(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107667120 B
(45)授权公告日 2022.03.08

(21)申请号 201680028517.9

(22)申请日 2016.03.16

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107667120 A

(43)申请公布日 2018.02.06

(30)优先权数据
62/134,402 2015.03.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.11.16

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/022643 2016.03.16

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2016/149368 EN 2016.09.22

(73)专利权人 纪念斯隆-凯特林癌症中心
地址 美国纽约州

(72)发明人 大卫·斯普里格斯
阿尔贝托·费尔南德斯-特哈达
达尔马络·萨皮

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
C07K 16/30(2006.01)
C07K 14/47(2006.01)
A01K 67/027(2006.01)

(56)对比文件
WO 2011/119979 A2,2011.09.29
DE´BAT H. et al.Overpassing an aberrant Vk gene to sequence an antiidiotypic abzyme with b-lactamase-like activity that could have a linkage with autoimmune diseases.《FASEB》.2001,815-822.
Lolli F. et al.The glycopeptide CSF114(Glc) detects serum antibodies in multiple sclerosis.《Journal of Neuroimmunology》.2005,131-137.
Sorensen A. et al.Chemoenzymatically synthesized multimeric Tn/STn MUC1 glycopeptides elicit cancer-specific anti-MUC1 antibody response and override tolerance.《GLYCOBIOLOGY》.2006,96-107.

审查员 李影

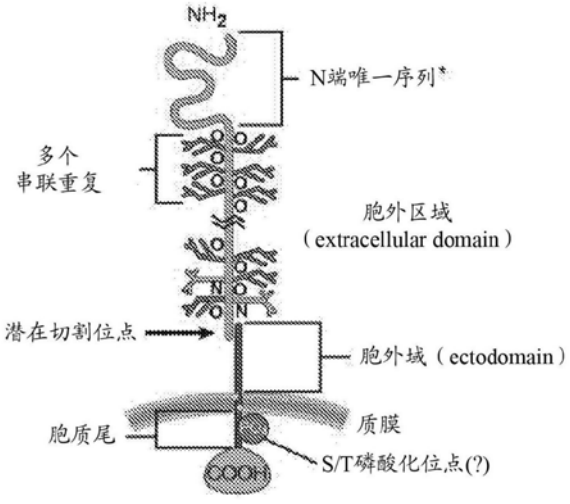
权利要求书6页 说明书185页
序列表166页 附图73页

(54)发明名称

抗MUC16抗体及其应用

(57)摘要

本文提供了涉及免疫特异性结合糖基化形式的MUC16(一种拴粘蛋白)的抗体的组合物、方法和用途。本文还提供了用于管理、治疗或预防疾病例如癌症的用途和方法。



CN 107667120 B

1.免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含:

(a)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为TX_1GMGVG(SEQ ID NO:103),其中X_1是L或V;VH CDR2,氨基酸序列为HIWWDDX_2DKYYX_3PALKS(SEQ ID NO:104),其中X_2是E或不存在且X_3是Y或N;和VH CDR3,氨基酸序列为IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105),和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为RSSKSLX_4X_5SNGNTYLY(SEQ ID NO:106),其中X_4是R或L且X_5是K或H;VL CDR2,氨基酸序列为YMSNLAS(SEQ ID NO:107);和VL CDR3,氨基酸序列为MQX_6LEX_7PLT(SEQ ID NO:108),其中X_6是G或S且X_7是H或Y或

(b)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为GFSLX_8TX_9GM(SEQ ID NO:109),其中X_8是N或S且其中X_9是L或V;VH CDR2,氨基酸序列为WDDX_{10}(SEQ ID NO:110),其中X_{10}是E或不存在;和VH CDR3,氨基酸序列为GTAQATDALD(SEQ ID NO:111),和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为KSL$X_{11}X_{12}$SNGNTY(SEQ ID NO:112),其中X_{11}是L或R且X_{12}是H或K;VL CDR2,氨基酸序列为YMS(SEQ ID NO:113);和VL CDR3,氨基酸序列为X_{13}LEX_{14}PL(SEQ ID NO:114),其中X_{13}是G或S且X_{14}是H或Y,或

(c)(i)VH CDR1,氨基酸序列为GFSLX_{15}TX_{16}GMG(SEQ ID NO:115),其中X_{15}是N或S且X_{16}是V或L;VH CDR2,氨基酸序列为IWWDDX_{17}DK(SEQ ID NO:116),其中X_{17}是E或不存在;和VH CDR3,氨基酸序列为X_{18}RIGTAQATDALDY(SEQ ID NO:117),其中X_{18}是T,A或S,和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为KSL$X_{19}X_{20}$SNGNTY(SEQ ID NO:118),其中X_{19}是V或L且X_{20}是H或K;VL CDR2,氨基酸序列为YMS(SEQ ID NO:119);和VL CDR3,氨基酸序列为MQSLEYPLT(SEQ ID NO:120)。

2.免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含:

(a)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:83的,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:84,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:85;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:86,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:87,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:88;或

(b)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:89,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:90,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:91;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:92,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:93,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:94;或

(c)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:95,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:96,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:97和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:98,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:99,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:100。

3.免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含:

(a)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:23,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:24,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:25;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:26,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:27列,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:28;或

(b)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:29,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:30,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:31;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨

基酸序列为SEQ ID NO:32,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:33,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:34;或

(c)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:35,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:36,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:37;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:38,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:39,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:40。

4.免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含:

(a)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:43,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:44,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:45;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:46,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:47,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:48;或

(b)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:49,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:50,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:51;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:52,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:53,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:54;或

(c)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:55,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:56,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:57;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:58,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:59,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:60。

5.免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含:

(a)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:3,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:4,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:5;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:6,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:7,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:8;或

(b)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:9,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:10,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:11;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:12,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:13,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:14;或

(c)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:15,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:16,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:17;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:18,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:19,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:20。

6.免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含:

(a)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:63,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:64,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:65;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:66,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:67,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:68;或

(b)(i)包含下述的VH:aVH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:69,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:70,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:71;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨

基酸序列为SEQ ID NO:72,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:73,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:74;或

(c)(i)包含下述的VH:VH CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:75,VH CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:76,和VH CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:77;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:78,VL CDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:79,和VL CDR3,氨基酸序列为SEQ ID NO:80。

7.免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含:

(a)(i)下述氨基酸序列的VH:QVX$_{21}$LKESGPGX$_{22}$LQPSQTLSLTCSFSGFSLX$_{23}$TX$_{24}$GMGVGWX$_{25}$RQX$_{26}$S GKGLEWLAHIWWDDX$_{27}$DKYYX$_{28}$PALKSRLTISX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$SKNQVFLKIX$_{32}$NVX$_{33}$TADX$_{34}$ATYYCX$_{35}$RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:101),其中X$_{21}$是T或N,X$_{22}$是I或K,X$_{23}$是N或S,X$_{24}$是V或L,X$_{25}$是S或I,X$_{26}$是P或S,X$_{27}$是E或不存在,X$_{28}$是N或Y,X$_{29}$是K或R,X$_{30}$是A或D,X$_{31}$是T或S,X$_{32}$是V或A,X$_{33}$是G或D,X$_{34}$是T,I或S且X$_{35}$是T,S或A,和(ii)下述氨基酸序列的VL:DIVMTQAAPSX$_{36}$X$_{37}$VTPGESVSISCRSSKSLX$_{38}$X$_{39}$SNGNTYLYWFLQRPGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLX$_{40}$ISRVEAX$_{41}$DVGVYYCMQX$_{42}$LEX$_{43}$PLTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:102),其中X$_{36}$是I或V,X$_{37}$是P或S,X$_{38}$是R或L,X$_{39}$是K或H,X$_{40}$是R或K,X$_{41}$是E或G,X$_{42}$是S或G且X$_{43}$是Y或H,

(b)(i)氨基酸序列为SEQ ID NO:1的VH,和(ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:2的VL,或

(c)(i)氨基酸序列为SEQ ID NO:61的VH,和(ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:62的VL。

8.权利要求7所述的抗体或其抗原结合片段,其中

(a)i)氨基酸序列为SEQ ID NO:81的VH;和(ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:82的VL;或

(b)i)氨基酸序列为SEQ ID NO:21的VH;和(ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:22的VL;或

(c)i)氨基酸序列为SEQ ID NO:41的VH;和(ii)氨基酸序列为SEQ ID NO:42的VL。

9.权利要求1-8中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体包含人源的重链和轻链恒定区。

10.权利要求1-9中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段是人源化的。

11.权利要求1-10中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体是单克隆抗体。

12.权利要求1-11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体是包含两条相同重链和两条相同轻链的免疫球蛋白。

13.抗体缀合物,包含缀合至试剂的权利要求1-12中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

14.权利要求13所述的抗体缀合物,其中试剂是显影剂或细胞毒性剂。

15.权利要求1-14中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段是双特异性抗体。

16.权利要求15所述的双特异性抗体,其中双特异性抗体免疫特异性结合CD3。

17.权利要求15所述的双特异性抗体,其中双特异性抗体包含免疫特异性结合MUC16的免疫球蛋白,其中免疫球蛋白轻链通过肽接头缀合至免疫特异性结合CD3的单链可变区片段(scFv)。

18.权利要求16所述的双特异性抗体,其中双特异性抗体包含免疫特异性结合MUC16的免疫球蛋白,其中免疫球蛋白轻链通过肽接头缀合至免疫特异性结合CD3的单链可变区片

段(scFv)。

19.双特异性抗体缀合物,包含缀合至试剂的权利要求15所述的双特异性抗体。

20.双特异性抗体缀合物,包含缀合至试剂的权利要求16所述的双特异性抗体。

21.双特异性抗体缀合物,包含缀合至试剂的权利要求17所述的双特异性抗体。

22.双特异性抗体缀合物,包含缀合至试剂的权利要求18所述的双特异性抗体。

23.权利要求19-22中任一项所述的双特异性抗体缀合物,其中试剂是显影剂或细胞毒性剂。

24.权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中其抗原结合片段是scFv。

25.ScFv缀合物,包含缀合至试剂的权利要求24所述的scFv。

26.权利要求25所述的ScFv缀合物,其中试剂是显影剂或细胞毒性剂。

27.嵌合抗原受体(CAR),包含权利要求24所述的scFv。

28.重组表达权利要求27所述的CAR的T细胞。

29.一种多核苷酸,其包含编码权利要求1-12中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、权利要求15-18中任一项所述的双特异性抗体或权利要求24所述的scFv的核酸序列。

30.一种多核苷酸,其包含编码权利要求13或14所述的抗体缀合物、权利要求19-23中任一项的双特异性抗体或权利要求25或26所述的scFv缀合物的核酸序列。

31.一种多核苷酸,其包含编码权利要求27所述的CAR的核酸序列。

32.载体,其包含可操作地连接启动子的权利要求29-31中任一项所述的多核苷酸。

33.离体细胞,包含可操作地连接启动子的权利要求29-31中任一项所述的多核苷酸。

34.离体细胞,包含权利要求32所述的载体。

35.离体细胞,包含可操作地连接启动子的一种或多种编码权利要求1-12中任一项的抗体或其抗原结合片段的多核苷酸。

36.一种生产抗体或其抗原结合片段的方法,包括培养权利要求33-35中任一项所述的离体细胞。

37.药物组合物,包含:治疗有效量的权利要求1-12任一项所述的抗体或其抗原结合片段,权利要求13或14任一项所述的抗体缀合物,权利要求15-18中任一项所述的双特异性抗体,权利要求19-23中任一项所述的双特异性抗体缀合物,权利要求24所述的scFv,权利要求25或26所述的scFv缀合物,权利要求27所述的CAR或权利要求28所述的T细胞;和药学上可接受的载体。

