400> 103

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

<210> 104  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工合成的序列  
<400> 104

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

	Glu	Glu	Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp
				20					25					30		
	Phe	Tyr	Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro
			35					40					45			
	Val	Lys	Ala	Gly	Val	Arg	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn
		50					55					60				
	Lys	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys
	65					70					75					80
	Ser	His	Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val
				85						90					95	
	Glu	Lys	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser						
				100					105							
	<210>			105												
	<211>			122												
	<212>			PRT												
	<213>			人工序列												
	<220>															
	<223>			人工合成的序列												
	<400>			105												
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Tyr
				20					25					30		
	Asp	Ile	Gln	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35					40					45			
	Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Glu	Val
		50					55					60				
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65					70					75					80
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85						90					95	
	Ala	Arg	Arg	Thr	Asp	Arg	Glu	Asp	His	Gly	Trp	Ile	Phe	Asp	Tyr	Trp
				100					105					110		
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
				115					120							
	<210>			106												
	<211>			122												
	<212>			PRT												
	<213>			人工序列												
	<220>															
	<223>			人工合成的序列												
	<400>			106												
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Tyr
				20					25					30		
	Asp	Ile	Gln	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35					40					45			
	Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Glu	Val
		50					55					60				
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65					70					75					80
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85						90					95	
	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Arg	Glu	Glu	Gly	Gly	Trp	Ile	Phe	Asp	Tyr	Trp
				100					105					110		
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser						



Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 <210> 109  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 109  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn  
 20 25 30  
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 110  
 <211> 325  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 110  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95  
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro



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

<210> 113  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 113

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

[0046]

<210> 114  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 114

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

100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 115  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 115  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val  
 100 105  
 <210> 116  
 <211> 325  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 116  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95  
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110  
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 130 135 140  
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 145 150 155 160  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr  
 165 170 175  
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

[0047]

		195					200				205					
	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
		210					215					220				
	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
	225					230					235					240
	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
					245					250					255	
	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
				260					265					270		
	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
			275					280					285			
	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
		290					295					300				
	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu
	305					310					315					320
	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro											
					325											
	<210>	117														
	<211>	325														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	117														
	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
	1				5					10					15	
	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20						25					30		
[0048]	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35					40					45			
	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
		50				55						60				
	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
	65					70					75					80
	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85						90					95	
	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
			100						105						110	
	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
			115					120					125			
	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
		130					135						140			
	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
	145					150					155					160
	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
				165						170					175	
	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
			180						185					190		
	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
			195					200						205		
	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
		210					215					220				
	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Lys	Glu	Met	Thr	Lys
	225					230					235					240
	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
				245						250					255	
	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys





Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Asp Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
 115 120 125  
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser  
 130 135 140  
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val  
 145 150 155 160  
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
 165 170 175  
 Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 180 185 190  
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val  
 195 200 205  
 Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys  
 210 215 220  
 [0051] Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 245 250 255  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu  
 260 265 270  
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 275 280 285  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 290 295 300  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu  
 325 330 335  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 340 345 350  
 Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 355 360 365  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 370 375 380  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 385 390 395 400  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 405 410 415  
 Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His  
 420 425 430  
 Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro  
 435 440 445  
 <210> 121

<211> 448  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 121  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ala Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
 115 120 125  
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser  
 130 135 140  
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val  
 145 150 155 160  
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
 165 170 175  
 [0052] Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 180 185 190  
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val  
 195 200 205  
 Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys  
 210 215 220  
 Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 245 250 255  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser Gln Glu  
 260 265 270  
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 275 280 285  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 290 295 300  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu  
 325 330 335  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 340 345 350  
 Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 355 360 365  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 370 375 380  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 385 390 395 400  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

				405						410				415			
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	
				420					425					430			
	Glu	Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Lys	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
			435					440					445				
	<210>	122															
	<211>	447															
	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	人工合成的序列															
	<400>	122															
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1			5					10					15			
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Tyr	
			20						25					30			
	Asp	Ile	Gln	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35					40					45				
	Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Glu	Val	
		50					55					60					
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65				70					75					80		
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85						90				95			
	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Arg	Glu	Asp	Gly	Gly	Trp	His	Phe	Asp	Tyr	Trp	
				100					105					110			
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	
			115					120						125			
[0053]	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	
		130					135					140					
	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	
					150					155					160		
	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	
				165						170					175		
	Ala	Val	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	
			180						185					190			
	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	
			195					200					205				
	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	
		210					215					220					
	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	
					230						235				240		
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245						250					255		
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	
				260					265					270			
	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
			275					280					285				
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
			290				295					300					
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
					310						315				320		
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	
				325							330				335		
	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
				340					345					350			
	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Lys	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	

		355					360					365					
	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
		370					375					380					
	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	
	385					390					395					400	
	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
				405					410						415		
	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	
			420					425						430			
	Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Lys	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro		
			435					440						445			
	<210>	123															
	<211>	447															
	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	人工合成的序列															
	<400>	123															
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Tyr	
			20					25						30			
	Asp	Ile	Gln	Trp	Val	Arg	Glu	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35				40						45				
	Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Glu	Val	
		50					55					60					
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65					70				75					80		
[0054]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85						90					95		
	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Arg	Glu	Glu	Gly	Gly	Trp	Ile	Phe	Asp	Tyr	Trp	
				100					105					110			
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	
			115					120						125			
	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	
		130					135					140					
	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	
	145					150					155					160	
	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	
				165						170						175	
	Ala	Val	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	
				180					185					190			
	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	
			195					200					205				
	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	
		210					215					220					
	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	
	225					230					235					240	
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245							250				255		
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	
				260					265					270			
	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
			275					280					285				
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
		290					295					300					
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	

	305				310					315				320		
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys
					325					330				335		
	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
				340						345				350		
	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Lys	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
			355					360					365			
	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
			370				375					380				
	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
	385					390					395				400	
	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
				405						410				415		
	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu
			420						425					430		
	Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Lys	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
			435					440					445			
	<210>	124														
	<211>	447														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	124														
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Tyr
			20						25					30		
[0055]	Asp	Ile	Gln	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40						45			
	Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Glu	Val
		50				55						60				
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65					70					75				80	
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85						90					95	
	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Arg	Glu	Glu	Gly	Gly	Trp	Ile	Phe	Asp	Tyr	Trp
			100						105					110		
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
			115					120						125		
	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr
		130				135						140				
	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
	145					150					155				160	
	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
				165							170				175	
	Ala	Val	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
			180						185					190		
	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp
			195					200						205		
	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr
		210				215						220				
	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro
	225					230					235				240	
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
				245						250					255	
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp

			260					265				270				
Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
			275				280					285				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
	290					295					300					
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305					310					315					320	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	
				325					330					335		
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
			340					345					350			
Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Lys	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	
		355					360					365				
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
	370					375					380					
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Pro	Pro	Val	Leu		
385					390					395				400		
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
				405					410					415		
Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	
			420					425					430			
Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Lys	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro		
		435					440					445				
<210>	125															
<211>	447															
<212>	PRT															
<213>	人工序列															
[0056]	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	125														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
1				5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	His	Tyr	
		20						25					30			
Asp	Ile	Gln	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
	35					40						45				
Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gln	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Glu	Val	
	50					55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
65					70					75				80		
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Arg	Thr	Asp	Arg	Glu	Asp	His	Gly	Trp	Ile	Phe	Asp	Tyr	Trp	
			100					105					110			
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	
		115					120					125				
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	
	130					135					140					
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	
145				150						155				160		
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	
			165						170					175		
Ala	Val	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	
			180					185					190			
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	
		195					200					205				

	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr
	210						215					220				
	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro
	225					230					235					240
	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
					245						250					255
	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp
				260						265					270	
	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
				275					280					285		
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
							295						300			
	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
	305					310						315				320
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys
					325						330				335	
	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
				340						345					350	
	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Lys	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
			355					360					365			
	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
	370						375						380			
	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
	385					390						395				400
	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
					405						410				415	
	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu
				420					425					430		
[0057]	Ala	Leu	His	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Lys	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
			435					440						445		
	<210>	126														
	<211>	213														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	126														
	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly
	1				5					10					15	
	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Arg	Arg	Asp
			20						25					30		
	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
			35					40					45			
	Tyr	Gly	Ala	Ser	Arg	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
		50					55					60				
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser
	65					70					75					80
	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Lys	Ser	Pro	Leu	Thr
					85						90				95	
	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro
				100						105				110		
	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr
			115						120					125		
	Ala	Glu	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys
						130			135				140			
	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu
	145					150						155				160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser  
 165 170 175  
 Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala  
 180 185 190  
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe  
 195 200 205  
 Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 127  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 127  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro  
 100 105 110  
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
 115 120 125  
 Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys  
 130 135 140  
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser  
 165 170 175  
 Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala  
 180 185 190  
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe  
 195 200 205  
 Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 128  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 128  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

[0058]



<211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 130  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 [0060] Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 131  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 131  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 132  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 132  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 133  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 133  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu

			20					25				30			
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Lys	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Gly	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Arg	Asp	Pro	Pro	Gly
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115					120					125			
Thr	Ala	Glu	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
	130					135					140				
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155				160	
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
				165					170					175	
Ser	Thr	Leu	Glu	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
			180					185					190		
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
		195					200					205			
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
	210														
<210>	134														
<211>	214														
<212>	PRT														
[0062] <213>	人工序列														
<220>															
<223>	人工合成的序列														
<400>	134														
Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Arg	Ser	Val	Arg	Arg	Glu
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Gly	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser
65					70					75				80	
Glu	Asp	Met	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Arg	Asp	Pro	Pro	Gly
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115					120					125			
Thr	Ala	Glu	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
	130					135					140				
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155				160	
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
				165					170					175	
Ser	Thr	Leu	Glu	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
			180					185					190		
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser



				85					90					95					
	Thr	Phe	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala				
				100				105					110						
	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly			
				115				120					125						
	Thr	Ala	Glu	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala			
				130				135				140							
	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln			
				145				150				155				160			
	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser			
				165								170				175			
	Ser	Thr	Leu	Glu	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr			
				180												190			
	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser			
				195				200						205					
	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys													
				210															
	<210>			137															
	<211>			214															
	<212>			PRT															
	<213>			人工序列															
	<220>																		
	<223>			人工合成的序列															
	<400>			137															
	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly			
	1				5					10					15				
	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Thr	Arg	Ser	Val	Arg	Arg	Asp			
				20					25					30					
[0064]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ile			
				35				40					45						
	Tyr	Gly	Ala	Ser	Arg	Arg	Glu	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly			
				50				55				60							
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Asn	Ser	Leu	Glu	Ala			
	65					70					75					80			
	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Arg	Asp	Pro	Pro	Gly			
					85					90						95			
	Thr	Phe	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala				
				100				105					110						
	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly			
				115				120					125						
	Thr	Ala	Glu	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala			
				130				135				140							
	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln			
				145				150				155				160			
	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser			
				165								170				175			
	Ser	Thr	Leu	Glu	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr			
				180												190			
	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser			
				195				200						205					
	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys													
				210															
	<210>			138															
	<211>			444															
	<212>			PRT															
	<213>			人工序列															
	<220>																		

<223> 人工合成的序列  
 <400> 138  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn  
 20 25 30  
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ser Asn Thr Arg Ser Gly Thr Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125  
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175  
 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190  
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
 195 200 205  
 [0065] Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro  
 210 215 220  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 225 230 235 240  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 245 250 255  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 260 265 270  
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 275 280 285  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 290 295 300  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 305 310 315 320  
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 325 330 335  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 340 345 350  
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 355 360 365  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 370 375 380  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 405 410 415  
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His  
 420 425 430  
 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro



	385				390					395				400		
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					405					410				415		
	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His
				420					425					430		
	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro				
			435					440								
	<210>	140														
	<211>	444														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	140														
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Asn
				20					25					30		
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40					45			
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Arg	Val	Ile	Ser	Asn	Glu	Glu	Phe
	50					55						60				
	Gln	Asp	Arg	Val	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75					80
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys
					85					90					95	
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Glu	Trp	Gly	Glu	Gly
				100					105					110		
[0067]	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			115					120					125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu
			130				135					140				
	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145					150					155					160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165						170					175	
	Glu	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
			180						185					190		
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
			195				200						205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro
		210					215					220				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	225					230					235					240
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
				245						250					255	
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
			260						265					270		
	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			275					280					285			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
		290					295					300				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305					310					315					320
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				325						330						335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 340 345 350  
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 355 360 365  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 370 375 380  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 405 410 415  
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His  
 420 425 430  
 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro  
 435 440  
 <210> 141  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 141  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn  
 20 25 30  
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Gln Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125  
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175  
 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190  
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
 195 200 205  
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro  
 210 215 220  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 225 230 235 240  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 245 250 255  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 260 265 270  
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 275 280 285

[0068]

	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
	290						295					300				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305					310					315					320
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
					325					330					335	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340					345					350		
	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
			355					360					365			
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
	370						375					380				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				405						410					415	
	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His
				420					425					430		
	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro				
			435					440								
	<210>	142														
	<211>	444														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	142														
[0069]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1			5						10					15	
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gln	Asn
			20						25					30		
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Lys	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40					45			
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Gly	Val	Ile	Tyr	Asn	Glu	Glu	Phe
	50					55						60				
	Gln	Asp	Arg	Leu	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75					80
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys
				85						90					95	
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Glu	Gly
				100					105					110		
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			115					120					125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu
			130				135					140				
	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145					150					155					160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165						170					175	
	Glu	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180					185					190		
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
			195					200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro
		210					215					220				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	225					230					235					240