38.权利要求37所述的药物组合物在制备用于在有需要的患者中治疗癌症的药物中的用途。

39.权利要求38所述的用途,其中所述癌症是肺癌,胰腺癌,乳腺癌,子宫癌,输卵管癌或原发性腹膜癌的癌症。

40.权利要求38所述的用途,其中所述癌症是卵巢癌。

41.权利要求38所述的用途,其中所述患者是人患者。

42.权利要求38所述的用途,其中该治疗是包括对患者施用治疗有效量的另外的治疗剂的方法。

43.权利要求42所述的用途,其中药物组合物中的抗体或其抗原结合片段识别MUC16中的表位,所述表位包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1806但不包含N-糖基化的SEQ ID

NO:150的Asn1800,其中另外的治疗剂是另外的识别MUC16中的表位的抗体或其抗原结合片段,所述表位包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1806和N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1800两者。

44.权利要求43所述的用途,其中所述药物组合物的抗体或其抗原结合片段通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式的MUC16是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)其免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞的能力,其第四形式是糖基化的,且其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152且其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同细胞类型和

其中另外的抗体或其抗原结合片段通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133和(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第五形式的MUC16的细胞,其第五形式是糖基化的,且其中第五形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:172,其中重组表达第一形式的MUC16的细胞与重组表达第五形式的MUC16的细胞是相同细胞类型。

45.权利要求42所述的用途,其中药物组合物中的抗体或其抗原结合片段识别MUC16中的表位,所述表位包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1806但不包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1800、其中另外的治疗剂是治疗有效量的另外的识别MUC16中的表位的抗体或其抗原结合片段,所述表位包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1800但不包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1806。

46.权利要求45所述的用途,其中所述药物组合物的抗体或其抗原结合片段通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式的MUC16是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)其免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞的能力,其第四形式是糖基化的,且其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152,其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同细胞类型,和

其中另外的抗体或其抗原结合片段通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)其免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞的能力,该第三形式的MUC16是糖基化的,且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)其不能免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞,其第四形式是糖基化的,且其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152且其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同类型的细胞。

47.包含治疗有效量的权利要求1-12中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的药物组合物在制备用于在有需要的患者中治疗癌症的药物中的用途。

48.权利要求1-8中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片

段

(a)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133,

(b)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和

(c)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

49.权利要求48所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139。

50.权利要求48或49所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段免疫特异性结合氨基酸序列CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131),其中CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)的7号氨基酸残基(N7)是糖基化的。

51.权利要求50所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述7号氨基酸残基(N7)的糖基化由N连接的壳二糖组成。

52.权利要求48所述的抗体或其抗原结合片段,其中(i)重组表达所述第一形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;(ii)重组表达所述第二形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;并且(iii)步骤(c)中的细胞是SKOV3细胞。

53.权利要求48-52中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段免疫特异性结合氨基酸序列CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130),其中CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)的4号氨基酸残基(N4)和10号氨基酸残基(N10)是糖基化的。

54.权利要求48-53中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段免疫特异性结合包含N-糖基化的SEQ ID NO:150天冬酰胺1806的表位。

抗MUC16抗体及其应用

[0001] 本申请要求2015年3月17日提交的美国临时申请号62/134,402的权益,其在此全文引入作为参考。

[0002] 本申请参考引入了作为文本文件与申请一同提交的名称为“序列_Listing_13542-016-228.txt”的序列表,其创建于2016年3月14日,大小375Kb。

1.技术领域

[0003] 本文提供了涉及抗体的组合物、方法和用途,所述抗体免疫特异性结合MUC16(一种拴粘蛋白(tethered mucin protein))并调节MUC16的表达和/或活性用于管理、治疗或预防疾病,例如癌症。

[0004] 2.背景

[0005] 粘蛋白是用于细胞稳态和保护上皮表面的重要生物分子。卵巢癌中粘蛋白表达的变化可能被用于诊断,预后和治疗(Singh AP等,Lancet Oncol 2008;9(11):1076-85)。MUC16是一种在大多数卵巢癌中过表达的粘蛋白,是用于卵巢癌检测和进展的已知替代血清标志物(CA-125)(Badgwell D等,Dis Markers 2007;23(5-6):397410;Bast RC,Jr等,Int J Gynecol Cancer 2005;15 Suppl 3:274-81;Fritsche HA等,Clin Chem 1998;44(7):1379-80和Krivak TC等,Gynecol Oncol 2009;115(1):81-5)。MUC16是由大的切割和释放结构域组成的高度糖基化的粘蛋白,称为CA-125,由多个重复序列和一个保留结构域(MUC-CD)组成,后者包括残留的非重复细胞外片段、跨膜结构域和细胞质尾(O'Brien TJ等,Tumor Biol 2001;22(6):348-66)。由于抗原只能在子宫、子宫内膜、输卵管、卵巢和腹腔和胸腔的浆膜中以低水平表达,因此MUC16是基于免疫的治疗的潜在吸引力的靶标。

[0006] 然而,MUC16的大多数细胞外结构域被切割和分泌的事实限制了MUC16作为靶向抗原在卵巢癌中的应用。事实上,迄今为止,大多数报道的MUC16单克隆抗体结合存在于糖蛋白的大分泌型CA-125部分上的表位,没有已知与抗原的保留的细胞外部分(MUC-CD)结合(Bellone S,Am J Obstet Gynecol 2009;200(1):75el-10,Berek JS,Expert Opin Biol Ther 2004;4(7):1159-65;O'Brien TJ等,Int J Biol Markers 1998;13(4):188-95)。因此,诊断和治疗方法需要产生针对MUC16的非脱落区域的新抗体。

[0007] 3.概述

[0008] 本文提供了抗体及其抗原结合片段和包括该抗体或抗原结合片段的多肽,例如融合蛋白、缀合物、和/或嵌合抗原受体,以及表达其的细胞。抗体和抗原结合片段中是那些特异性结合MUC16蛋白表位的。该抗体在本文中称为“MUC16糖基化抗体”。该表位典型的是位于或基本位于MUC16分子胞外部分之内的表位,在一些实施方案中,表位不在MUC16串联重复区域和/或分泌形式的MUC16之内,或抗体或片段不结合MUC16串联重复区域和/或分泌形式的MUC16。在一些实施方案中,表位位于MUC16c114之内或包括MUC16c114之内的残基并典型的包括其中的一个或多个糖基化残基或糖基化位点。在一些实施方案中,表位包括一个或多个糖基化位点,例如N-糖基化位点。在一些方面,该表位包括对应如SEQ ID NO:150所示的MUC16序列(和/或其糖基化形式)的Asn1806或Asn1800的天冬酰胺残基;在一些方面,

表位包括对应SEQ ID NO:150的Asn1806天冬酰胺残基，但不包括对应SEQ ID NO:150的Asn1800天冬酰胺残基，在一些方面，表位包括对应SEQ ID NO:150的Asn1800天冬酰胺残基，但不包括对应SEQ ID NO:150的Asn1806天冬酰胺残基。在一些任何一种这些实施方案中，该一个或多个天冬酰胺是糖基化的，例如N-糖基化的。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段结合SEQ ID NO:131之内的表位或包括SEQ ID NO:131之内的残基的表位；结合SEQ ID NO:130之内的表位或包括SEQ ID NO:130之内的残基的表位，或其组合；在一些实施方案中，抗体或片段不免疫特异性结合对应SEQ ID NO:168的MUC16区域内或SEQ ID NO:168的残基2-19内。

[0009] 在一些实施方案中，提供的抗体或抗原结合片段包括对应抗体序列的重链和/或轻链的CDR的一个或多个互补决定区(CDR)，例如本文描述的靶向MUC16-糖基化位点的抗体序列，例如抗体18C6的，抗体10C6的，和/或抗体19C11的。在一些实施方案中，抗体或片段具有重链CDR3(HCDR3)，其具有对应本文提供的重链序列之一的HCDR3的序列，例如命名为18C6的抗体、命名为10C6的抗体、命名为19C11的抗体和/或命名为7B12的抗体的重链序列。在一些方面，HCDR3具有选自下述的序列：IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105)；GTAQATDALD(SEQ ID NO:111)；X_{18}RIGTAQATDALDY(SEQ ID NO:117)，其中X_{18}是T，A或S；SEQ ID NO:5；SEQ ID NO:25；SEQ ID NO:45；SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:85；SEQ ID NO:31，51，71和91；SEQ ID NO:17；SEQ ID ON:37；SEQ ID NO:57；SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:97。

[0010] 在一些实施方案中，提供的抗体或抗原结合片段具有重链CDR1(HCDR1)，其具有对应本文提供的重链序列之一的HCDR1的序列，例如命名为18C6的抗体、命名为10C6的抗体、命名为19C11的抗体和/或命名为7B12的抗体的重链序列。在一些方面，HCDR1具有选自下述的序列：TX_1GMGVG(SEQ ID NO:103)，其中X_1为L或V；序列GFSLX_8TX_9GM(SEQ ID NO:109)，其中X_8为N或S，且其中X_9为L或V；GFSLX_{15}TX_{16}GMG(SEQ ID NO:115)，其中X_{15}为N或S，且X_{16}为V或L；以及SEQ ID NO:3所示的序列；SEQ ID NO:9所示的序列；SEQ ID NO:15所示的序列；SEQ ID NOs:23，43，63，83任一所示的序列；SEQ ID NOs:29，49，69和89任一所示的序列；SEQ ID NOs:35，55，75和95任一所示的序列。

[0011] 在一些实施方案中，提供的抗体或抗原结合片段具有重链CDR2(HCDR2)，其具有对应本文提供的重链序列之一的HCDR1的序列，例如命名为18C6的抗体、命名为10C6的抗体、命名为19C11的抗体和/或命名为7B12的抗体的重链序列。在一些方面，HCDR2具有选自下述的序列：HIWWDDX_2DKYYX_3PALKS(SEQ ID NO:104)，其中X_2是E或不存在且X_3是Y或N；WDDX_{10}(SEQ ID NO:110)，其中X_{10}是E或不存在；IWWDDX_{17}DK(SEQ ID NO:116)，其中X_{17}是E或不存在；SEQ ID NO:4所示的序列；SEQ ID NO:10所示的序列；SEQ ID NO:16所示的序列；SEQ ID NOs:24，44，64，84任一所示的序列；SEQ ID NOs:30，50，70，90任一所示的序列；SEQ ID NOs:36，56，76，96任一所示的序列。

[0012] 在一些实施方案中，包括任一前述实施方案，提供的抗体或抗原结合片段包括，例如，进一步包括，具有对应本文提供的轻链序列之一的LCDR3的序列的轻链CDR3(LCDR3)，例如命名为18C6的抗体、命名为10C6的抗体、命名为19C11的抗体和/或命名为7B12的抗体的轻链序列。在一些方面，LCDR3具有选自下述的序列：MQX_6LEX_7PLT(SEQ ID NO:108)，其中X_6是G或S且其中X_7是H或Y；X_{13}LEX_{14}PL(SEQ ID NO:114)，其中X_{13}是G或S且其中X_{14}是H或Y；MQSLEYPLT(SEQ ID NO:120)，选自下述的序列：SEQ ID NOs:8，28，48，68和88；选自下述的

序列:SEQ ID NOs:14,34,54,74和94和选自下述的序列:SEQ ID NOs:20,4,60,80和100。

[0013] 在一些实施方案中,包括任一前述实施方案,提供的抗体或抗原结合片段包括,例如,进一步包括,具有对应本文提供的轻链序列之一的LCDR1的序列的轻链CDR1(LCDR1),例如命名为18C6的抗体、命名为10C6的抗体、命名为19C11的抗体和/或命名为7B12的抗体的轻链序列。在一些方面,LCDR1具有选自下述的序列:RSSKSLX$_4$X$_5$SNGNTYLY(SEQ ID NO:106);SKSLX$_{11}$X$_{12}$SNGNTY(SEQ ID NO:112),其中X$_{11}$是L或R且其中X$_{12}$是H或K;KSLX$_{19}$X$_{20}$SNGNTY(SEQ ID NO:118),其中X$_{19}$是V或L且其中X$_{20}$是H或K;选自下述的序列:SEQ ID NOs:6,26,46,66和86;选自下述的序列:SEQ ID NOs:12,32,52,72和92和选自下述的序列:SEQ ID NOs:18,38,58,78和98。

[0014] 在一些实施方案中,包括任一前述实施方案,提供的抗体或抗原结合片段包括,例如,进一步包括,具有对应本文提供的轻链序列之一的LCDR2的序列的轻链CDR2(LCDR2),例如命名为18C6的抗体、命名为10C6的抗体、命名为19C11的抗体和/或命名为7B12的抗体的轻链序列。在一些方面,LCDR2具有选自下述的序列:YMSNLAS(SEQ ID NO:107);YMS(SEQ ID NO:113)和SEQ ID NOs:7,27,47,67,87,13,33,53,73,93,19,39,59,79,99,119任一所示的序列。

[0015] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:(a)VH互补决定区(CDR)1,包含氨基酸序列TX$_1$GMGVG(SEQ ID NO:103),其中X$_1$是L或V;(b)VH CDR2,包含氨基酸序列HIWWDDX$_2$DKYYX$_3$PALKS(SEQ ID NO:104),其中X$_2$是E或不存在且X$_3$是Y或N;和(c)VH CDR3,包含氨基酸序列IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105)。

[0016] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:(a)VH CDR1,包含氨基酸序列GFSLX$_8$TX$_9$GM(SEQ ID NO:109),其中X$_8$是N或S且其中X$_9$是L或V;(b)VH CDR2,包含氨基酸序列WDDX$_{10}$(SEQ ID NO:110),其中X$_{10}$是E或不存在;和(c)VH CDR3,包含氨基酸序列GTAQATDALD(SEQ ID NO:111)。

[0017] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:(a)VH CDR1,包含氨基酸序列GFSLX$_{15}$TX$_{16}$GMG(SEQ ID NO:115),其中X$_{15}$是N或S且X$_{16}$是V或L;(b)VH CDR2,包含氨基酸序列IWWDDX$_{17}$DK(SEQ ID NO:116),其中X$_{17}$是E或不存在;和(c)VH CDR3,包含氨基酸序列X$_{18}$RIGTAQATDALDY(SEQ ID NO:117),其中X$_{18}$是T,A或S。

[0018] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:VH CDR1,包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列;包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;VH CDR2,包含

SEQ ID NO:50的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;VH CDR1,包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列;包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

[0019] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:(a)VL CDR1,包含氨基酸序列RSSKSLX$_4$X$_5$SNGNTYLY(SEQ ID NO:106),其中X$_4$是R或L且X$_5$是K或H;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMSNLAS(SEQ ID NO:107);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列MQX$_6$LEX$_7$PLT(SEQ ID NO:108),其中X$_6$是G或S且X$_7$是H或Y。

[0020] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:(a)VL CDR1,包含氨基酸序列KSLX$_{11}$X$_{12}$SNGNTY(SEQ ID NO:112),其中X$_{11}$是L或R且X$_{12}$是H或K;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:113);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列X$_{13}$LEX$_{14}$PL(SEQ ID NO:114),其中X$_{13}$是G或S且X$_{14}$是H或Y。

[0021] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:VL CDR1,包含氨基酸序列KSLX$_{19}$X$_{20}$SNGNTY(SEQ ID NO:118),其中X$_{19}$是V或L且X$_{20}$是H或K;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:119);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列MQSLEYPLT(SEQ ID NO:120)。

[0022] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:VL CDR1,包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID

NO:12的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列;或VL CDR1,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0023] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:(a)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含氨基酸序列TX_1GMGVG(SEQ ID NO:103),其中X_1是L或V,VH CDR2,包含氨基酸序列$HIWWDDX_2DKYYX_3PALKS$(SEQ ID NO:104),其中X_2是E或不存在且X_3是Y或N,和VH CDR3,包含氨基酸序列IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105);和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含氨基酸序列$RSSKSLX_4X_5SNGNTYLY$(SEQ ID NO:106),其中X_4是R或L且X_5是K或H,VL CDR2,包含氨基酸序列YMSNLAS(SEQ ID NO:107)和VL CDR3,包含氨基酸序列MQX_6LEX_7PLT(SEQ ID NO:108),其中X_6是G或S且X_7是H或Y;或(b)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含氨基酸序列$GFSLX_8TX_9GM$(SEQ ID NO:109),其中X_8是N或S且其中X_9是L或V,VH CDR2,包含氨基酸序列$WDDX_{10}$(SEQ ID NO:110),其中X_{10}是E或不存在和VH CDR3,包含氨基酸序列GTAQATDALD(SEQ ID NO:111);和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含氨基酸序列$KSLX_{11}X_{12}SNGNTY$(SEQ ID NO:112),其中X_{11}是L或R且X_{12}是H或K,VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:113)和VL CDR3,包含氨基酸序列$X_{13}LEX_{14}PL$(SEQ ID NO:114),其中X_{13}是G或S且X_{14}是H或Y;或(c)(i)VH CDR1,包含氨基酸序列$GFSLX_{15}TX_{16}GMG$(SEQ ID NO:115),其中X_{15}是N或S且X_{16}是V或L,VH CDR2,包含氨基酸序列$IWWDDX_{17}DK$(SEQ ID NO:116),其中X_{17}是E或不存在和VH CDR3,包含氨基酸序列$X_{18}RIGTAQATDALDY$(SEQ ID NO:117),其中X_{18}是T,A或S;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含氨基酸序列$KSLX_{19}X_{20}SNGNTY$(SEQ ID NO:118),其中X_{19}是V或L且X_{20}是H或K,VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:119)和VL CDR3,包含氨基酸序列MQSLEYPLT(SEQ ID NO:120);或(d)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列;或(e)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列;或(f)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列;或(g)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列;或

(h)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列;或(i)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列;或(j)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列;或(k)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列;或(l)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列;或(m)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;或(n)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;或(o)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;或(p)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列;或(q)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列;或(r)(i)包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列;和(ii)包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,VL CDR2,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列,和VL CDR3,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0024] 在任意实施方案中的抗体和抗原结合片段是那些具有:(a)(i)包含下述氨基酸序列的VH:QVX_{21}LKESGPGX_{22}LQPSQTLSLTCSFSGFSLX_{23}TX_{24}GMGVGWX_{25}RQX_{26}SGKGLEWLAHIWWDDX_{27}DKYYX_{28}PALKSRLTISX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$SKNQVFLKIX$_{32}$NVX_{33}TADX$_{34}$ATYYCX$_{35}$RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:101),其中X_{21}是T或N,X_{22}是I或K,X_{23}是N或S,X_{24}是V或L,X_{25}是S或I,X_{26}是P或S,X_{27}是E或不存在,X_{28}是N或Y,X_{29}是K或R,X_{30}是A或D,X_{31}是T或S,X_{32}是V或A,X_{33}是G或D,X_{34}是T,I或S且X_{35}是T,S或A;和(ii)包含下述氨基酸序列的VL:DIVMTQAAPSX$_{36}$X$_{37}$VTPGESVSISCRSSKSLX$_{38}$X$_{39}$SNGNTYLYWFLQRPGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLX$_{40}$ISRVEAX$_{41}$DVGVYYCMQX$_{42}$LEX$_{43}$PLTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:102),其中X_{36}是I或V,X_{37}是P或S,X_{38}是R或L,X_{39}是K或H,X_{40}是R或K,X_{41}是E或G,X_{42}是S或G且X_{43}是Y或H;或(b)(i)包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH;和(ii)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的VL;或(c)(i)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH;和(ii)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的VL;或(d)(i)包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH;和(ii)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的VL;或(e)(i)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH;和(ii)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VL;或(f)(i)包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VH;和(ii)包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的VL。

[0025] 在提供的抗体或抗原结合片段中还包括具有与任何该抗体和/或任何表1和2中所示的抗体的VH和/或VL序列至少90,95,96,97,98,99或100％同一性的那些抗体或抗原结合片段。在提供的抗体及其片段中还包括与任何该抗体竞争结合MUC16和/或其表位的那些抗体及其片段。

[0026] 本文还提供了融合蛋白,例如嵌合分子,和/或缀合物,其包括任何抗体,例如包含该抗体或片段的嵌合抗原受体(CAR)和表达该分子的细胞。本文还提供了任何该抗体的人源化版本。

[0027] 在一些实施方案中,本文提供了抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体(a)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(b)不能(lack of)免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;且(c)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。在某些实施方案中,(i)重组表达第一形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;(ii)重组表达第二形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;且(iii)步骤(c)中的细胞是SKOV3细胞。在具体实施方案中,抗体不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139。在某些实施方案中,(i)重组表达第一形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;(ii)重组表达第二形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;且(iii)步骤(c)中的细胞是SKOV3细胞。在某些实施方案中,(i)重组表达第一形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;(ii)重组表达第二形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;(iii)重组表达第三形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;且(iv)步骤(c)中的细胞是SKOV3细胞。

[0028] 本文还提供了抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体(a)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(b)不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;且(c)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。在某些实施方案中,(i)重组表达第一形式的MUC16的细

胞是SKOV3细胞;(ii)重组表达第三形式的MUC16的细胞是SKOV3细胞;且(iii)步骤(c)中的细胞是SKOV3细胞。

[0029] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段免疫特异性结合包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的天冬酰胺1806的表位。

[0030] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段免疫特异性结合氨基酸序列CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130),其中CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)的4号氨基酸残基(N4)和10号氨基酸残基(N10)是糖基化的。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段免疫特异性结合氨基酸序列CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131),其中CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)的7号氨基酸残基(N7)是糖基化的。在某些实施方案中,糖基化包含N连接的壳二糖。

[0031] 在某些实施方案中,通过使细胞接触抗体或抗原结合片段将抗体或其抗原结合片段内化至表达第一形式的MUC16的细胞中。在某些实施方案中,细胞是重组表达第一形式的MUC16的SKOV3细胞。

[0032] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段抑制表达糖基化形式的MUC16的肿瘤的生长。

[0033] 在某些实施方案中,抗体是单克隆抗体。

[0034] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(VH),其包含(a)VH互补决定区(CDR)1,包含氨基酸序列TX$_1$GMGVG(SEQ ID NO:103),其中X$_1$是L或V;(b)VH CDR2,包含氨基酸序列HIWWDDX$_2$DKYYX$_3$PALKS(SEQ ID NO:104),其中X$_2$是E或不存在且X$_3$是Y或N;和(c)VH CDR3,包含氨基酸序列IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105)。

[0035] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:(a)VH CDR1,包含氨基酸序列GFSLX$_8$TX$_9$GM(SEQ ID NO:109),其中X$_8$是N或S且其中X$_9$是L或V;(b)VH CDR2,包含氨基酸序列WDDX$_{10}$(SEQ ID NO:110),其中X$_{10}$是E或不存在;和(c)VH CDR3,包含氨基酸序列GTAQATDALD(SEQ ID NO:111)。