	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					245					250					255	
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				260				265						270		
	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			275					280					285			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
		290					295					300				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305				310						315				320	
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				325						330					335	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340				345						350		
	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
			355					360					365			
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
		370					375					380				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				405						410					415	
	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His
				420					425					430		
	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro				
			435					440								
	<210>		143													
	<211>		444													
[0070]	<212>		PRT													
	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		人工合成的序列													
	<400>		143													
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10				15		
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Glu	Phe	Thr	His	Asn
			20						25					30		
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Lys	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40					45			
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Arg	Ser	Ile	Tyr	Asn	Glu	Glu	Phe
	50						55					60				
	Gln	Asp	Arg	Val	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Ile	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75					80
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys
				85						90					95	
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Glu	Gly
				100					105					110		
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			115					120					125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu
			130				135					140				
	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145					150					155					160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165						170					175	
	Glu	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180					185						190	

	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
			195					200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro
		210					215					220				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	225					230					235					240
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					245					250					255	
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				260					265					270		
	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			275					280					285			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
		290					295					300				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305					310					315					320
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
					325					330					335	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340					345						350	
	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
			355					360					365			
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
		370					375					380				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				405						410					415	
[0071]	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His
				420				425						430		
	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro				
			435					440								
	<210>		144													
	<211>		444													
	<212>		PRT													
	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		人工合成的序列													
	<400>		144													
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gln	Asn
				20					25					30		
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40					45			
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Gly	Val	Ile	Tyr	Asn	Glu	Glu	Phe
		50					55					60				
	Gln	Asp	Arg	Leu	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75					80
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys
					85					90					95	
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Glu	Gly
				100					105					110		
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
				115					120				125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu
		130					135						140			

	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145					150					155					160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
					165					170					175	
	Glu	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180					185					190		
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
			195					200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro
			210				215					220				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	225					230					235					240
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					245					250					255	
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				260					265					270		
	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			275					280					285			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
			290				295					300				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305					310					315					320
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				325						330					335	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340					345					350		
	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
			355					360					365			
[0072]	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
			370				375					380				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				405						410					415	
	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His
				420					425					430		
	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro				
			435					440								
	<210>		145													
	<211>		444													
	<212>		PRT													
	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		人工合成的序列													
	<400>		145													
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10					15	
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gln	Asn
			20						25					30		
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Lys	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35					40					45			
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Gly	Val	Ile	Tyr	Asn	Glu	Glu	Phe
	50					55						60				
	Gln	Asp	Arg	Leu	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75					80
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys

				85					90				95			
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Glu	Trp	Gly	Glu	Gly
				100					105					110		
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
				115				120					125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu
				130			135					140				
	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145					150					155					160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165						170					175	
	Glu	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180					185					190		
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
			195					200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro
			210				215					220				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	225					230					235					240
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
				245						250						255
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				260				265						270		
	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			275					280					285			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
			290				295					300				
[0073]	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	305					310					315					320
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				325						330					335	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340				345						350		
	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
				355				360					365			
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
			370				375					380				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	385					390					395					400
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				405						410					415	
	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His
				420				425						430		
	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro				
			435					440								
	<210>		146													
	<211>		444													
	<212>		PRT													
	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		人工合成的序列													
	<400>		146													
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1			5						10				15		
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gln	Asn
				20					25					30		
	Asn	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met

		35					40				45								
	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	Ser	Gly	Gly	Val	Ile	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe			
		50					55					60							
	Gln	Asp	Arg	Val	Ile	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr			
	65					70					75					80			
	Met	Glu	Leu	Ser	Glu	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	His	Cys			
					85					90					95				
	Ala	Arg	Arg	Lys	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Glu	Gly			
				100					105					110					
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe			
				115					120					125					
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu			
				130					135					140					
	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp			
	145					150						155				160			
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu			
				165						170					175				
	Glu	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser			
				180						185					190				
	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro			
			195						200					205					
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro			
			210					215						220					
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe			
	225					230						235				240			
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro			
				245							250				255				
[0074]	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val			
				260					265					270					
	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr			
			275					280					285						
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val			
			290					295					300						
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys			
	305					310						315				320			
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser			
				325							330				335				
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro			
				340					345					350					
	Ser	Gln	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val				
			355					360						365					
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly			
			370				375						380						
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp			
	385					390						395				400			
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp			
				405							410				415				
	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His			
				420						425				430					
	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro							
			435					440											
	<210>	147																	
	<211>	444																	
	<212>	PRT																	
	<213>	人工序列																	
	<220>																		
	<223>	人工合成的序列																	

<400> 147  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Thr His Asn  
 20 25 30  
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Arg Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Ile Ser Thr Asp Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125  
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175  
 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190  
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
 195 200 205  
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro  
 210 215 220  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 225 230 235 240  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 245 250 255  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 260 265 270  
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 275 280 285  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 290 295 300  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 305 310 315 320  
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 325 330 335  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 340 345 350  
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 355 360 365  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 370 375 380  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 405 410 415  
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His  
 420 425 430  
 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro  
 435 440

[0075]

<210> 148  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 148  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn  
 20 25 30  
 Asn Met Asp Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe  
 50 55 60  
 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Glu Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125  
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175  
 [0076] Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190  
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
 195 200 205  
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro  
 210 215 220  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 225 230 235 240  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 245 250 255  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 260 265 270  
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 275 280 285  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 290 295 300  
  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 305 310 315 320  
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 325 330 335  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 340 345 350  
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 355 360 365  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 370 375 380  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

	385				390					395				400		
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					405					410				415		
	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Ala	Leu	His
				420					425					430		
	Ala	His	Tyr	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro				
			435					440								
	<210>	149														
	<211>	213														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	149														
	Ser	Tyr	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Val	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Arg	Gly	Gln
	1				5					10					15	
	Thr	Ala	Thr	Ile	Thr	Cys	Glu	Gly	Asn	His	Ile	Gly	Asp	Lys	His	Val
				20					25					30		
	His	Trp	Tyr	His	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Ile	Leu	Val	Met	Phe
			35					40					45			
	Arg	Asp	Ala	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Leu	Ser	Gly	Ser
		50					55					60				
	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Ala	Gln	Ala	Gly
	65				70						75					80
	Asp	Glu	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Tyr	Thr
				85						90					95	
	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Val	Gly	Gln	Pro	Lys	Ala
				100					105					110		
[0077]	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu	Leu	Gln	Ala
			115					120					125			
	Asn	Lys	Ala	Lys	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Gly	Ala
		130					135					140				
	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys	Ala	Gly	Val
	145					150					155					160
	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr	Ala	Ala	Ser
				165						170					175	
	Ser	Tyr	Leu	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His	Arg	Ser	Tyr
			180						185					190		
	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys	Thr	Val	Ala
			195					200					205			
	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser											
			210													
	<210>	150														
	<211>	213														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	人工合成的序列														
	<400>	150														
	Ser	Tyr	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Val	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Arg	Gly	Gln
	1				5					10					15	
	Thr	Ala	Thr	Ile	Thr	Cys	Glu	Gly	Asn	His	Ile	Gly	Asp	Lys	His	Val
				20					25					30		
	His	Trp	Tyr	His	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Ile	Leu	Val	Met	Phe
			35					40					45			
	Gln	Asp	Ala	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Leu	Ser	Gly	Ser
		50					55					60				

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala  
 100 105 110  
 Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala  
 115 120 125  
 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala  
 130 135 140  
 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val  
 145 150 155 160  
 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser  
 165 170 175  
 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr  
 180 185 190  
 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala  
 195 200 205  
 Pro Thr Glu Cys Ser  
 210

<210> 151  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 151

[0078]

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

<210> 152  
 <211> 212

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 152  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Ser Gln Lys Gln Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly  
 65 70 75 80  
  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ala Val Val  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
 115 120 125  
 Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
 130 135 140  
 Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
 145 150 155 160  
 Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
 165 170 175  
 [0079] Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
 180 185 190  
 Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
 195 200 205  
 Thr Glu Cys Ser  
 210  
 <210> 153  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 153  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala  
 100 105 110  
 Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala  
 115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala  
 130 135 140  
 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val  
 145 150 155 160  
 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser  
 165 170 175  
 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr  
 180 185 190  
 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala  
 195 200 205  
 Pro Thr Glu Cys Ser  
 210  
 <210> 154  
 <211> 212  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 154  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
 115 120 125  
 Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
 130 135 140  
 Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
 145 150 155 160  
 Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
 165 170 175  
 Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
 180 185 190  
 Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
 195 200 205  
 Thr Glu Cys Ser  
 210  
 <210> 155  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 155  
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val

			20					25				30				
	His	Trp	Tyr	His	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Ile	Leu	Val	Met	Phe
			35					40					45			
	Arg	Asp	Ala	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Leu	Ser	Gly	Ser
			50				55					60				
	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Ala	Glu	Ala	Gly
	65					70					75				80	
	Asp	Glu	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Tyr	Thr
					85					90					95	
	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Val	Gly	Gln	Pro	Lys	Ala
					100				105					110		
	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu	Leu	Gln	Ala
			115					120					125			
	Asn	Lys	Ala	Lys	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Gly	Ala
	130						135					140				
	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys	Ala	Gly	Val
	145					150					155				160	
	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr	Ala	Ala	Ser
					165					170					175	
	Ser	Tyr	Leu	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His	Arg	Ser	Tyr
					180					185				190		
	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys	Thr	Val	Ala
			195					200					205			
	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser											
			210													
	<210>		156													
	<211>		213													
	<212>		PRT													
[0081]	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		人工合成的序列													
	<400>		156													
	Ser	Tyr	Glu	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Leu	Gly	Gln
	1				5					10					15	
	Thr	Ala	Thr	Ile	Thr	Cys	Glu	Gly	Glu	Gln	Ile	Gly	Ser	Lys	Glu	Val
					20					25				30		
	His	Trp	Tyr	His	Glu	Arg	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Ile	Leu	Val	Ile	Tyr
			35					40					45			
	Arg	Asp	Ala	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Leu	Ser	Gly	Ser
			50				55					60				
	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Ala	Glu	Ala	Gly
	65					70					75				80	
	Asp	Glu	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Tyr	Thr
					85					90					95	
	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Val	Gly	Gln	Pro	Lys	Ala
					100				105					110		
	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu	Leu	Gln	Ala
			115					120					125			
	Asn	Lys	Ala	Lys	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Gly	Ala
	130						135					140				
	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys	Ala	Gly	Val
	145					150					155				160	
	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr	Ala	Ala	Ser
					165					170					175	
	Ser	Tyr	Leu	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His	Arg	Ser	Tyr
					180					185				190		
	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys	Thr	Val	Ala



Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn  
 115 120 125  
 Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val  
 130 135 140  
 Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu  
 145 150 155 160  
 Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser  
 165 170 175  
 Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser  
 180 185 190  
 Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro  
 195 200 205  
 Thr Glu Cys Ser  
 210  
 <210> 159  
 <211> 213  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 159  
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val  
 20 25 30  
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe  
 35 40 45  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr  
 85 90 95  
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala  
 100 105 110  
 Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala  
 115 120 125  
 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala  
 130 135 140  
 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val  
 145 150 155 160  
 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser  
 165 170 175  
 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr  
 180 185 190  
 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala  
 195 200 205  
 Pro Thr Glu Cys Ser  
 210  
 <210> 160  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列

<400> 160  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 161

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 161

[0084]

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

<210> 162

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 162

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala  
 1 5 10

<210> 163

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 163

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr  
 1 5  
 <210> 164  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 164  
 Gln Gln Tyr Lys Arg Pro Leu Thr  
 1 5  
 <210> 165  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 165  
 Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His  
 1 5 10  
 <210> 166  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 166  
 [0085] Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser  
 1 5  
 <210> 167  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 167  
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Ala Val Val  
 1 5 10  
 <210> 168  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 168  
 Tyr Tyr Asp Ile Gln  
 1 5  
 <210> 169  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 169  
 Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 170  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 170  
 Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Asp Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 171  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 171  
 Tyr Tyr Asp Ala Gln  
 1 5

<210> 172  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 172  
 Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys  
 [0086] 1 5 10 15  
 Gly

<210> 173  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 173  
 Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 174  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 174  
 Tyr Tyr Asp Ile Gln  
 1 5

<210> 175  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 175  
 Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys

	1	5	10	15
	Gly			
	<210>	176		
	<211>	13		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	176		
	Arg Thr Gly Arg Glu Asp Gly Gly Trp His Phe Asp Tyr			
	1	5	10	
	<210>	177		
	<211>	5		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	177		
	Tyr Tyr Asp Ile Gln			
	1	5		
	<210>	178		
	<211>	17		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	178		
[0087]	Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys			
	1	5	10	15
	Gly			
	<210>	179		
	<211>	13		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	179		
	Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr			
	1	5	10	
	<210>	180		
	<211>	5		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	180		
	Tyr Tyr Asp Ile Gln			
	1	5		
	<210>	181		
	<211>	17		
	<212>	PRT		
	<213>	人工序列		
	<220>			
	<223>	人工合成的序列		
	<400>	181		

	Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys
	1 5 10 15
	Gly
	<210> 182
	<211> 13
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工合成的序列
	<400> 182
	Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr
	1 5 10
	<210> 183
	<211> 5
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工合成的序列
	<400> 183
	His Tyr Asp Ile Gln
	1 5
	<210> 184
	<211> 17
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工合成的序列
[0088]	<400> 184
	Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys
	1 5 10 15
	Gly
	<210> 185
	<211> 13
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工合成的序列
	<400> 185
	Arg Thr Asp Arg Glu Asp His Gly Trp Ile Phe Asp Tyr
	1 5 10
	<210> 186
	<211> 11
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 人工合成的序列
	<400> 186
	Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
	1 5 10
	<210> 187
	<211> 7
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>

<223> 人工合成的序列  
 <400> 187  
 Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr  
 1 5  
 <210> 188  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 188  
 Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr  
 1 5  
 <210> 189  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 189  
 Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 190  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 190  
 Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr  
 1 5  
 <210> 191  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 191  
 Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr  
 1 5  
 <210> 192  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 192  
 Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 193  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 193  
 Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr

[0089]

1 5  
 <210> 194  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 194  
 Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr  
 1 5  
 <210> 195  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 195  
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 196  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 196  
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr  
 1 5  
 [0090] <210> 197  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 197  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Leu Thr  
 1 5  
 <210> 198  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 198  
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 199  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 199  
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr  
 1 5  
 <210> 200  
 <211> 9

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 200  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr  
 1 5  
 <210> 201  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 201  
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 202  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 202  
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr  
 1 5  
 <210> 203  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 [0091] <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 203  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr  
 1 5  
 <210> 204  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 204  
 Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 205  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 205  
 Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr  
 1 5  
 <210> 206  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>

<223> 人工合成的序列  
 <400> 206  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr  
 1 5  
 <210> 207  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 207  
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 208  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 208  
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr  
 1 5  
 <210> 209  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 209  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr  
 1 5  
 <210> 210  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 210  
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 211  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 211  
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr  
 1 5  
 <210> 212  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 212  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr

[0092]

1 5  
 <210> 213  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 213  
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 214  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 214  
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr  
 1 5  
 <210> 215  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 215  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr  
 1 5  
 [0093] <210> 216  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 216  
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 217  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 217  
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr  
 1 5  
 <210> 218  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 218  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr  
 1 5  
 <210> 219  
 <211> 11

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 219  
 Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala  
 1 5 10  
 <210> 220  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 220  
 Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr  
 1 5  
 <210> 221  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 221  
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr  
 1 5  
 <210> 222  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 [0094] <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 222  
 Asp Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 223  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 223  
 Asp Ser Asn Thr Arg Ser Gly Thr Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 224  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 224  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10  
 <210> 225  
 <211> 5

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 225  
 Asn Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 226  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 226  
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asn  
 <210> 227  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 227  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val  
 1 5 10  
 [0095]  
 <210> 228  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 228  
 Asp Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 229  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 229  
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Val Ile Ser Asn Glu Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 230  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 230  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10  
 <210> 231

<211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 231  
 Gln Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 232  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 232  
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Gln  
 <210> 233  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 233  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val  
 1 5 10  
 [0096] <210> 234  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 234  
 Gln Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 235  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 235  
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 236  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 236  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val  
 1 5 10

<210> 237  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 237  
 His Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 238  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 238  
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 239  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 239  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val  
 1 5 10  
 [0097]  
 <210> 240  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 240  
 Gln Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 241  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 241  
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 242  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 242  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val



Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val  
 1 5 10  
 <210> 249  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 249  
 His Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 250  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 250  
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Arg Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 251  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 [0099] <223> 人工合成的序列  
 <400> 251  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10  
 <210> 252  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 252  
 Gln Asn Asn Met Asp  
 1 5  
 <210> 253  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 253  
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 254  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>

<223> 人工合成的序列  
 <400> 254  
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10  
 <210> 255  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 255  
 Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His  
 1 5 10  
 <210> 256  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 256  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser  
 1 5  
 <210> 257  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 257  
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val  
 1 5 10  
 <210> 258  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 258  
 Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His  
 1 5 10  
 <210> 259  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 259  
 Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser  
 1 5  
 <210> 260  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 260  
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val

[0100]

	1		5		10
	<210>	261			
	<211>	11			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	261			
		Thr Gly Asn His Ile Ser Asp Lys His Val His			
	1		5		10
	<210>	262			
	<211>	7			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	262			
		Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser			
	1		5		
	<210>	263			
	<211>	10			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	263			
		Gln Val Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Thr Val			
	1		5		10
[0101]	<210>	264			
	<211>	11			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	264			
		Glu Gly Asn Gln Ile Ser Gln Lys Gln Val His			
	1		5		10
	<210>	265			
	<211>	7			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	265			
		Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser			
	1		5		
	<210>	266			
	<211>	9			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	266			
		Gln Val Trp Asp Ser Ser Ala Val Val			
	1		5		
	<210>	267			
	<211>	11			

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 267  
 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His  
 1 5 10  
 <210> 268  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 268  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser  
 1 5  
 <210> 269  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 269  
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val  
 1 5 10  
 <210> 270  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 [0102] <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 270  
 Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val His  
 1 5 10  
 <210> 271  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 271  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser  
 1 5  
 <210> 272  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 272  
 Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val  
 1 5  
 <210> 273  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>

<223> 人工合成的序列  
 <400> 273  
 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His  
 1 5 10  
 <210> 274  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 274  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser  
 1 5  
 <210> 275  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 275  
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val  
 1 5 10  
 <210> 276  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 276  
 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His  
 1 5 10  
 <210> 277  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 277  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser  
 1 5  
 <210> 278  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 278  
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val  
 1 5 10  
 <210> 279  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 279  
 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His

[0103]

	1		5		10
	<210>	280			
	<211>	7			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	280			
	Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser				
	1		5		
	<210>	281			
	<211>	10			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	281			
	Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val				
	1		5		10
	<210>	282			
	<211>	11			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	282			
	Glu Gly Asn Gln Ile Gly Glu Lys Glu Val His				
	1		5		10
[0104]	<210>	283			
	<211>	7			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	283			
	Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser				
	1		5		
	<210>	284			
	<211>	9			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	284			
	Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val				
	1		5		
	<210>	285			
	<211>	11			
	<212>	PRT			
	<213>	人工序列			
	<220>				
	<223>	人工合成的序列			
	<400>	285			
	Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His				
	1		5		10
	<210>	286			
	<211>	7			

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 286  
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser  
 1 5  
 [0105] <210> 287  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工合成的序列  
 <400> 287  
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val  
 1 5 10

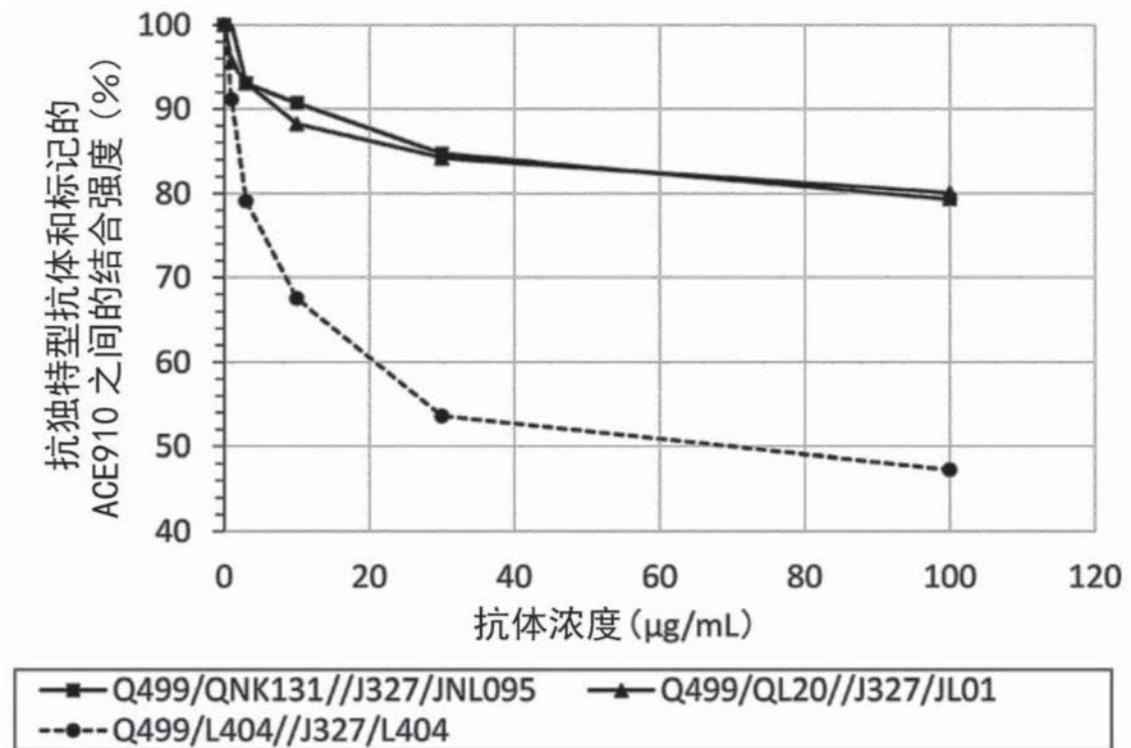


图1

1) 当 FIX 活化抑制活性低时

2) 当 FIX 活化抑制活性高时

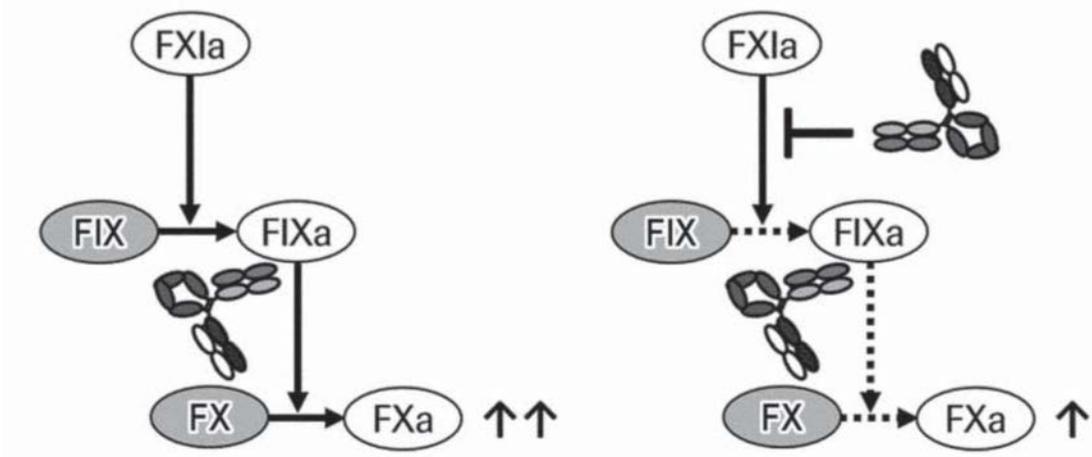
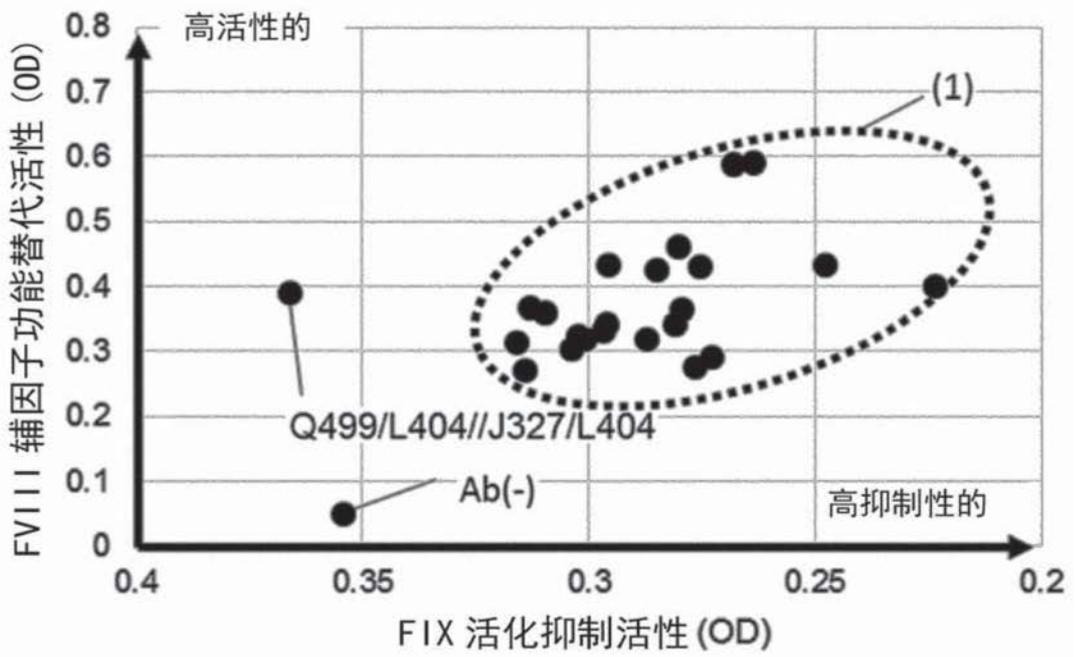


图2

(1)



(2)