[0036] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:(a)VH CDR1,包含氨基酸序列GFSLX$_{15}$TX$_{16}$GMG(SEQ ID NO:115),其中X$_{15}$是N或S且X$_{16}$是V或L;(b)VH CDR2,包含氨基酸序列IWWDDX$_{17}$DK(SEQ ID NO:116),其中X$_{17}$是E或不存在;和(c)VH CDR3,包含氨基酸序列X$_{18}$RIGTAQATDALDY(SEQ ID NO:117),其中X$_{18}$是T,A或S。

[0037] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0038] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。

[0039] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0040] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ

ID NO:25的氨基酸序列。

[0041] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列。

[0042] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0043] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

[0044] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

[0045] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列。

[0046] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列。

[0047] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0048] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

[0049] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VH CDR1,包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列。

[0050] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列。

[0051] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

[0052] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含下述氨基酸序列:QVX_{21}LKESGPGX_{22}LQPSQTLSLTCSFSGFSLX_{23}TX_{24}GMGVGWX_{25}RQX_{26}SGKGLEWLAHIWWDDX_{27}DKYYX_{28}PALKSRLTIS$X_{29}X_{30}X_{31}$SKNQVFLKIX_{32}NVX_{33}TADX$_{34}$ATYYCX_{35}RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:101),其中X_{21}是T或N,X_{22}是I或K,X_{23}是N或S,X_{24}是V或L,X_{25}是S或I,X_{26}是P或S,X_{27}是E或不存在,X_{28}是N或Y,X_{29}是K或R,X_{30}是A或D,X_{31}是T或S,X_{32}是V或A,X_{33}是G或D,X_{34}是T,I或S且X_{35}是

T,S或A。

[0053] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列。

[0054] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列。

[0055] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0056] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列。

[0057] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

[0058] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区(VL),其包含(a)VL CDR1,包含氨基酸序列RSSKSLX$_4$X$_5$SNGNTYLY(SEQ ID NO:106),其中X$_4$是R或L且X$_5$是K或H;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMSNLAS(SEQ ID NO:107);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列MQX$_6$LEX$_7$PLT(SEQ ID NO:108),其中X$_6$是G或S且X$_7$是H或Y。

[0059] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:(a)VL CDR1,包含氨基酸序列KSLX$_{11}$X$_{12}$SNGNTY(SEQ ID NO:112),其中X$_{11}$是L或R且X$_{12}$是H或K;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:113);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列X$_{13}$LEX$_{14}$PL(SEQ ID NO:114),其中X$_{13}$是G或S且X$_{14}$是H或Y。

[0060] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:(a)VL CDR1,包含氨基酸序列KSLX$_{19}$X$_{20}$SNGNTY(SEQ ID NO:118),其中X$_{19}$是V或L且X$_{20}$是H或K;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:119);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列MQSLEYPLT(SEQ ID NO:120)。

[0061] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区(VL),其包含VL CDR1,包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

[0062] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

[0063] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

[0064] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0065] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。

[0066] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ

ID NO:58的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列。

[0067] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列。

[0068] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列。

[0069] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列。

[0070] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0071] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

[0072] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0073] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列。

[0074] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列。

[0075] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0076] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含下述氨基酸序列:

[0077] DIVMTQAAPS$X_{36}X_{37}$VTPGESVSISCRSSKSL$X_{38}X_{39}$SNGNTYLYWFL QRPGQSPQRLIYYMSNLASG VPDRFSGRGSGTDFTLX_{40}ISRVEAX_{41}DVG VYYCMQX_{42}LEX_{43}PLTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:102),其中X_{36}是I或V,X_{37}是P或S,X_{38}是R或L,X_{39}是K或H,X_{40}是R或K,X_{41}是E或G,X_{42}是S或G且X_{43}是Y或H。

[0078] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0079] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列。

[0080] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列。

[0081] 在某些实施方案中，抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

[0082] 在某些实施方案中，抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列。

[0083] 在某些实施方案中，抗体包含人源的重链和轻链恒定区。在某些实施方案中，重链恒定区具有选自γ1，γ2，γ3和γ4的同种型。在某些实施方案中，轻链恒定区具有选自κ和λ的同种型。

[0084] 在某些实施方案中，抗体或其抗原结合片段是人源化的。在某些实施方案中，抗体或其抗原结合片段是人源化的形式的啮齿类抗体。

[0085] 在某些实施方案中，抗体是包含两条相同重链和两条相同轻链的免疫球蛋白。在某些实施方案中，免疫球蛋白是IgG。

[0086] 本文还提供了包含缀合至试剂的本文提供的抗体或其抗原结合片段的抗体缀合物。在某些实施方案中，试剂是显影剂或细胞毒性剂。

[0087] 在某些实施方案中，抗体或其抗原结合片段是双特异性抗体。在某些实施方案中，双特异性抗体免疫特异性结合CD3。在某些实施方案中，双特异性抗体包含免疫特异性结合MUC16的免疫球蛋白，其中免疫球蛋白的轻链通过肽接头缀合至免疫特异性结合CD3的单链可变区片段(scFv)。本文还提供了包含缀合至试剂的本文提供的双特异性抗体的双特异性抗体缀合物。在某些实施方案中，试剂是显影剂或细胞毒性剂。

[0088] 在某些实施方案中，其抗原结合片段是单链可变区片段(scFv)。本文还提供了包含缀合至试剂的本文提供的scFv的scFv缀合物。在某些实施方案中，试剂是显影剂或细胞毒性剂。

[0089] 本文还提供了包含抗体和抗原结合片段的融合蛋白、嵌合分子和缀合物。本文提供了包括一个或多个任一提供的抗体或其抗原结合片段的嵌合抗原受体(CAR)，例如包含任一本文提供的scFv或本文提供的scFv缀合物的CAR，和/或包含与之竞争结合MUC16的抗原结合域的CAR。

[0090] 本文还提供了抗体重链或其抗原结合部分。在提供的抗体及其抗原结合片段中包括具有重链和/或其抗原结合部分(例如其VH区)的抗体及其抗原结合片段，本文还提供了该重链及其抗原结合部分。在一些实施方案中，重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH：(a)VH CDR1，包含氨基酸序列TX_1GMGVG(SEQ ID NO:103)，其中X_1是L或V；(b)VH CDR2，包含氨基酸序列$HIWWDDX_2DKYYX_3PALKS$(SEQ ID NO:104)，其中X_2是E或不存在且X_3是Y或N；和(c)VH CDR3，包含氨基酸序列IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105)；其中，可选的，包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0091] 在一些实施方案中，重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH：(a)VH CDR1，包含氨基酸序列$GFSLX_8TX_9GM$(SEQ ID NO:109)，其中X_8是N或S且X_9是L或V；(b)VH CDR2，包含氨基酸序列$WDDX_{10}$(SEQ ID NO:110)，其中X_{10}是E或不存在；和(c)VH CDR3，包含氨基酸序列

GTAQATDALD(SEQ ID NO:111);其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0092] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:(a)VH CDR1,包含氨基酸序列GFSLX$_{15}$TX$_{16}$GMG(SEQ ID NO:115),其中X$_{15}$是N或S且X$_{16}$是V或L;(b)VH CDR2,包含氨基酸序列IWWDDX$_{17}$DK(SEQ ID NO:116),其中X$_{17}$是E或不存在;和(c)VH CDR3,包含氨基酸序列X$_{18}$RIGTAQATDALDY(SEQ ID NO:117),其中X$_{18}$是T,A或S;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0093] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0094] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0095] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0096] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且

其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0097] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0098] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0099] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0100] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0101] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0102] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ

ID NO:63的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0103] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0104] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0105] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0106] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0107] 在一些实施方案中,重链或其抗原结合部分具有包含下述的VH:VH CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形

式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0108] 在一些实施方案中，重链或其抗原结合部分包含VH，其包含下述氨基酸序列：QVX_{21}LKESGPGX_{22}LQPSQTLSLTCSFSGFSLX_{23}TX_{24}GMGVGWX_{25}RQX_{26}SGKGLEWLAHIWWDDX_{27}DKYYX_{28}PALKSRLTIS$X_{29}X_{30}X_{31}$SKNQVFLKIX_{32}NVX_{33}TADX$_{34}$ATYYCX_{35}RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:101)，其中X_{21}是T或N，X_{22}是I或K，X_{23}是N或S，X_{24}是V或L，X_{25}是S或I，X_{26}是P或S，X_{27}是E或不存在，X_{28}是N或Y，X_{29}是K或R，X_{30}是A或D，X_{31}是T或S，X_{32}是V或A，X_{33}是G或D，X_{34}是T，I或S且X_{35}是T，S或A；其中，可选的，包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0109] 在一些实施方案中，重链或其抗原结合部分包含VH，其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列；其中，可选的，包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0110] 在一些实施方案中，重链或其抗原结合部分包含VH，其包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列；其中，可选的，包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0111] 在一些实施方案中，重链或其抗原结合部分包含VH，其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列；其中，可选的，包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0112] 在一些实施方案中，重链或其抗原结合部分包含VH，其包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列；其中，可选的，包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0113] 在一些实施方案中，重链或其抗原结合部分包含VH，其包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列；其中，可选的，包含抗体重链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的

氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0114] 在某些实施方案中,抗体重链或其抗原结合部分包含人源的重链恒定区。在某些实施方案中,重链恒定区具有选自γ1,γ2,γ3和γ4的同种型。在某些实施方案中,抗体重链是人源化的。在某些实施方案中,抗体重链是人源化的形式的啮齿类重链。

[0115] 本文还提供了包含本文提供的抗体重链的抗体重链缀合物,其中所述抗体重链缀合试剂。在某些实施方案中,试剂是显影剂或细胞毒性剂。

[0116] 在提供的抗体及其抗原结合片段中包括具有轻链和/或其部分例如其VL区的抗体及其抗原结合片段,本文还提供了该轻链及其抗原结合部分。在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:(a)VLCDR1,包含氨基酸序列RSSKSLX$_4$X$_5$SNGNTYLY(SEQ ID NO:106),其中X$_4$是R或L且X$_5$是K或H;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMSNLAS(SEQ ID NO:107);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列MQX$_6$LEX$_7$PLT(SEQ ID NO:108),其中X$_6$是G或S且X$_7$是H或Y;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0117] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:(a)VL CDR1,包含氨基酸序列KSLX$_{11}$X$_{12}$SNGNTY(SEQ ID NO:112),其中X$_{11}$是L或R且X$_{12}$是H或K;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:113);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列X$_{13}$LEX$_{14}$PL(SEQ ID NO:114),其中X$_{13}$是G或S且X$_{14}$是H或Y;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0118] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:(a)VL CDR1,包含氨基酸序列KSLX$_{19}$X$_{20}$SNGNTY(SEQ ID NO:118),其中X$_{19}$是V或L且X$_{20}$是H或K;(b)VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:119);和(c)VL CDR3,包含氨基酸序列MQSLEYPLT(SEQ ID NO:120);其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0119] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的

MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0120] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0121] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0122] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0123] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0124] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0125] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ

ID NO:48的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0126] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0127] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0128] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0129] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0130] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:

139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0131] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0132] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0133] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分具有包含下述的VL:VL CDR1,包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0134] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分包含VL,其包含下述氨基酸序列:DIVMTQAAPS$X_{36}X_{37}$VTPGESVSISCRSSKSL$X_{38}X_{39}$SNGNTYLYWFLQRPGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLX_{40}ISRVEAX_{41}DVGVYYCMQX_{42}LEX_{43}PLTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:102),其中X_{36}是I或V,X_{37}是P或S,X_{38}是R或L,X_{39}是K或H,X_{40}是R或K,X_{41}是E或G,X_{42}是S或G且X_{43}是Y或H;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0135] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分包含VL,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0136] 在一些实施方案中,轻链或其抗原结合部分包含VL,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列;其中,可选的,包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫