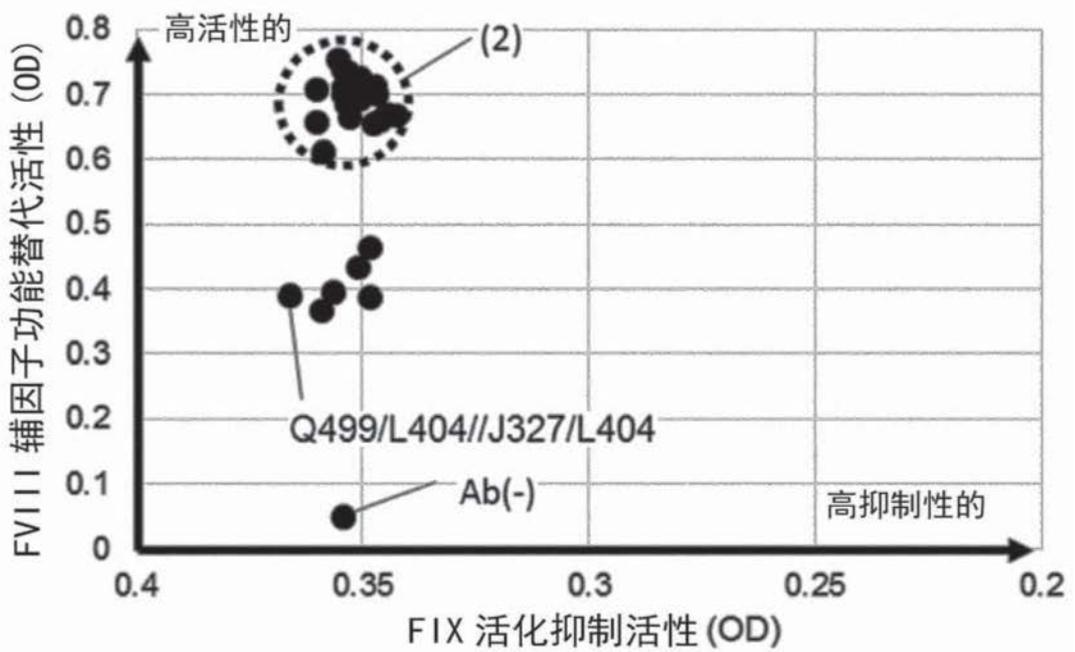


图3

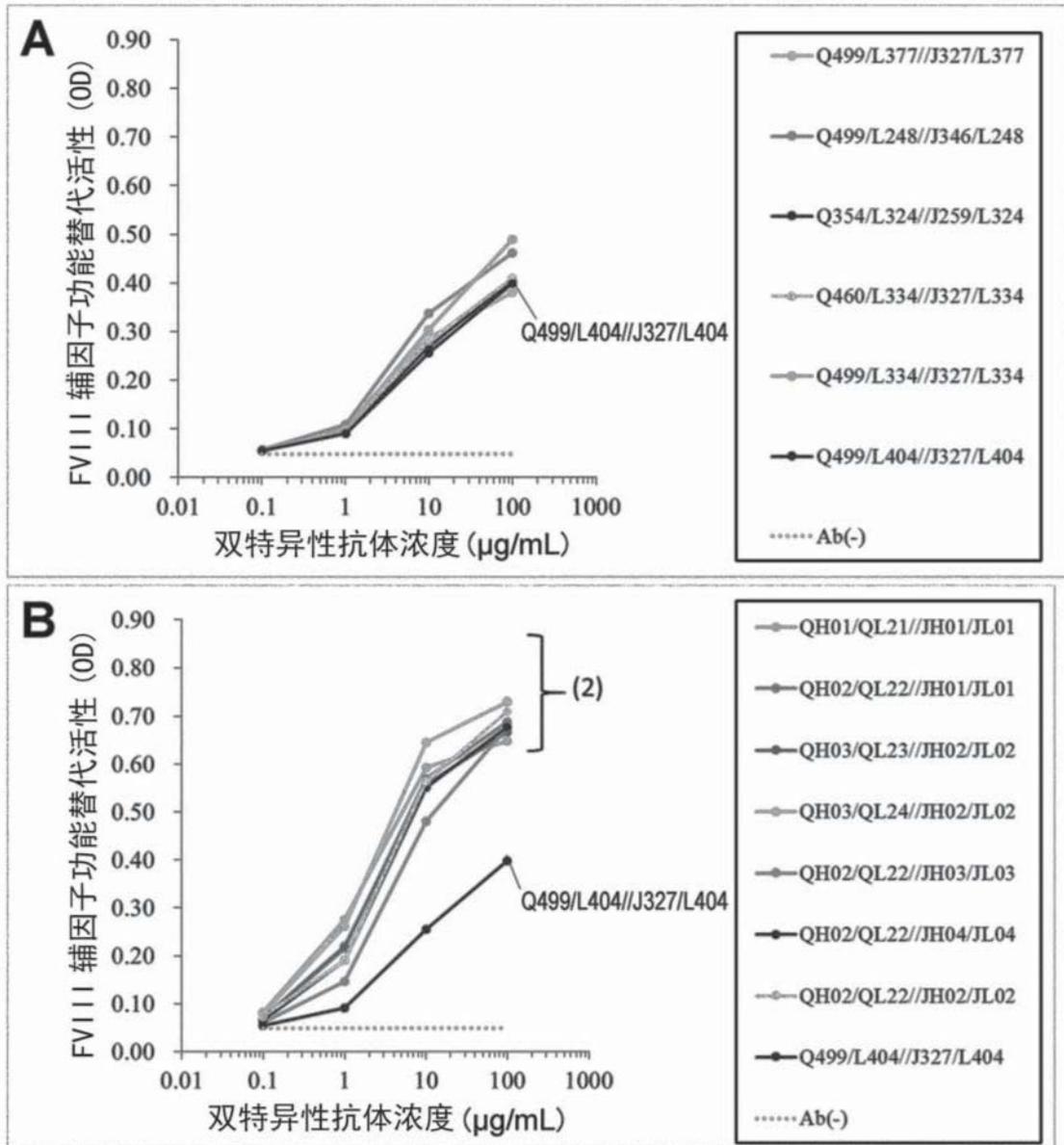


图4-1

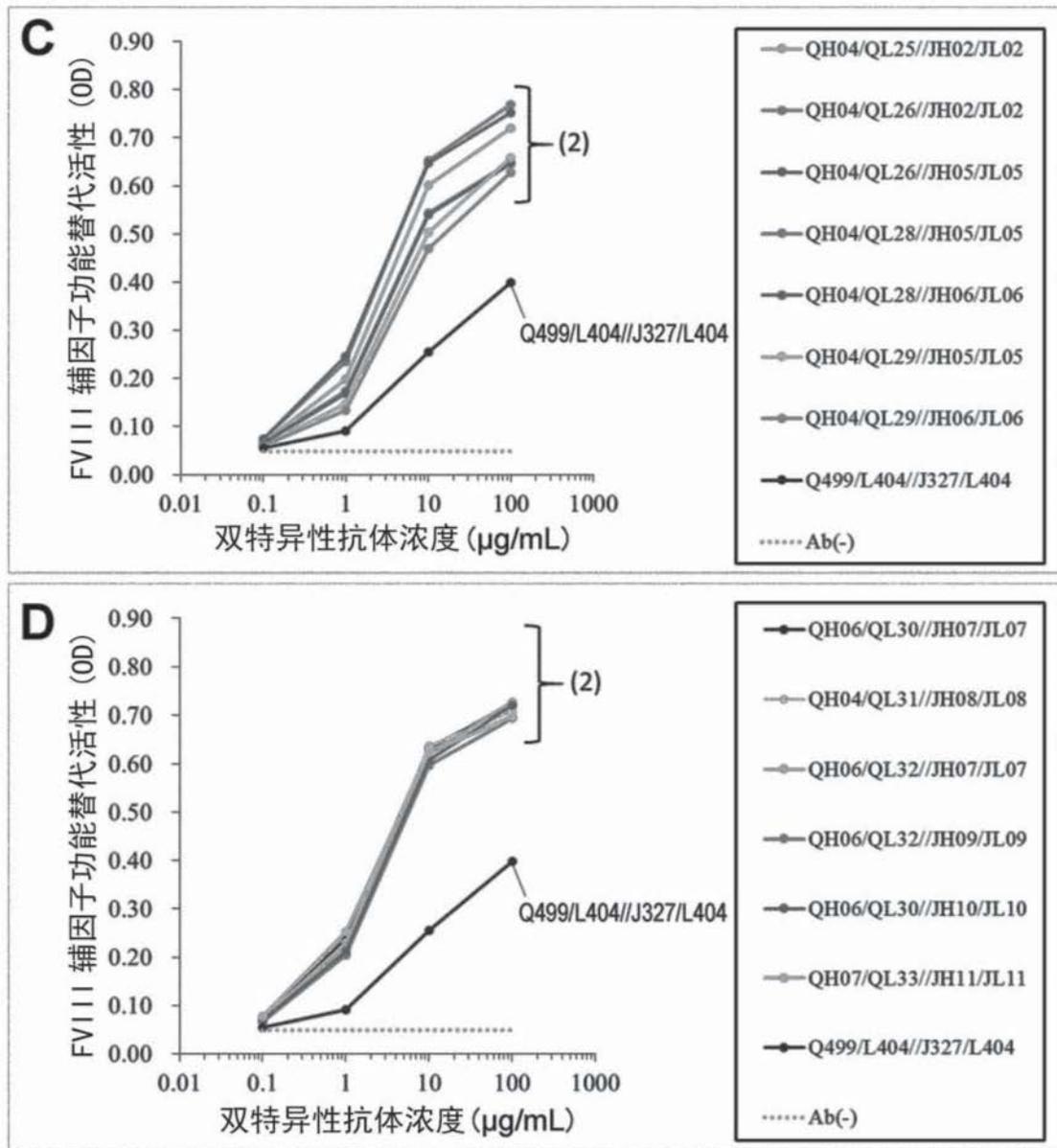


图4-2

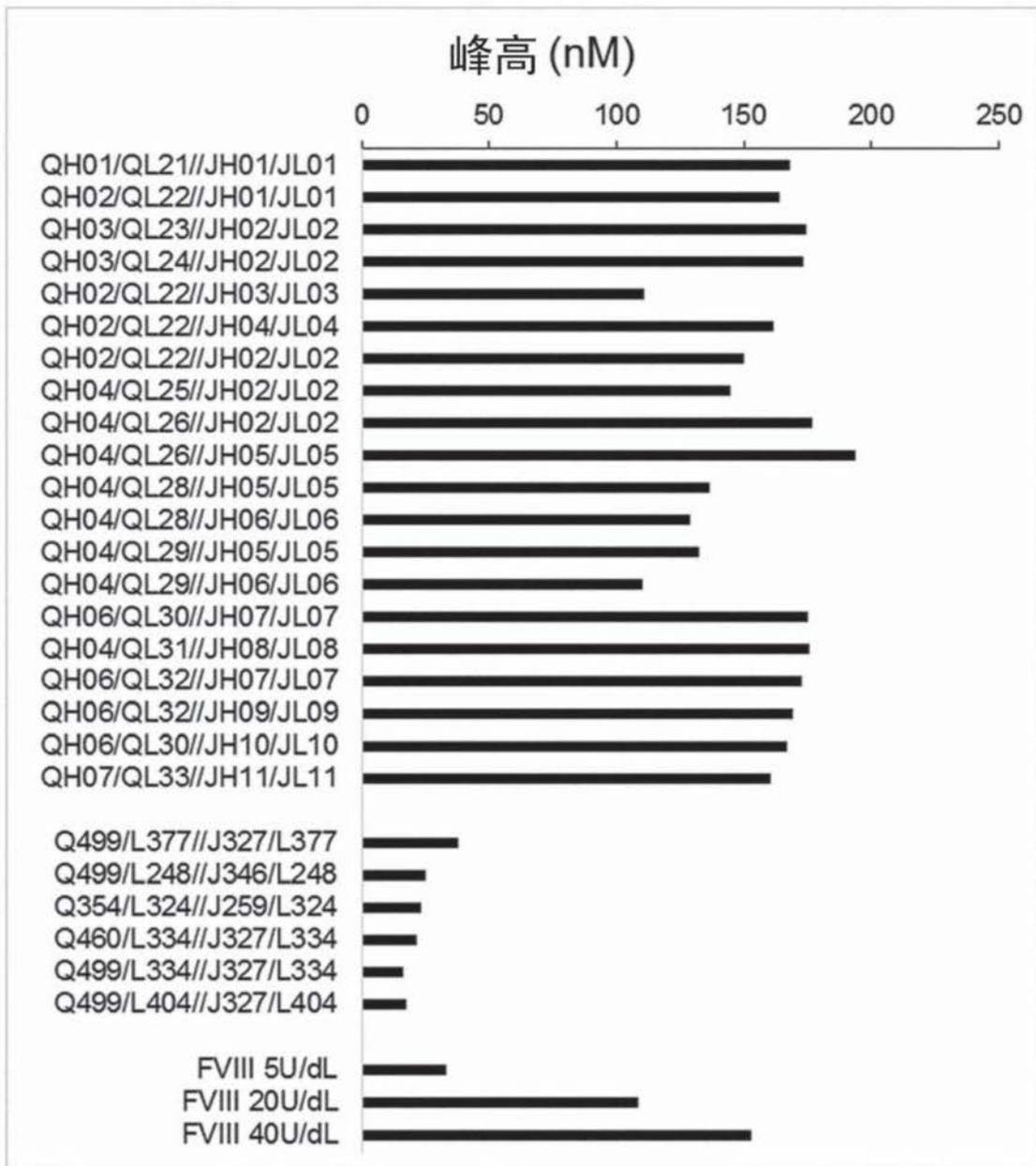