特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0137] 在一些实施方案中，轻链或其抗原结合部分包含VL，其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列；其中，可选的，包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0138] 在一些实施方案中，轻链或其抗原结合部分包含VL，其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列；其中，可选的，包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0139] 在一些实施方案中，轻链或其抗原结合部分包含VL，其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列；其中，可选的，包含抗体轻链或其抗原结合部分的抗体或其抗原结合片段(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。

[0140] 在某些实施方案中，抗体轻链或其抗原结合部分包含人源的轻链恒定区。在某些实施方案中，轻链恒定区具有选自κ和λ的同种型。在某些实施方案中，抗体轻链是人源化的。在某些实施方案中，抗体轻链是人源化的形式的啮齿类抗体。

[0141] 本文还提供了包含缀合至试剂的本文提供的抗体轻链的抗体轻链缀合物。在某些实施方案中，试剂是显影剂或细胞毒性剂。

[0142] 本文还提供了融合蛋白，包含通过肽接头缀合至scFv的本文提供的抗体轻链缀合物。在某些实施方案中，scFv结合CD3。

[0143] 本文还提供了细胞，例如免疫细胞，例如T细胞，其重组表达一个或多个本文提供的分子，例如本文提供的CAR。

[0144] 本文还提供了一种多核苷酸，其包含编码本文提供的scFv的核酸序列。本文还提供了一种多核苷酸，其包含编码本文提供的scFv或其缀合物的核酸序列。本文还提供了一种多核苷酸，其包含编码本文提供的CAR的核酸序列。本文还提供了一种多核苷酸，其包含编码本文提供的抗体重链或其抗原结合部分的核酸序列。本文还提供了一种多核苷酸，其包含编码本文提供的抗体重链缀合物的核酸序列。本文还提供了一种多核苷酸，其包含编码本文提供的抗体轻链或其抗原结合部分的核酸序列。本文还提供了一种多核苷酸，其包含编码本文提供的抗体轻链缀合物的核酸序列。本文还提供了一种多核苷酸，其包含编码本文提供的融合蛋白的核酸序列。一种多核苷酸，其包含编码下述的核酸序列：(a)本文提

供的抗体重链或其抗原结合部分或本文提供的抗体重链缀合物;和(b)本文提供的抗体轻链或其抗原结合部分,本文提供的抗体轻链缀合物或本文提供的融合蛋白。

[0145] 本文还提供了包含可操作地连接启动子的本文提供的多核苷酸的载体。本文还提供了载体,其包含(a)可操作地连接第一启动子的本文提供的第一多核苷酸和(b)可操作地连接第二启动子的本文提供的第二多核苷酸。

[0146] 本文还提供了包含可操作地连接启动子的本文提供的多核苷酸的离体细胞。本文还提供了包含可操作地连接启动子的本文提供的多核苷酸的离体细胞。本文还提供了包含本文提供的载体的离体细胞。本文还提供了包含可操作地连接启动子的一种或多种编码本文提供的抗体或其抗原结合片段的多核苷酸的离体细胞。

[0147] 本文还提供了产生抗体重链或其抗原结合部分的方法,包括在细胞表达多核苷酸的条件下培养本文提供的细胞以产生多核苷酸编码的抗体重链或其抗原结合部分或抗体重链缀合物。

[0148] 本文还提供了产生抗体轻链或其抗原结合部分的方法,包括在细胞表达多核苷酸的条件下培养本文提供的细胞以产生抗体轻链或其抗原结合部分,抗体轻链缀合物或融合蛋白多核苷酸编码的。

[0149] 本文还提供了产生抗体或其抗原结合片段的方法,包括在细胞表达可操作地连接第一启动子的多核苷酸和可操作地连接第二启动子的多核苷酸的条件下离体培养本文提供的细胞以产生(i)多核苷酸编码的抗体重链或抗体重链缀合物和(ii)多核苷酸编码的抗体轻链、抗体轻链缀合物或融合蛋白。

[0150] 本文还提供了药物组合物,包含:治疗有效量的本文提供的抗体或其抗原结合片段,本文提供的抗体缀合物,本文提供的双特异性抗体,本文提供的双特异性抗体缀合物,本文提供的scFv,scFv缀合物,本文提供的CAR,本文提供的抗体重链或其抗原结合部分,本文提供的抗体重链缀合物,本文提供的抗体轻链或其抗原结合部分,本文提供的抗体轻链缀合物,本文提供的融合蛋白或本文提供的T细胞和药学上可接受的载体。

[0151] 本文还提供了在有需要的患者中治疗癌症的方法,包括对所述患者给药本文提供的药物组合物。在某些实施方案中,癌症是肺癌,胰腺癌,乳腺癌,子宫癌,输卵管癌或原发性腹膜癌。在某些实施方案中,癌症是卵巢癌。在某些实施方案中,患者是人患者。在具体的实施方案中,该方法是联合治疗方法,进一步包括对患者给药治疗有效量的另一治疗剂。

[0152] 在联合治疗方法的一个具体实施方案中,药物组合物包含治疗有效量的本文描述的抗体或其抗原结合片段的第一抗体,其中抗体或其抗原结合片段识别MUC16中的表位,所述表位包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1806,但不包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1800,其中另外的治疗剂是第二抗体或其抗原结合片段,其中第二抗体或其抗原结合片段识别MUC16中的表位,所述表位包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1806,也包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1800。在具体实施方案中,第一抗体或其抗原结合片段通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式的MUC16是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)其免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞的能力,其第四形式是糖基化的,且其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152;且其中重组

表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同细胞类型;且其中第二抗体或其抗原结合片段通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;和(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第五形式的MUC16的细胞,其第五形式是糖基化的,且其中第五形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:172,其中重组表达第一形式的MUC16的细胞与重组表达第五形式的MUC16的细胞是相同细胞类型。

[0153] 在联合治疗方法的一个具体实施方案中,药物组合物包含治疗有效量的第一抗体或其抗原结合片段,其是本文描述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段识别MUC16中的表位,所述表位包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1806但不包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1800,其中另外的治疗剂是治疗有效量的第二抗体或其抗原结合片段,其中第二抗体或其抗原结合片段识别MUC16中的表位,所述表位包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1800但不包含N-糖基化的SEQ ID NO:150的Asn1806。在具体实施方案中,第一抗体或其抗原结合片段通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式的MUC16是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)其免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞的能力,其第四形式是糖基化的,且其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152,其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同细胞类型;且其中第二抗体或其抗原结合片段通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)其免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞的能力,该第三形式的MUC16是糖基化的,且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)其不能免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞,其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152,且,其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同类型的细胞。

[0154] 本文还提供了包括一个或多个糖基化位点的免疫原性糖肽,其中(i)免疫原性糖肽是10-60个氨基酸残基、10-30个氨基酸残基、15-25个氨基酸残基、15-20个氨基酸残基或15-18个氨基酸残基长和(ii)该一个或多个糖基化位点的至少一个连接碳水化合物。在某些实施方案中,免疫原性糖肽包含1、2或3个糖基化位点。在某些实施方案中,免疫原性糖肽包含连接碳水化合物的糖基化位点。在某些实施方案中,免疫原性糖肽包含两个分别连接碳水化合物的糖基化位点。在某些实施方案中,碳水化合物是N-或O连接的碳水化合物。在某些实施方案中,碳水化合物是单糖、二糖、三糖、四糖或五糖。在某些实施方案中,碳水化合物是二糖。在某些实施方案中,二糖是壳二糖。

[0155] 在某些实施方案中,免疫原性糖肽的N端是乙酰化的。在某些实施方案中,糖肽的C端是N-甲基甲酰胺衍生物的形式。在某些实施方案中,免疫原性糖肽缀合免疫原性载体蛋白。在某些实施方案中,免疫原性载体蛋白是钥孔戚血蓝素。

[0156] 在某些实施方案中,免疫原性糖肽是15-18个氨基酸残基长。在某些实施方案中,

免疫原性糖肽包含连接壳二糖的糖基化位点。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含分别连接壳二糖的两个糖基化位点。

[0157] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽是18个氨基酸残基长。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含分别连接壳二糖的两个糖基化位点。

[0158] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽是15个氨基酸残基长。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含连接壳二糖的糖基化位点。

[0159] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的至少10个氨基酸部分，其中该一个或多个糖基化位点的至少一个位于所述氨基酸序列部分之内。

[0160] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列。

[0161] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含位于SEQ ID NO:129第30个残基(Asn)的糖基化位点，其连接壳二糖。

[0162] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含位于SEQ ID NO:129第30个残基(Asn)的糖基化位点，其连接$Man_3GlcNAc_2$部分。

[0163] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含位于SEQ ID NO:130第4个残基(Asn)和第10个残基(Asn)的两个糖基化位点，其分别连接壳二糖。

[0164] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含位于SEQ ID NO:131第7个残基(Asn)的糖基化位点，其连接壳二糖。

[0165] 本文还提供了产生特异性结合糖蛋白的抗体或其抗原结合片段的方法，包括用包含一个或多个糖基化位点的免疫原性糖肽来免疫对象，其中(i)免疫原性糖肽是10-60个氨基酸残基、10-30个氨基酸残基、15-25个氨基酸残基、15-20个氨基酸残基或15-18个氨基酸残基长，(ii)免疫原性糖肽包含糖蛋白氨基酸序列的至少10个氨基酸的部分，(iii)该一个或多个糖基化位点的至少一个连接碳水化合物，和(iv)该一个或多个糖基化位点的至少一个位于所述氨基酸序列部分之内。在某些实施方案中，抗体或其抗原结合片段不能特异性结合非糖基化形式的糖蛋白。在某些实施方案中，对象是山羊、绵羊、驴、鸡、豚鼠、大鼠、兔或小鼠。在某些实施方案中，对象是大鼠、兔或小鼠。在某些实施方案中，对象是小鼠。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含1、2或3个糖基化位点。权利要求190-195任一项的方法，其中免疫原性糖肽包含连接碳水化合物的糖基化位点。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含两个分别连接碳水化合物的糖基化位点。在某些实施方案中，碳水化合物是N-或O连接的碳水化合物。在某些实施方案中，碳水化合物是单糖、二糖、三糖、四糖或五糖。在某些实施方案中，碳水化合物是二糖。在某些实施方案中，二糖是壳二糖。在某些实施方案中，免疫原性糖肽的N端是乙酰化的。在某些实施方案中，糖肽的C端是N-甲基甲酰胺衍生物的形式。在某些实施方案中，免疫原性糖肽缀合免疫原性载体蛋白。在某些实施方案中，免疫原性载体蛋白是钥孔戚血蓝素。在某些实施方案中，免疫原性糖肽是15-18个氨基酸残基长。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含连接壳二糖的糖基化位点。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含分别连接壳二糖的两个糖基化位点。在某些实施方案中，免疫原性糖肽是18个氨基酸残基长。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含分别连接壳二糖的两个糖基化位点。在某些实施方案中，免疫原性糖肽是15个氨基酸残基长。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包

含连接壳二糖的糖基化位点。在某些实施方案中，糖蛋白包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含位于SEQ ID NO:129第30个残基(Asn)的糖基化位点，其连接壳二糖。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含位于SEQ ID NO:129第30个残基(Asn)的糖基化位点，其连接$Man_3GlcNAc_2$部分。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含位于SEQ ID NO:130第4个残基(Asn)和第10个残基(Asn)的两个糖基化位点，其分别连接壳二糖。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含位于SEQ ID NO:131第7个残基(Asn)的糖基化位点，其连接壳二糖。

[0166] 本文还提供了抗体及其抗原结合片段，其免疫特异性结合MUC16且其具有本文描述的抗体(例如，10C6、7B12、19C11、16C5或18C6)的VH，VL，VH CDR，和/或VL CDR序列，及其缀合物(例如，缀合显影剂或细胞毒性剂试剂)。

[0167] 4.附图简述

[0168] 图1A-图1I。MUC16构建体。图1A:MUC16的示意图。图1B:顶部:$MUC16^{c344}$的示意图。底部:截短的$MUC16^{c344}$构建体的线性表示。第一串联重复的N端氨基酸序列如SEQ ID NO:155所示。第一串联重复的C端氨基酸序列如SEQ ID NO:156所示。胞外域N端的氨基酸序列如SEQ ID NO:157所示。胞外域C端的氨基酸序列如SEQ ID NO:158所示。图1C:顶部:$MUC16^{c114}$的示意图。底部:$MUC16^{c114}$的线性表示。胞外域的氨基酸序列如SEQ ID NO:161所示。跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:159所示。胞质尾区的氨基酸序列如SEQ ID NO:160所示。图1D:顶部:$MUC16^{c80}$的示意图。底部:$MUC16^{c80}$的线性表示。胞外域的氨基酸序列如SEQ ID NO:162所示。跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:159所示。胞质尾区的氨基酸序列如SEQ ID NO:159所示。图1E:顶部:$MUC16^{c86}$的示意图。底部:$MUC16^{c86}$的线性表示。胞外域的氨基酸序列如SEQ ID NO:163所示。跨膜域的氨基酸序列如SEQ NO:164所示。胞浆区的氨基酸序列是SEQ ID NO:165。图1F:$MUC16^{c114\text{-}N123}$的线性表示。3(N→A)突变的胞外域58aa的氨基酸序列如SEQ ID NO:166所示。跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:159所示。胞浆区的氨基酸序列如SEQ ID NO:160所示。图1G，图1H和图1I描述了通过4H11由FACS分析检测的细胞百分比，其中细胞系表达指出的MUC16构建体。

[0169] 图2A-图2C。MUC16转染子的体外生长曲线。图2A描述了与3T3细胞中的对照细胞系(phrGFP)相比较的$MUC16^{c114}$和$MUC16^{c344}$细胞系的体外生长曲线。图2B描述了与A2780细胞中的对照细胞系(phrGFP)相比较的$MUC16^{c114}$和$MUC16^{c344}$细胞系的体外生长曲线。图2C描述了与3T3细胞中的对照细胞系(phrGFP)相比较的$MUC16^{c114}$，$MUC16^{c80}$和$MUC16^{c86}$细胞系的体外生长曲线。

[0170] 图3A-图3E。MUC16在3T3细胞中的作用。图3A描绘了在60mm培养皿中3T3转染子的软琼脂生长。14天后，对菌落进行计数和绘制。表中所示的数据表示与表达phrGFP对照载体的细胞的软琼脂生长相比的三个相似实验中的一个(***$p<0.0001$)。图3B描述了用phrGFP对照载体或用$MUC16^{c114}$或$MUC16^{c344}$羧基末端构建体稳定转染后3T3细胞系的基质胶侵袭测定。每次测定采用三个平行进行两次或多次，并人工计数。与侵袭表达phrGFP载体对照的细胞相比，$MUC16^{c114}$和$MUC16^{c344}$细胞系的侵袭性明显更高(***$p<0.0001$)，$MUC16^{c344}$细胞系的结果与$MUC16^{c114}$细胞系显著不同((#$p=0.0354$)。图3C描述了$MUC16^{c114}$和$MUC16^{c344}$表达诱导

的转移和侵袭基因的表达。针对MUC16构建体阳性和仅载体细胞系检测了80个侵袭/转移基因转录物的超阵列。在3T3MUC16^{c114}或3T3-MUC16^{c344}细胞系中测量选定的趋化性，粘附和侵袭转录物的表达(三个平行分别测试两次，并与通过卡方检验的phr仅载体对照比较)。表中显示了经调整适于重复检测的每个转录物的p值。包括了p<0.05或更低水平变化的所有基因。图3D:检测了转染的3T3细胞ERK/AKT信号通路的激活与仅载体对照的比较。与phr载体的表达相比，MUC16^{c114}和MUC16^{c344}构建体表达后，ERK1/2(pT202/Y204)和AKT(S473)的磷酸化增加。在每个细胞系中都观察到两种途径的活化。β-肌动蛋白归一化光密度测定值如下图所示每个western印迹显示。图3E描绘了无胸腺裸鼠中MUC16构建体阳性的肿瘤生长。将两百万个肿瘤细胞引入15只nu/nu小鼠的侧腹，观察小鼠的肿瘤形成。每周两次由卡尺测量肿瘤。携带MUC16构建体阳性肿瘤的小鼠平均肿瘤体积的差异显著更大(与表达phrGFP对照载体的细胞相比，两个细胞系的p<0.0001)。

[0171] 图4A-图4C.MUC16片段的致癌性质。图4A描述了转染phrGFP对照载体或MUC16羧基末端表达载体MUC16^{c114}或MUC16^{c344}的A2780细胞系的基质胶侵袭测定。每次测定采用三个平行进行两次或多次，并人工计数。将结果与表达phrGFP对照载体或MUC16^{c114}的细胞的基质胶侵袭进行比较。MUC16^{c114}或MUC16^{c34}细胞系相对于phrGFP载体对照显示出显著的基质胶侵袭，MUC16^{c344}细胞系的结果与MUC16^{c114}细胞系的结果显著不同(##p＝0.0018)。图4B描述了MUC16表达对ERK/AKT信号传导的影响。检测了A2780细胞的ERK/AKT信号通路的激活。每个MUC16表达构建体的表达后，ERK1/2(pT202/Y204)和AKT(S473)的磷酸化增加。在每个细胞系中激活两种途径。β-肌动蛋白归一化光密度测定值如下图所示每个western印迹显示。图4C描绘了无胸腺裸鼠中MUC16-构建体阳性的肿瘤生长。将两百万个肿瘤细胞引入15只nu/nu小鼠的侧腹，观察小鼠的肿瘤形成。每周两次由卡尺测量肿瘤。如图所示，在第28天，携带任何MUC16^{c114}-或MUC16^{c344}-阳性肿瘤的小鼠的平均肿瘤体积的差异显著更大。

[0172] 图5A-图5D:截短的MUC16^{c114}变体的影响。图5A:软琼脂生长。将表达MUC16^{c114}的内部或外部域部分的3T3转染子铺在软琼脂上，如6.1.2节所述。对菌落进行计数和绘制。显示的数据代表三个实验之一。MUC16^{c80}和MUC16^{c86}的软琼脂生长速率与MUC16^{c114}的生长速度显着不同(分别为#p＝0.0111和##p＝0.0258)，而与MUC16^{86}转染子的生长速率相比，MUC16^{80}转染子的生长速率更高(###p<0.0001)。图5B描述了转染phrGFP对照载体或用MUC16羧基末端构建体转染的3T3细胞系的基质胶侵袭测定。每次测定采用三个平行进行两次或多次，并人工计数。与MUC16^{c114}细胞系侵袭相比，侵袭MUC16^{c80}转染细胞是显著的(#p＝0.0172)。图5C描述了MUC16表达对ERK/AKT信号传导的影响。检测了转染的3T3细胞的ERK/AKT信号通路的激活。MUC16^{c114}后ERK1/2(pT202/Y204)和AKT(S473)的磷酸化增加，然而，在用MUC16^{c80}或MUC16^{c86}构建体转染的细胞中信号较低。β-肌动蛋白归一化光密度测定值如下图所示每个western印迹显示。图5D描绘了无胸腺裸鼠中MUC16构建阳性的肿瘤生长。将两百万个肿瘤细胞导入20只nu/nu小鼠的侧腹，观察小鼠的肿瘤形成。每周两次由卡尺测量肿瘤。携带MUC16+肿瘤的小鼠的平均肿瘤体积的差异显著更大。3T3MUC16^{c114}和3T3MUC16^{c86}转染子与MUC16^{c80}转染子相比有显著差异(###p<0.0001)。

[0173] 图6A-图6B。MUC16^{c114}(氨基酸残基1777-1890(SEQ ID NO:133)，图6A)和MUC16^{c344}(氨基酸残基1547-1890(SEQ ID NO:132)，图6B)的氨基酸序列。N-和O-糖基化位点高亮显示，跨膜域(氨基酸残基1835-1859)带有下划线并标明“跨膜域”。氨基酸残基1857-1884表

示MUC16^{c86}构建体中存在的28个氨基酸的内域缺失(参见,图1)。氨基酸残基1798-1831表示MUC16^{c80}构建体中存在的34个氨基酸的胞外域缺失(参见,图1)。

[0174] 图7A-图7H。N-糖基化对MUC16转化的影响。图7A描述了转染phrGFP对照载体或MUC16^{c114}或MUC16$^{c114\text{-}N123}$和MUC16^{c114}并用0.1μg/mL衣霉素处理的3T3细胞系的基质胶侵袭分析。MUC16^{c114}细胞系的结果与phrGFP载体对照细胞系的结果显著不同(###p<0.0001)。MUC16$^{c114\text{-}N123}$细胞系的结果与phrGFP载体对照细胞系的结果显著不同(**p=0.007)。用N-糖基化抑制剂衣霉素处理与未处理的MUC16^{c114}相比显著抑制基质胶侵袭(p=0.004)。图7B描述了与phrGFP对照载体相比的的3T3转染的细胞系基质胶侵袭分析。用MUC16^{c114}转染的3T3细胞使用单独的培养基处理或用5μg/mL的对照pFUSE hIgG1-Fc2融合蛋白或用5μg/mL的MUC16$^{c57\text{-}c114}$-pFUSE hIgG1-Fc2融合蛋白或用5μg/mL的$^{117\text{-}244}$LGALS3-pFUSE hIgG1-Fc2融合蛋白处理,如图8详述。MUC16^{c114}细胞系比表达phrGFP载体对照的对照3T3细胞的侵袭性更强(***p<0.0001),且其不受暴露于仅pFUSE载体蛋白的影响。相反,用MUC16$^{c57\text{-}c114}$-pFUSE hIgG1-Fc2融合蛋白或$^{117\text{-}244}$LGALS3-pFUSE hIgG1-Fc2融合蛋白处理的MUC16^{c114}细胞系与MUC16^{c114}对照细胞相比显示了显著的基质胶侵袭抑制。图7C描述了MUC16表达对ERK/AKT信号传导的影响。还检测了转染的3T3细胞对ERK/AKT信号通路的激活。用MUC16^{c114}转染的3T3中ERK1/2(pT202/Y204)和AKT(S473)的磷酸化增强,然而,在用MUC16$^{c114\text{-}N123}$载体转染的3T3细胞中该作用消失("MUC16$^{c114\text{-}N123}$"和"MUC16$^{3(N\text{-}\text{-}>A)c114}$"在本文中可交换使用)。虽然将3个天冬酰胺突变为丙氨酸突变,用抗MUC16抗体(4H11mAb)进行western印迹显示了比phrGFP载体对照或原始MUC16^{c114}-转染细胞更强的信号,表明转染的3T3细胞中表达高水平的MUC16$^{3(N\text{-}\text{-}>A)c114}$蛋白。如本文使用的,"4H11"表示Rao等,Appl.Immunohistochem Mol Morphol,2010,18(5):462-72和国际专利申请公开号WO 2011/119979中的4H11单克隆抗MUC16抗体。图7D描述了无胸腺裸鼠中MUC16-构建体-阳性的肿瘤生长。将两百万个肿瘤细胞导入20只nu/nu小鼠侧腹并观察小鼠的肿瘤形成。每种两次用卡尺测量肿瘤。携带MUC16^{c114}肿瘤的小鼠的平均肿瘤体积差异显著(p<0.0001)。3T3-MUC16^{c114}转染子的结果与phrGFP对照载体细胞系的结果相比而言高度显著(***p<0.0001)。然而,MUC16$^{c114\text{-}N123}$ 3T3转染子未显示相对phrGFP载体对照3T3细胞的任何显著性,显示N-糖基化的突变显著降低肿瘤生长和侵袭。图7E描述了MUC16$^{c57\text{-}114}$-pFUSE-人-IgG1-Fc2构建体的线性表示。胞外域的氨基酸序列如SEQ ID NO:161所示。图7F描述了由指示的抗体测定的蛋白水平的MUC16$^{c57\text{-}114}$-pFUSE-人-IgG1-Fc2构建体。图7G描述了$^{117\text{-}244}$LGALS3-pFUSE-人-IgG1-Fc2构建体的线性表示。糖结合域的氨基酸序列如SEQ ID NO:167所示。图7H描述了由指示的抗体测定的蛋白水平的$^{17\text{-}244}$LGALS3-pFUSE-人-IgG1-Fc2构建体。