图5

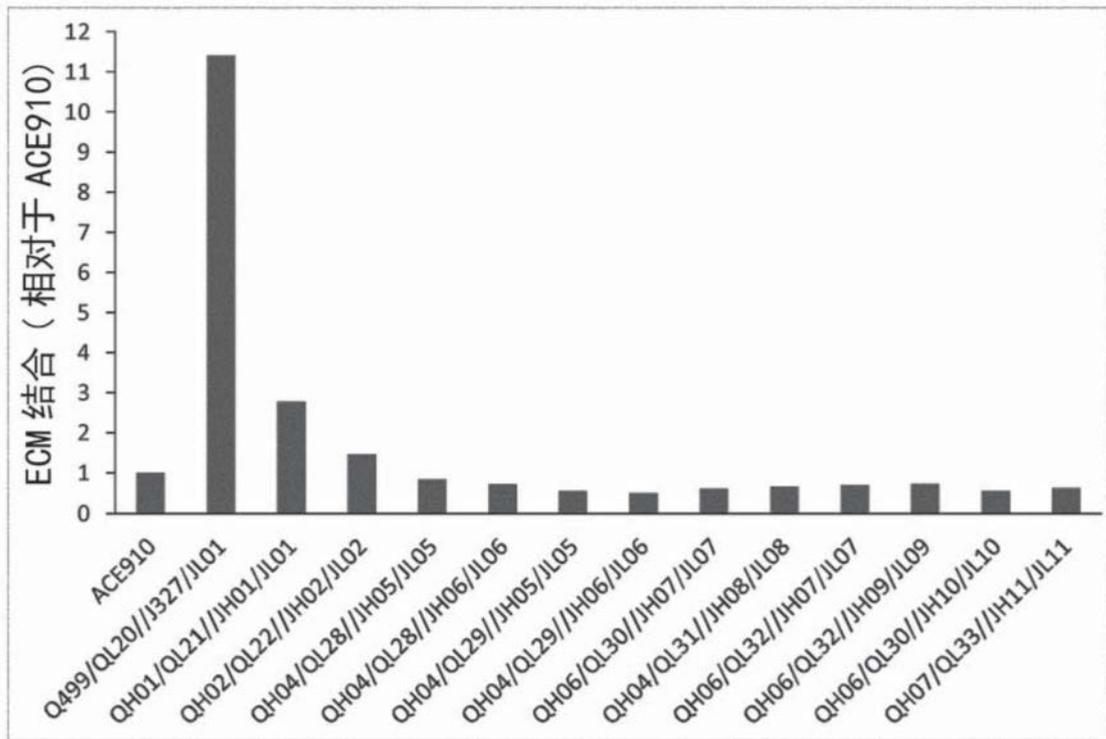


图6

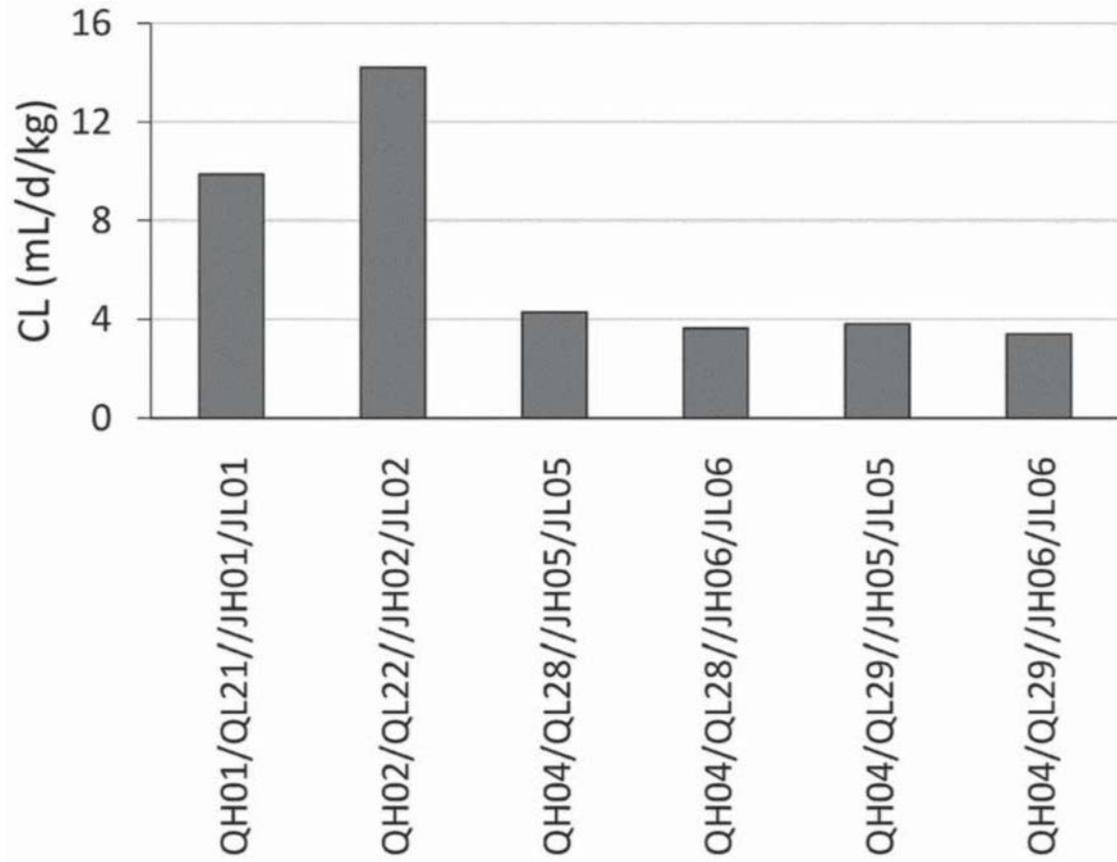


图7

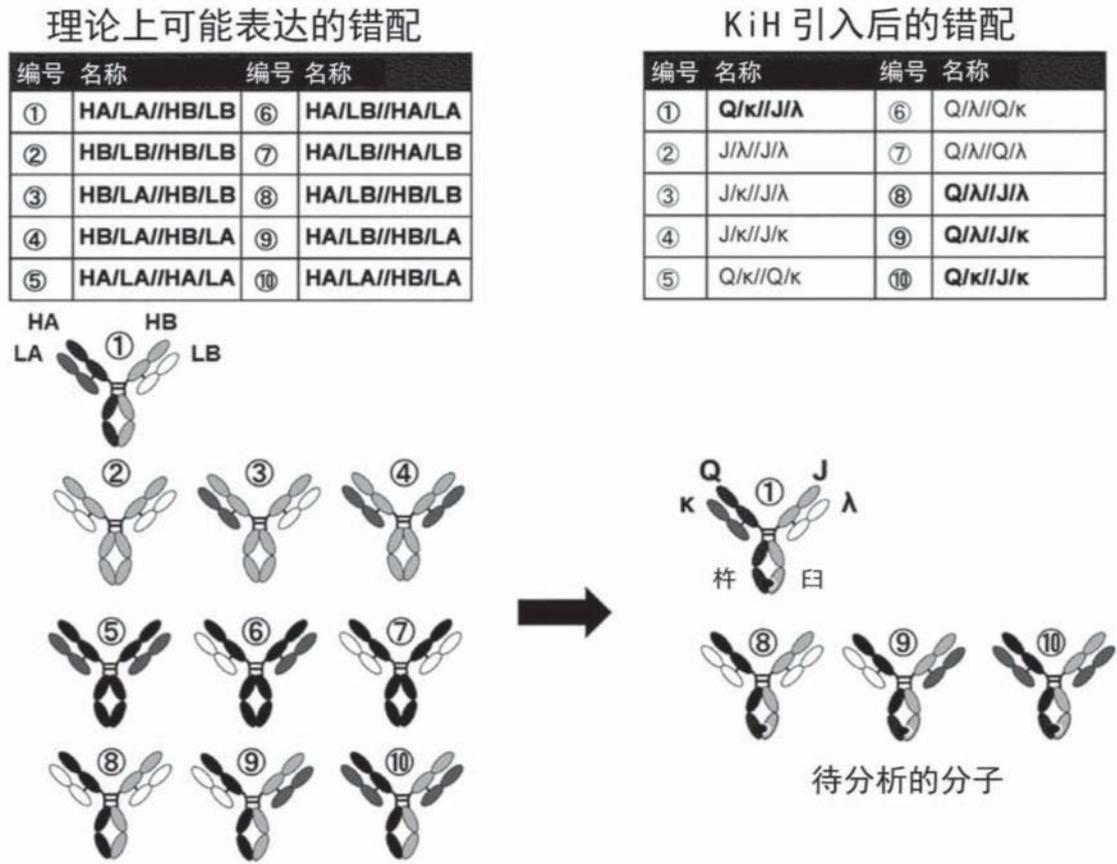


图8

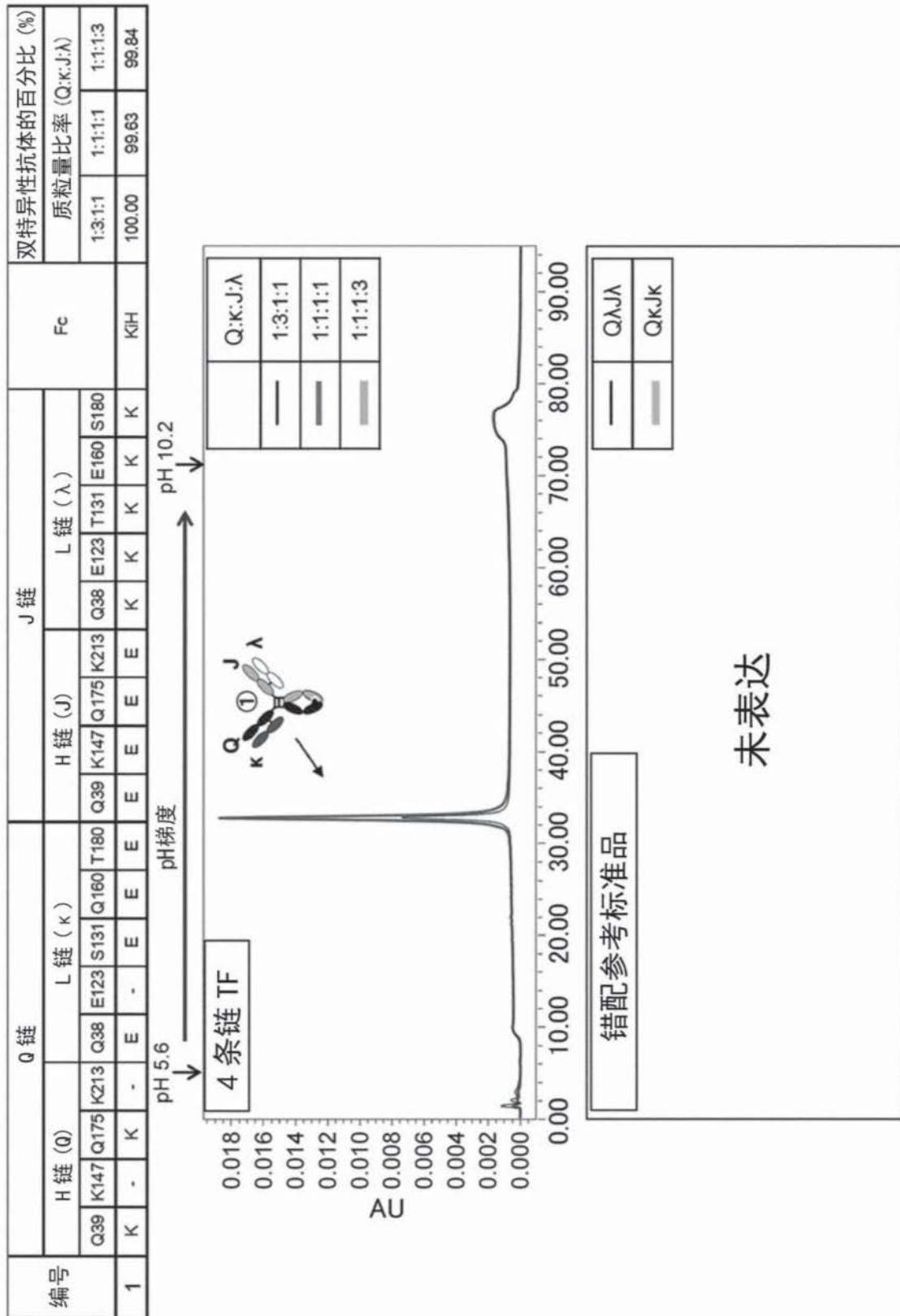