[0175] 图8.插入pFUSE-hIgG1-Fc2载体以构建作为假(sham)受体的MUC16$^{c57\text{-}c114}$pFUSE的胞外域-MUC16$^{c57\text{-}>c114}$(SEQ ID NO:161,MUC16氨基酸残基1777-1834)的氨基酸序列和插入pFUSE-hIgG1-Fc2获得作为受体的$^{117\text{-}244}$LGALS3pFUSE载体的$^{117\text{-}244}$LGALS3氨基酸序列(SEQ ID NO:167)的顺序。

[0176] 图9A-图9E.MUC16^{c354}转基因小鼠。图9A描述了MUC16c354条件构建的策略。使用CMV早期增强子加上鸡β肌动蛋白启动子(CAG)来驱动两个loxP和下游MUC16^{c354}序列之间的hrGFP的转录。图9B:Southern印迹显示在显微注射程序后99只动物中有12名候选的MUC16^{c354}阳性建立者(founder)。图9C:使用抗MUC16抗体4H11的Western印迹来鉴定

MUC16^{c354}小鼠集落发育的建立者9(~50拷贝)和36(~10拷贝);A5是来自稳定转染MUC16^{c354}的SKOV3的阳性对照。图9D:来自双MUC16^{c354}:p53+/-转基因小鼠的肿瘤的组织学分析。在双MUC16^{c354}:p53+/-转基因小鼠中鉴定了多个肉瘤和淋巴瘤。切片用苏木精和伊红(H&E)染色。肿瘤包括子宫(I,比例尺:100μm)、肝脏(II,比例尺:50μm)、卵巢(III,比例尺:50μm)和骨髓(IV,比例尺:50μm)中的组织细胞肉瘤以及卵巢(V,比例尺:50μm)、肾脏(VI,比例尺:50μm)和肺(VII,比例尺:50μm)中的淋巴瘤与肺癌(VIII,比例尺:50μm)。图9E:转基因小鼠癌特异性Kaplan-Meier存活曲线:MUC16^{c354}小鼠在前18个月没有显示出与野生型(WT)类似的自发性肿瘤发展。然而,当MUC16^{c354}小鼠与p53+/-小鼠交叉时,与p53+/-小鼠($p<0.014$)或MUC16c354小鼠相比,双重转基因MUC16c354:p53+/-小鼠由于自发性肿瘤发展而显示出显著更差的总生存期。

[0177] 图10。12个月大的雄性和雌性MUC16^{c354}转基因小鼠的代表性组织学结果。组织切片用苏木精和伊红染色(H&E,比例尺:50μm)。观察到子宫内膜增生,两种基因型具有相似的发病率和严重程度(此处仅显示于转基因动物中)。转基因动物的卵巢、肺、结肠和肝脏(Tg)与亲本系(野生型,WT)相似。

[0178] 图11A-图11C。MUC16对人卵巢癌的影响。图11A描述了MUC16转录本数。图11B:与Kaplan-Meier分析中与MUC16表达较低的患者相比,具有最高MUC16表达的患者的五分之一与18例确定的MUC16突变的患者具有显著更差($p=0.02117$)的生存期。图11C描述了MUC16遗传改变与卵巢癌中PI3K突变事件的关系。

[0179] 图12A-图12C。MUC16基质胶侵袭的糖基化需求。图12A描述了SKOV3转染的细胞系的基质胶侵袭分析。phrGFP表示表达对照载体的SKOV3细胞。MUC16^{c114}表示表达MUC16^{c114}的SKOV3细胞。N3表示表达MUC16$^{c114\text{-}N3}$的SKOV3细胞。N1-2表示表达MUC16$^{c114\text{-}N12}$的SKOV3细胞。N1-2-3表示表达MUC16$^{c114\text{-}N123}$的SKOV3细胞。MUC16^{c114}-shControl表示表达MUC16^{c114}和对照shRNA的SKOV-3细胞。phrGFP shRNA MGAT群#4表示表达对照载体和针对MGAT5的shRNA的SKOV3细胞。phrGFP shRNA LGALS3群#15表示表达对照载体和针对LGALS3的shRNA的SKOV3细胞。MUC16^{c114}-shMGAT5表示表达MUC16^{c114}和针对MGAT5的shRNA的SKOV3细胞。MUC16^{c114}-shLGALS3表示表达MUC16^{c114}和针对LGALS3的shRNA的SKOV3细胞。图12B描述了表达对照载体、phrGFP或指示的MUC16^{c114}构建体的3T3细胞的基质胶侵袭分析。图12C描述了移植有表达指示的构建体的SKOV3细胞的无胸腺裸鼠中按照肿瘤体积测定的肿瘤生长。

[0180] 图13A-图13D。MUC16糖基化模式和肽。图13A描述了表达MUC16$^{c114\text{-}N12}$的SKOV3细胞的N连接的谱。三角形表示岩藻糖。方块代表N-乙酰氨基葡萄糖。灰色圆圈表示甘露糖。白色圆圈表示半乳糖。菱形表示N-乙酰基甲酰胺酸。图13B描述了55-mer(SEQ ID NO:129)的抗原。图13C描述了15-mer(SEQ ID NO:131)的抗原。图13D描述了18-mer(SEQ ID NO:130)的抗原。

[0181] 图14提供了包含用糖基化和未糖基化抗原的MUC16糖基化抗体的生物反应性上清液的相对反应性的详细ELISA分析,其中使用15mer和18mer作为免疫原和筛选抗原靶标。

[0182] 图15A-图15B。MUC16糖基化抗体抑制基质胶侵袭。图15A描述了在存在或不存在来自产生MUC16糖基化抗体的生物反应性上清液下表达phrGFP对照载体或MUC16^{c114}的SKOV3细胞的基质胶侵袭。该细胞系是相对数200的参照系。图15B描述了在存在或不存在纯化的MUC16糖基化抗体下表达phrGFP对照载体或MUC16^{c114}的SKOV3细胞的基质胶侵袭。该细胞系

是相对数90的参照系。

[0183] 图16A-图16E。MUC16糖基化抗体抑制基质胶侵袭。图16A描述了表达phrGFP对照载体或指示的$MUC16^{c114}$构建体的SKOV3细胞的基质胶侵袭，其中存在：(i)对照抗体，(ii)4H11或(iii)MUC16糖基化抗体克隆10C6.E4。图16B描述了使用4H11进行第三轮FACs分选后稳定表达phrGFP对照载体或指示的$MUC16^{c344}$构建体的SKOV3细胞的基质胶侵袭，其中存在：(i)对照抗体，(ii)4H11或(iii)MUC16糖基化抗体克隆10C6.E4。图16C描述了表达phrGFP对照载体或指示的$MUC16^{c114}$构建体的3T3细胞的基质胶侵袭，其中存在：(i)对照抗体，(ii)4H11或(iii)MUC16糖基化抗体克隆10C6.E4。图16D描述了移植有表达$MUC16^{c344}$和用模拟物($MUC16^{c344}$)处理的或用MUC16糖基化抗体10C6.E4($MUC16^{c344}$+10C6.E4)处理的SKOV3细胞的无胸腺裸鼠中如肿瘤体积所示的肿瘤生长。箭头指示给药100μg的MUC16糖基化抗体的天数。图16E描述了用指示的抗体染色的人卵巢肿瘤样品。

[0184] 图17描述了在指示的温度和时间点下内化标记的MUC16糖基化抗体的细胞的百分比。

[0185] 图18A描述了MUC16转染子的体外生长曲线。在96孔平底板中用phrGFP载体对照、表达$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)的phrGFP载体或表达$MUC16^{c344}$(SEQ ID NO:132)的phrGFP载体培养1000SKOV3细胞/孔，并在37℃下5％CO_2中孵育5天。每天用Alamar Blue染色一块板，并在37℃下5％CO_2中孵育4小时。在CytoFluor Fluorescent读板器中读板。曲线中未发现统计差异。图18B描述了SKOV3 phrGFP细胞、SKOV3$MUC16^{c114}$-GFP细胞或SKOV3-$MUC16^{c344}$-GFP细胞的基质胶侵袭分析。每次测定采用三个平行进行两次或多次，并人工计数。结果表达为侵袭细胞的相对数。c114和c344与phrGFP相比统计学上显著。图18C描述了无胸腺雌性裸鼠中SKOV3转染子的肿瘤生长。将两百万个肿瘤细胞引入10只nu/nu小鼠侧腹并观察小鼠的肿瘤形成。每周两次用卡尺测量肿瘤。与phrGFP肿瘤相比，携带$MUC16^{c344}$肿瘤($p<0.0001$)和$MUC16^{c114}$肿瘤($p=0.002$)的小鼠的平均肿瘤体积差异在统计学上显著较大。图18A-FIG.18C的缩写："SKOV3 phrGFP"和"phrGFP"表示表达对照phrGFP载体的SKOV3细胞，"SKOV3$MUC16^{c114}$-GFP"和"c114"表示表达$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)的SKOV3细胞，"SKOV3$MUC16^{c344}$-GFP"和"c344"表示表达$MUC16^{c344}$(SEQ ID NO:132)的SKOV3细胞。

[0186] 图19A-图19F描述了MUC16表达对SKOV3卵巢癌细胞的影响。图19A描绘了用或不用以下处理的表达对照phrGFP对照载体("phrGFP")或表达$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133；"c114")的phrGFP载体的SKOV3细胞的基质胶侵袭分析：(1)5μg/mL衣霉素；(2)5μg/mL的对照pFUSE蛋白；(3)5μg/mL的$MUC16^{c57-114}$-pFUSE融合蛋白；或(4)5μg/mL的$^{117-244}$LGALS3-pFUSE融合蛋白。结果表达为治疗后48小时的侵袭细胞数。c114细胞比phrGFP细胞侵袭性更强($p<0.0001$)。c114细胞的侵袭性不受使用仅pFUSE载体蛋白处理的影响。用衣霉素(N-糖基化抑制剂)处理降低了c114细胞的侵袭性。用$MUC16^{c57-114}$-pFUSE融合蛋白或$^{117-244}$LGALS3-pFUSE处理降低了c114细胞的侵袭性($p<0.0001$)。图19B描绘了在存在或不存在薄层(lamelli)对照shRNA、MGAT5特异性shRNA或LGALS3特异性shRNA的情况下用phrGFP载体对照("phrGFP")或表达$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)("c114")的phrGFP载体转染的SKOV3细胞的基质胶侵袭分析。与用shRNA处理的phrGFP细胞相比，用MGAT5特异性shRNA或LGALS3特异性shRNA处理的c114细胞侵袭减少。对照shRNA对c114细胞侵袭无影响。每次测定采用三个平行进行两次或多次，并人工计数。图19C描述了SKOV3-$MUC16^{c114}$基质胶侵袭的糖基化依赖性。用phrGFP