图9-1

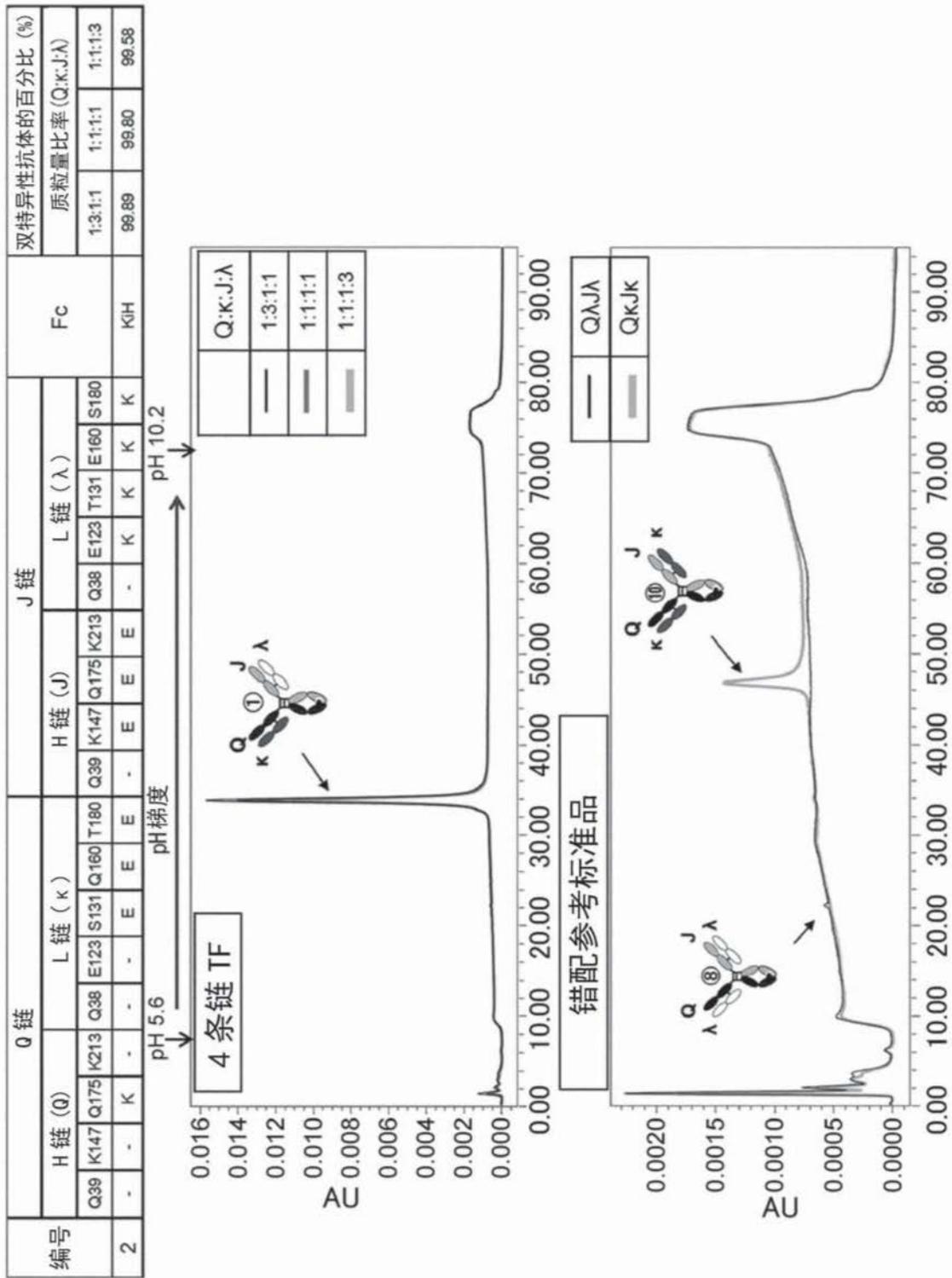


图9-2



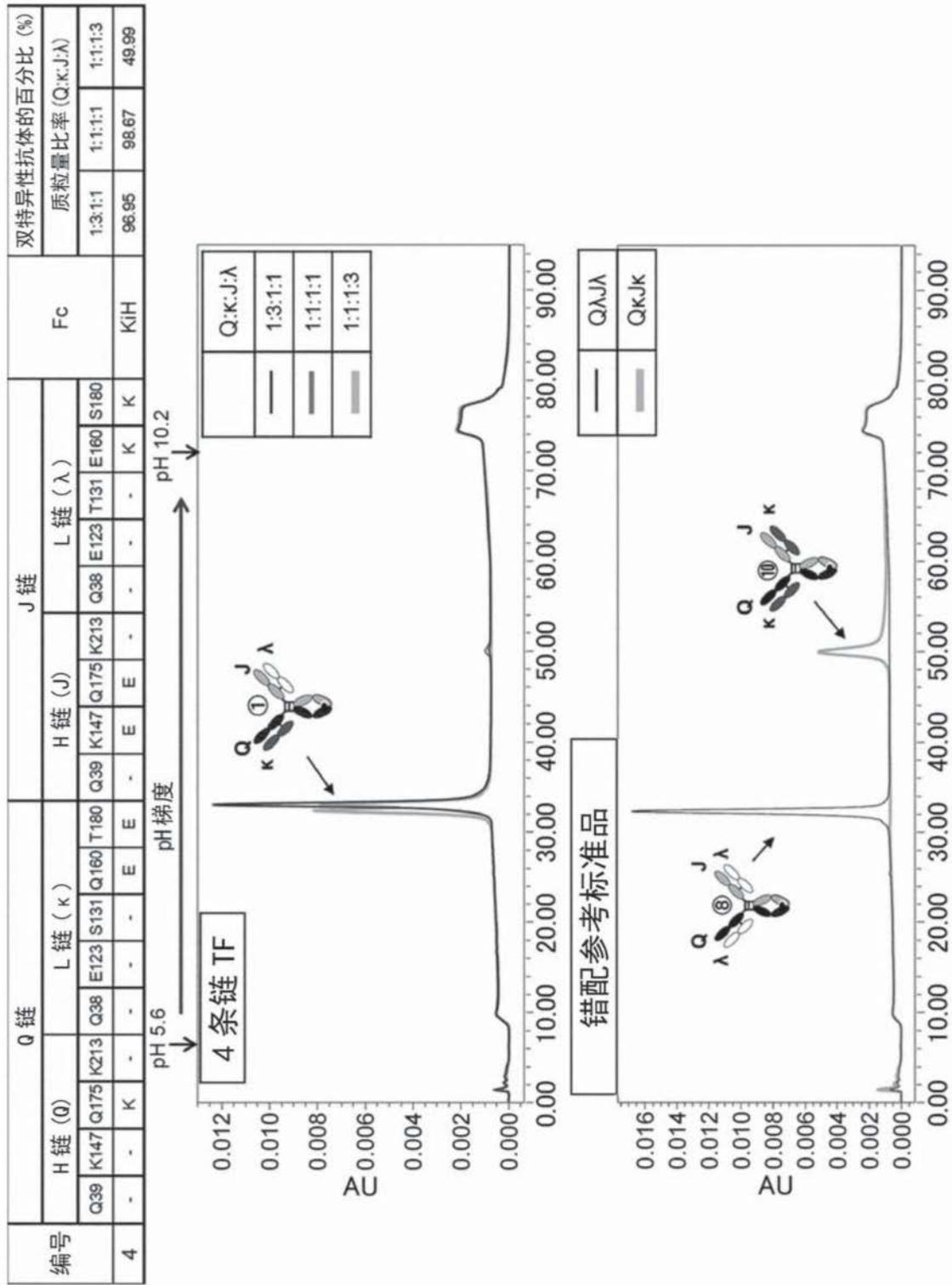


图9-4



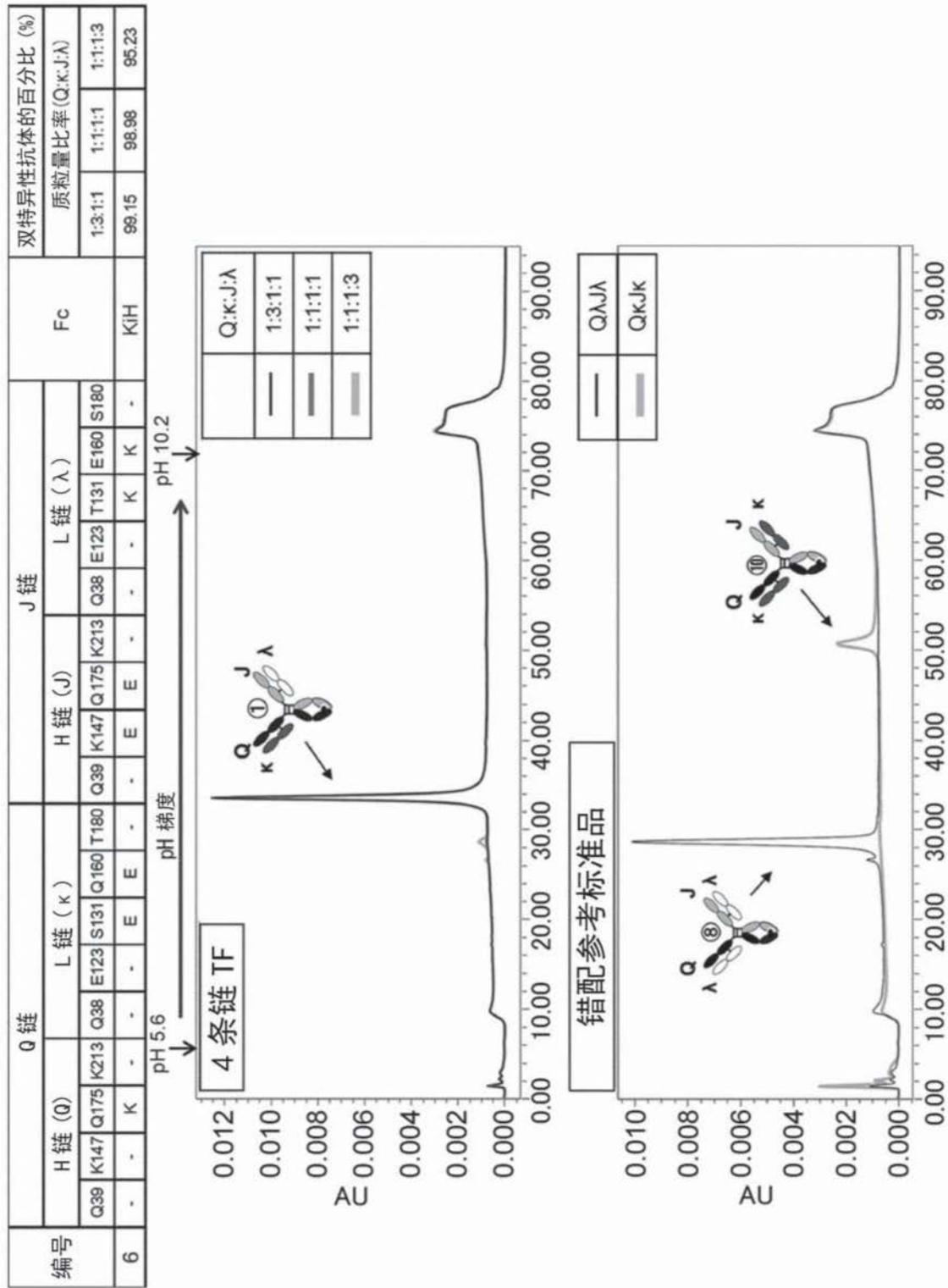


图9-6



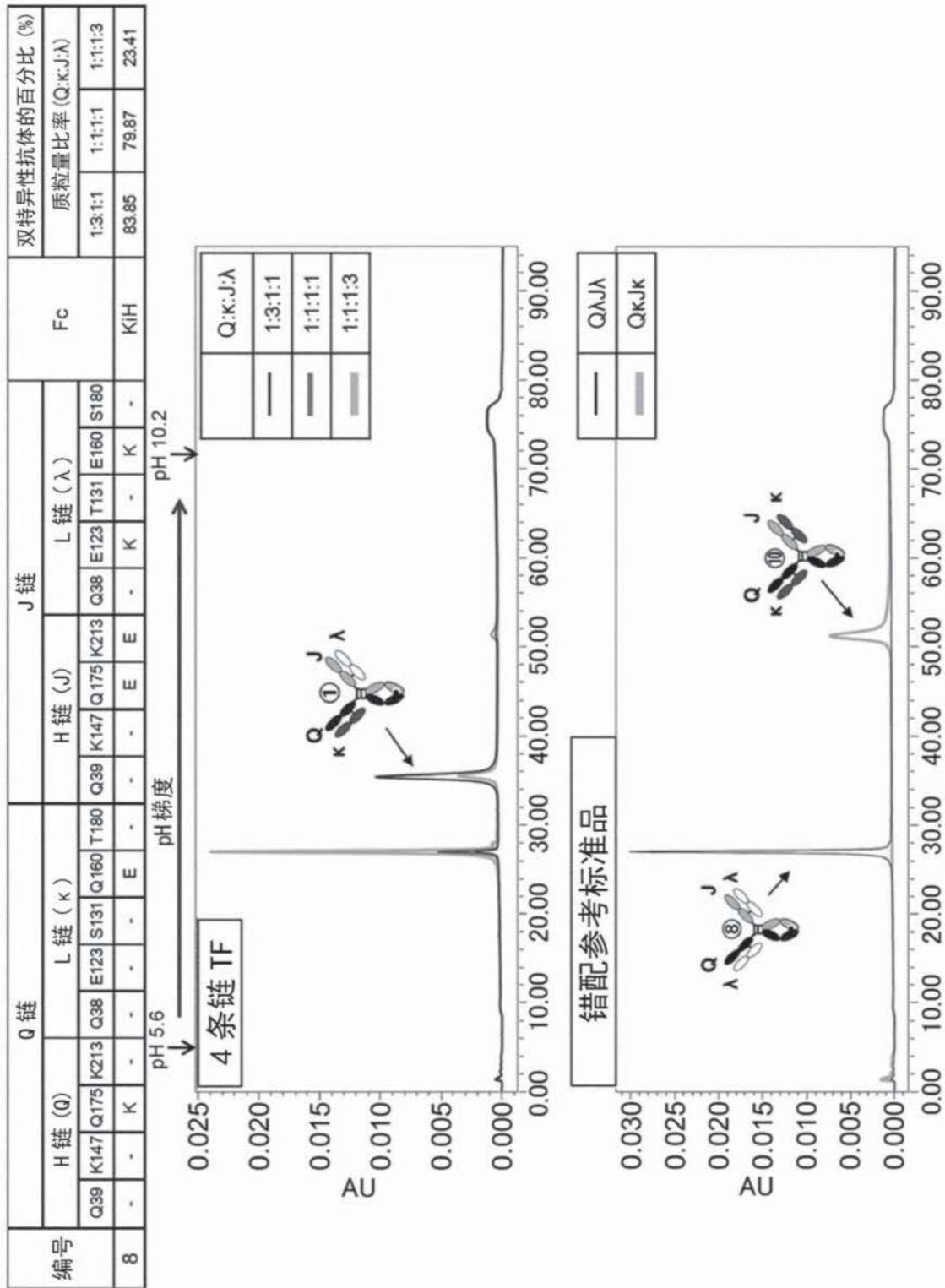


图9-8













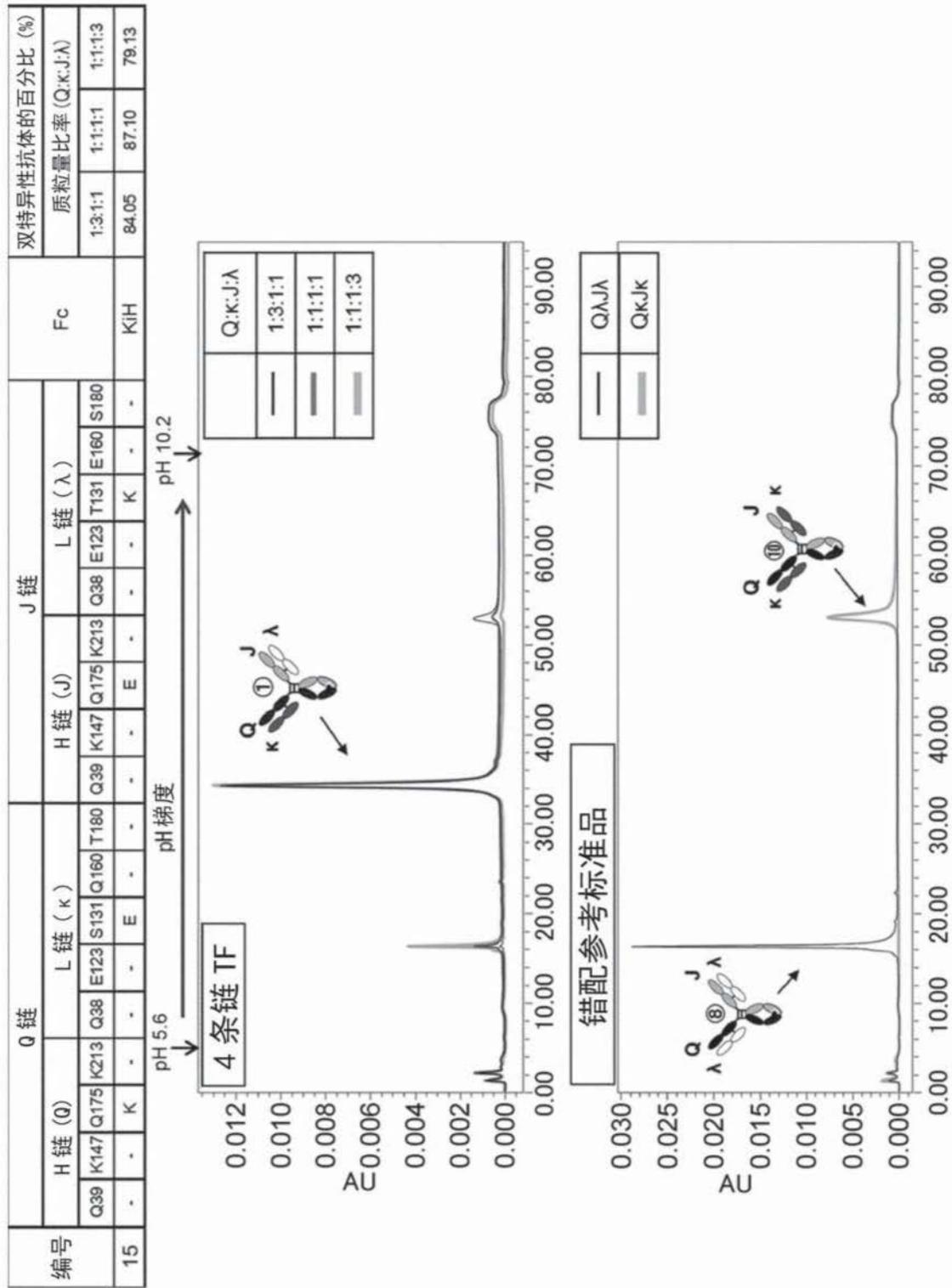


图9-15

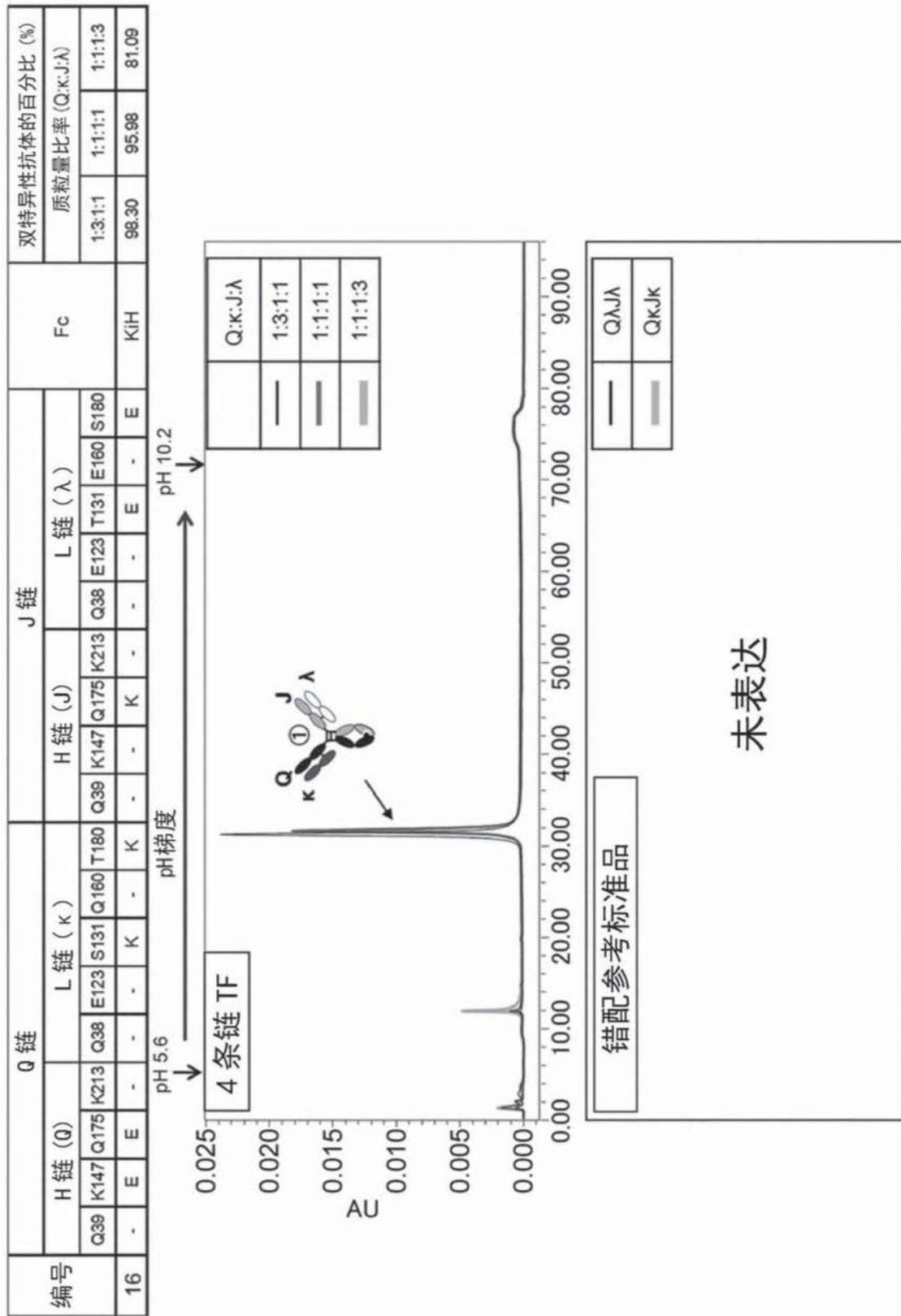


图9-16

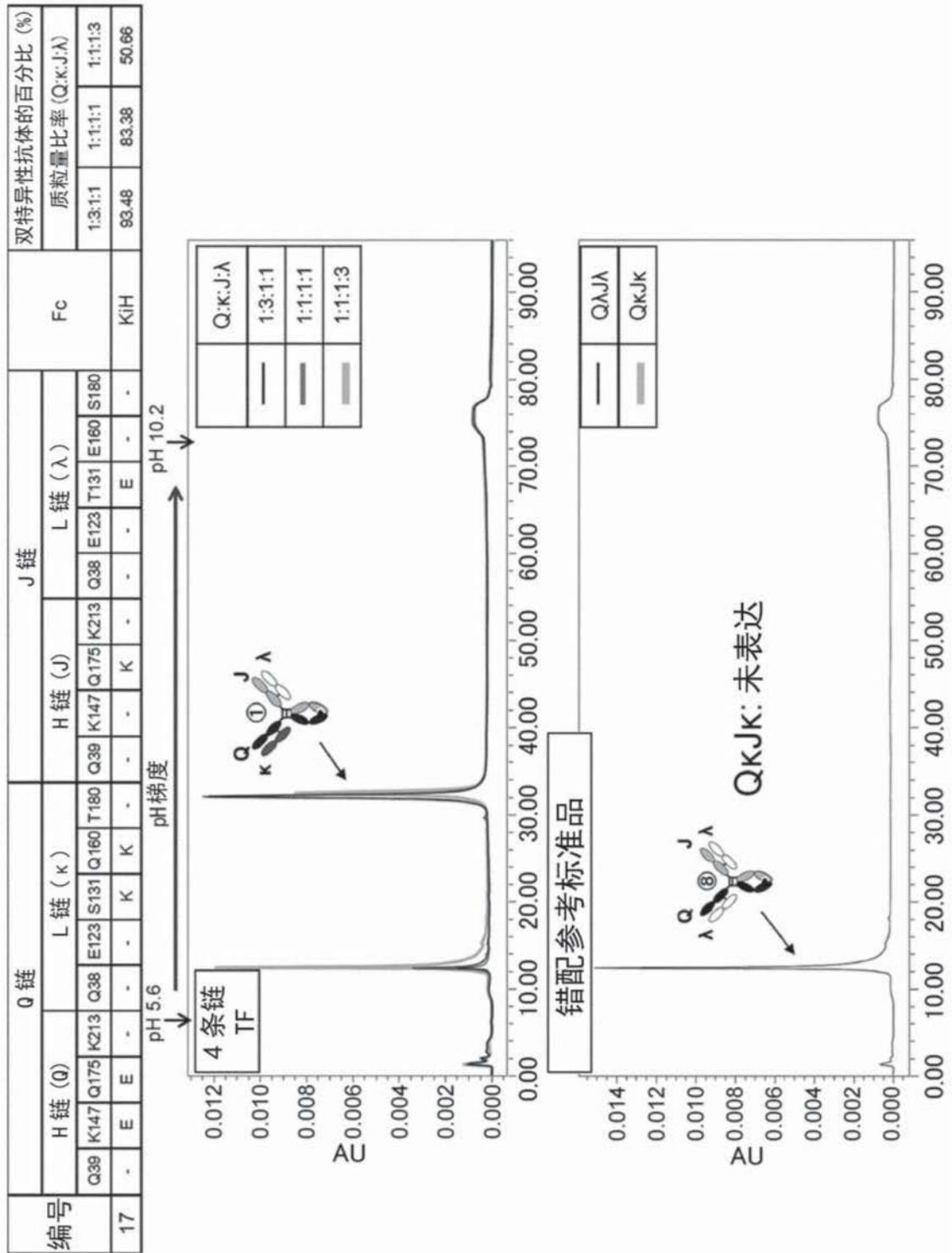


图9-17

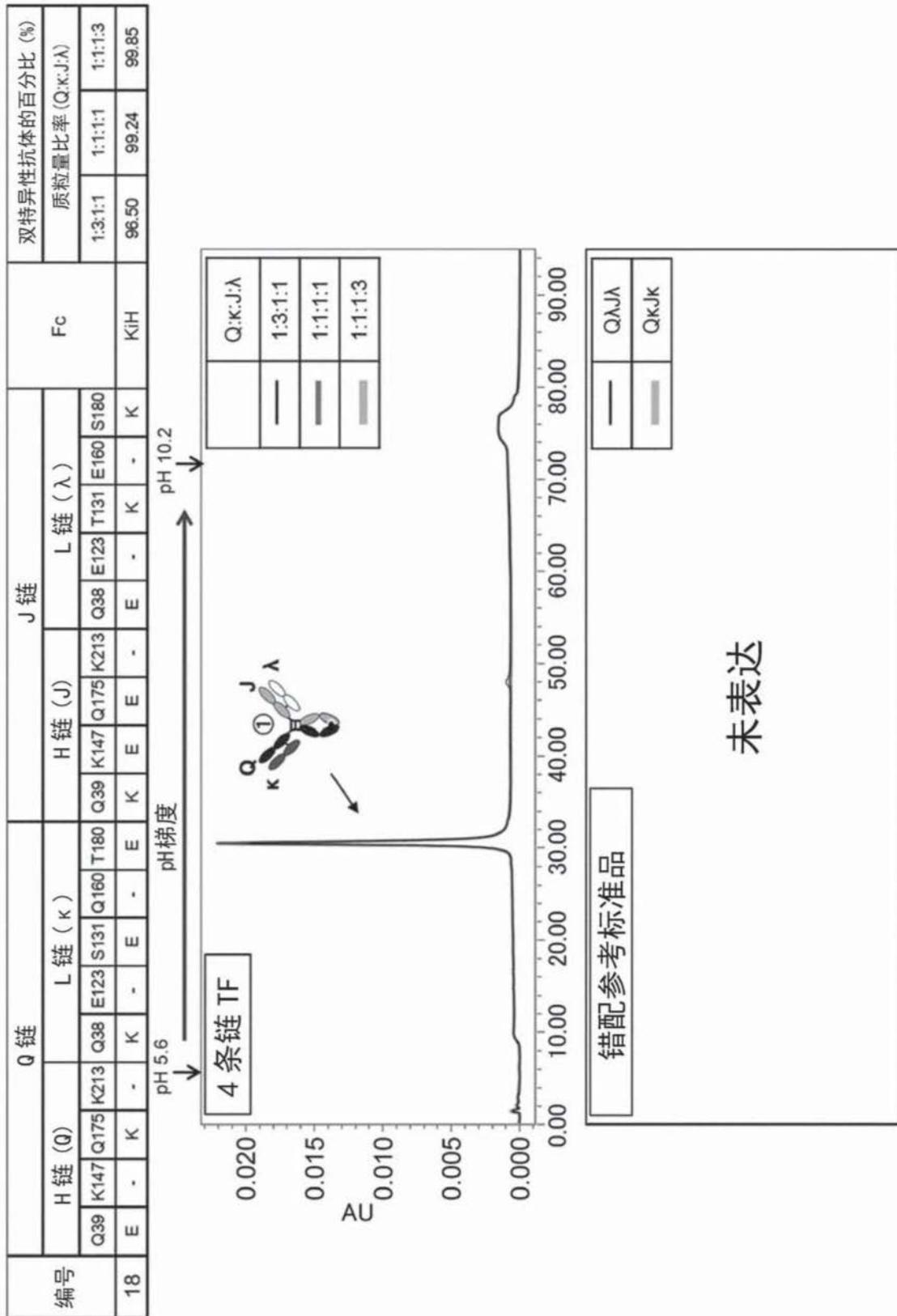


图9-18

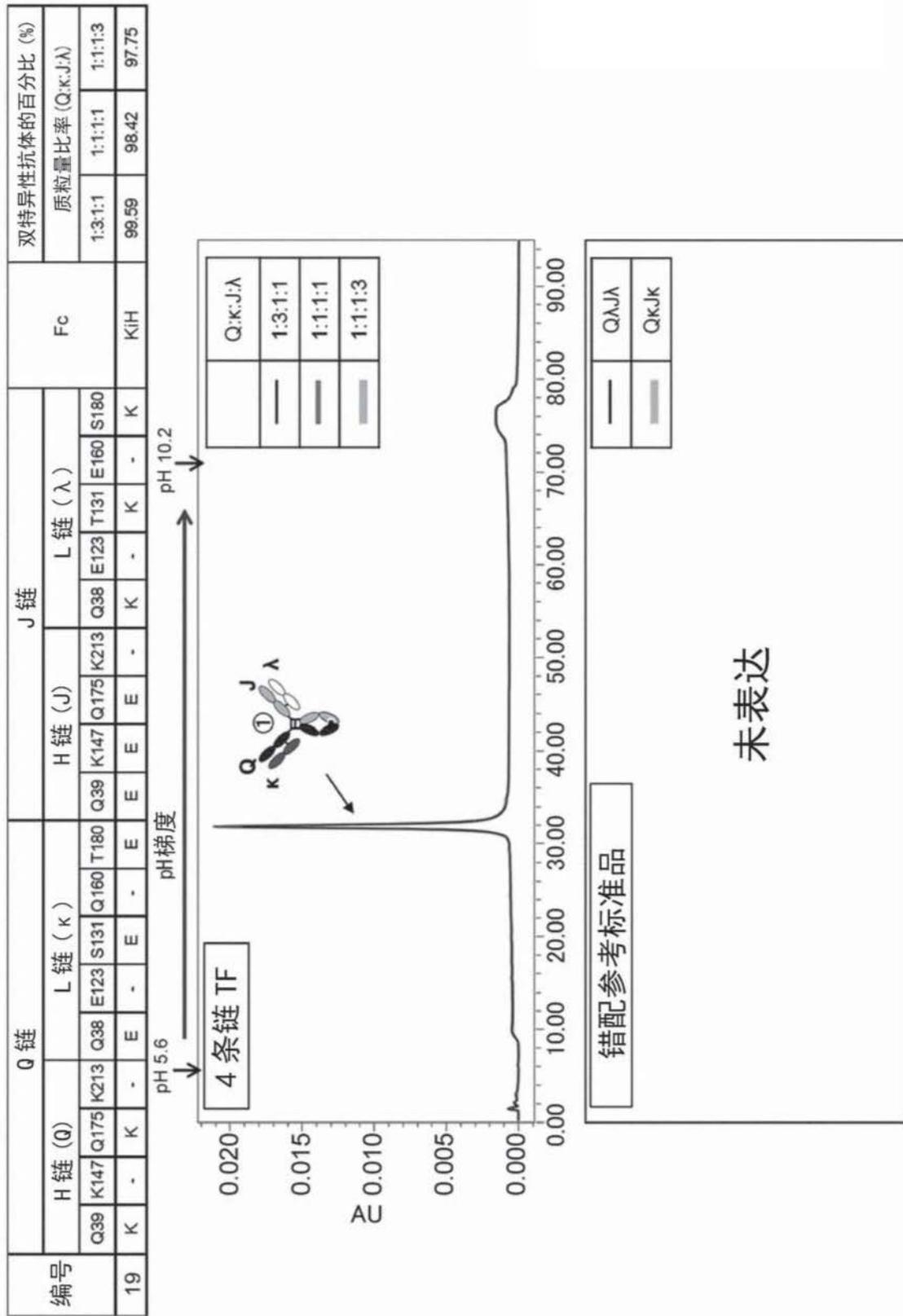


图9-19

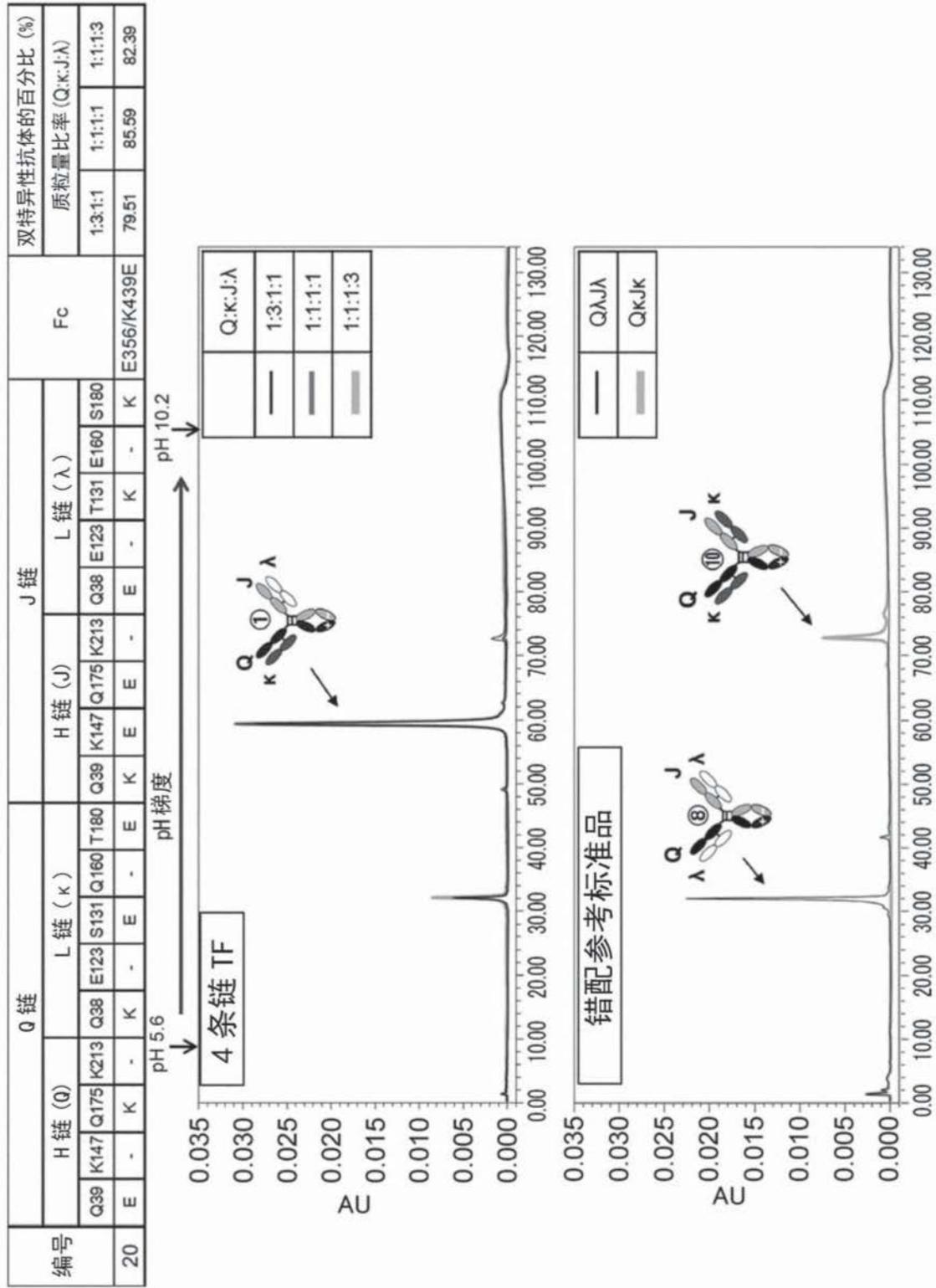


图9-20

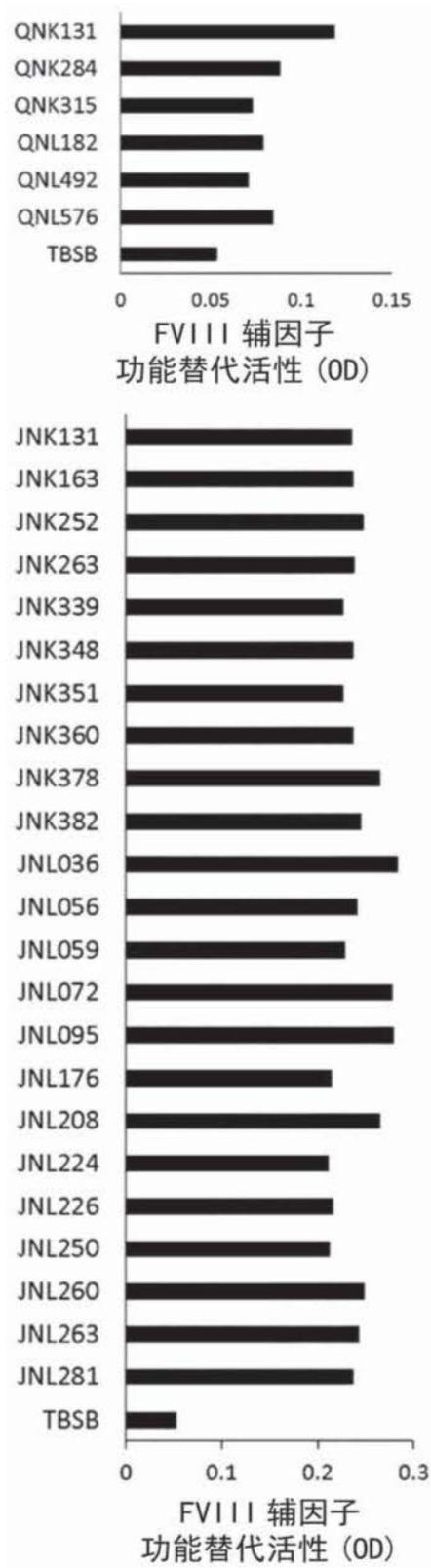


图10