对照载体或表达以下MUC16突变体的phrGFP载体转染SKOV3细胞:c114(SEQ ID NO:133),N1mut c114(SEQ ID NO:151),N24MUC c114(SEQ ID NO:152),N30mut c114(SEQ ID NO:139),N1-N24mut c114(SEQ ID NO:153),N1-N24-N30mut c114(SEQ ID NO:154)。与对照phrGFP细胞相比,表达c114的细胞显示增加的侵袭。表达c114的细胞的增加的侵袭性依赖于$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)的氨基酸位点24和30处天冬酰胺的N-糖基化。虽然N24和N30都是重要的,但对该作用而言N30位点似乎比N24位点更为重要。每次测定采用三个平行进行两次或多次,并人工计数。结果表示为与phrGFP载体对照相比的%。图19D描述了SKOV3-$MUC16^{c344}$基质胶侵袭的糖基化依赖性。用phrGFP对照载体或表达以下MUC16突变体的phrGFP载体转染SKOV3细胞:c344(SEQ ID NO:132),N24 mut c344(SEQ ID NO:173),N30mut c344(SEQ ID NO:174)或N24-N30 mut c344(SEQ ID NO:175)。与对照的phrGFP细胞相比,表达c344的细胞显示增加的侵袭。表达c344的细胞的增加的侵袭性依赖于对应于$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)的氨基酸位点24和30的天冬酰胺的N-糖基化。每次测定采用三个平行进行两次或多次,并人工计数。图19E描述了MUC16表达对所选信号通路的影响。用或不用对照shRNA(“sh薄层”)或针对MGAT5(“shMGAT5”)或LGALS3(“shLGALLS3”)的shRNA处理$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)转染的SKOV3细胞,并与转染phrGFP载体对照(“phrGFP”)或表达$MUC16^{c114\text{-}N30mut}$(SEQ ID NO:139)(“N30mut”)的phrGFP载体的SKOV3细胞进行对比,并检测细胞的pAKT,pERK1/2,pSRC和pEGF受体(pEGFR)信号通路的活化。$MUC16^{c114}$细胞中AKT(S473)和ERK1/2(pT202/Y204)的磷酸化增加。敲低MGAT5(shMGAT5),敲低半乳糖凝集素-3(shLGALLS3)和N30A突变均降低了$MUC16^{c114}$诱导的SKOV3细胞系中的癌基因激活。图19F描绘了无胸腺雌性裸鼠中的SKOV3转染肿瘤生长。对于每种情况,将200万个肿瘤(如下所述)细胞引入10只nu/nu小鼠的侧翼,观察小鼠肿瘤形成。每周两次用卡尺测量肿瘤。与phrGFP肿瘤细胞相比,c114肿瘤细胞的体内生长更具侵略性($p<0.0001$)。与phrGFP诱导细胞相比,N1-N24-N30-mut c114,c114-sh-MGAT5和c114-sh-LGALS3肿瘤细胞不显示生长增强。肿瘤细胞的描述:“phrGFP”表示用phrGFP载体对照转染的SKOV3细胞,“c114”表示用表达$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)的phrGFP载体转染的SKOV3细胞,“N1-N24-N30-mut c114”表示用表达$MUC16^{c114\text{-}N1\text{-}N24\text{-}N30\text{-}mut}$(SEQ ID NO:154)的phrGFP载体转染的SKOV3细胞,“c114-sh-MGAT5”表示用表达$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)的phrGFP载体转染并用针对MGAT5的shRNA处理的SKOV3细胞,“c114-sh-LGALS3”表示用表达$MUC16^{c114}$(SEQ ID NO:133)的phrGFP载体转染并用针对LGALS3的shRNA处理的SKOV3细胞。

[0187] 图20A描述了MUC16表达对EGFR表面表达的影响。在存在或不存在放线菌酮(CHX)处理下24小时检测SKOV3-phrGFP和SKOV3-$MUC16^{c114}$转染子。显示了基底和CHX处理后水平下EGFR和MUC16表达的几何平均荧光。SKOV3-phrGFP样品中的EGFR在用CHX处理24小时后降低至未处理水平的58%。在这些细胞中没有显著的MUC16表达。相比之下,在SKOV3-$MUC16^{c114}$细胞中,EGFR几何平均荧光增加约25%、降低至CHX暴露后对照的83%。$MUC16^{c114}$平均荧光没有被CHX显著降低。图20B描绘了来自总细胞EGFR的Western印迹的EGFR/β-肌动蛋白比例的光密度测定,说明在用CHX处理的SKOV3-phrGFP细胞中EGFR随时间变化的稳定损失。相比之下,SKOV3-$MUC16^{c114}$细胞中EGFR的总水平得以保持,显示与MUC16(-)对照细胞系(“phrGFP(-)”)相比EGFR更稳定。图20C描述了用phrGFP对照载体(“稳定phrGFP”)转染的SKOV3细胞、SKOV3-$MUC16^{c114}$和SKOV3-$MUC16^{c114(tet)}$四环素诱导型细胞系的基质胶侵袭分

析，其表达为对照细胞侵袭的分数。SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$细胞的四环素诱导导致与稳定的SKOV3-MUC16^{c114}(SKOV3^{c114})相似的侵袭性表型，而未诱导的细胞与MUC16-phrGFP对照细胞匹配。这种MUC16诱导的基质胶侵袭的增加完全依赖于EGFR。当在SKOV3细胞中引入EGFR(shEGFR)发夹RNA敲低时，四环素诱导MUC16(蛋白质印迹中的4H11阳性蛋白)的表达，但不增加基质胶侵袭。每个测定进行三个平行，并手工计数。图20D:MUC16^{c114}(+)和MUC16^{c114}(-)细胞细胞中的EGFR稳定性。用CHX处理24小时并探测总细胞EGFR的未诱导或四环素诱导的SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$细胞系的细胞提取物表示为光密度比，并用β-肌动蛋白标准化。四环素诱导的SKOV3-MUC16^{c114}细胞的EGFR下降斜率与MUC16^{c114}(-)相比，复制了MUC16^{c114}表达的EGFR稳定作用。其结果类似于上述图20B所示的稳定转染的效果。

[0188] 图21描述了用放线菌酮处理24小时的未诱导或四环素诱导的SKOV3^{c114}细胞系(分别为“未诱导的MUC16^{c114}”和“Tet诱导的MUC16^{c114}”)的细胞提取物的印迹分析的光密度测定。对蛋白质印迹探测了pEGFR，并将蛋白质水平标准化为β-肌动蛋白水平。与未诱导的SKOV3^{c114}细胞系相比，四环素诱导的SKOV3^{c114}pEGFR信号的斜率显示出稳定的pEGFR。

[0189] 图22A-图22C描述了MUC16胞外域N-糖基化种类的鉴定和化学合成。图22A:用表达N1-N24突变的MUC16^{c114}(SEQ ID NO:SEQ ID NO:153)的phrGFP转染的SKOV3细胞的N-聚糖谱图。在佐治亚大学复合碳水化合物研究中心(Complex Carbohydrate Research Center, University of Georgia)，通过总离子作图检测和鉴定了聚糖。三角形:岩藻糖;方块:N-乙酰葡萄糖胺;圆圈，深色填充:甘露糖;圆圈，浅色填充:半乳糖;菱形:N-乙酰神经氨酸。图22B描述了在N30位点具有单壳二糖($GlcNAc_2$)聚糖的55-merMUC16抗原的示意结构。该N-糖肽抗原用于免疫小鼠以产生抗体。氨基酸序列如SEQ ID NO:129所示。方块代表N-乙酰葡糖胺;圆圈表示甘露糖。图22C分别描绘了在N30位点用壳二糖单糖基化的KLH-缀合的15-merMUC16抗原和在N24和N30位点用两个壳二糖单元双糖基化的KLH-缀合的18-merMUC16抗原的示意结构。随后将这些N-糖肽-KLH构建体用于免疫小鼠以产生针对MUC16胞外域内的$GlcNAc_2$-肽表位的单克隆抗体。还包括了MUC16无关糖肽和非糖基化的MUC16肽2以得到4H11单克隆抗体的序列。KLH-15-mer(壳二糖)[C-G25-V38]的氨基酸序列如SEQ ID NO:131所示。KLH-18-mer(壳二糖)$_2$[C-T22-V38]的氨基酸序列如SEQ ID NO:130所示。MUC16非糖基化肽2的氨基酸序列如SEQ ID NO:168所示。MUC16无关肽18mer和MUC16无关肽18mer+GlcNAc2的氨基酸序列如SEQ ID NO:169所示。方块表示N-乙酰葡糖胺。

[0190] 图23A-图23H描述了MUC16糖基化抗体的表征。图23A描绘了4H11和四种先导$GlcNAc_2$-MUC16-胞外域单体抗体(MUC16糖基化抗体)通过夹心ELISA对各种MUC16和$GlcNAc^2$-糖基化肽的反应性。对非糖基化的MUC16肽2(SEQ ID NO:168)或任何一种无关肽(SEQ ID NO:169)没有观察到聚糖-MUC16胞外域交叉反应性。类似地，4H11对MUC16 15-mer(SEQ ID NO:131)或$(GlcNAc_2)_2$-18-mer(SEQ ID NO:130)N-糖肽基本上没有亲和力。方块代表N-乙酰谷氨酰胺;三角形表示岩藻糖;圆圈表示甘露糖。图23B、23C、23D描述了MUC16糖基化抗体对MUC16增强的基质胶侵袭的影响。结果表示为与对照相比的%。用表达MUC16^{c114}(SEQ ID NO:133)的phrGFP转染的SKOV3细胞(图23B)，CAOV3细胞(图23C)和OVCA-433细胞(图23D)的基质胶分析，含有或不含(对照)纯化的4H11或5μg/mL的四聚糖-MUC16-胞外域抗体18C6、10C6、19C22或7B12。四种抗聚糖-MUC16-胞外域抗体(MUC16糖基化抗体)中的每一种都抑制三种不同的MUC16(+)卵巢癌细胞系(CAOV3和OVCA-433)的侵袭，而4H11对SKOV3-

MUC16^{c114}细胞侵袭的抑制作用较小。图23E描述了通过MUC16糖基化抗体单克隆抗体(“MAB”)10C6抑制EGFR稳定。来自未诱导的SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$、四环素诱导的SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$或单克隆MUC16糖基化抗体10C6处理的四环素诱导的SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$细胞系的细胞提取物的western印迹分析的光密度测定,对所述细胞系用CHX处理,然后在用环己酮处理后的指定时间(小时)检测总EGFR。如图20A所示,光密度曲线的斜率表明MUC16^{c114}在细胞表面的存在稳定了EGFR。MUC16糖基化抗体10C6消除了总EGFR蛋白的MUC16^{c114}稳定,使其类似于MUC16(-)未诱导的对照。图23F描绘了用4H11、OC125(商业化的)或单克隆MUC16糖基化抗体(10C6和19C11)染色的人卵巢组织微阵列。MUC16在浆液性卵巢癌中的表达是一致的,与OC125和4H11重叠。图23G、23H描述了MUC16糖基化抗体对无胸腺雌性裸鼠肿瘤生长的影响。将二百万个肿瘤细胞(用phrGFP载体(“phrGFP”)或表达MUC16^{c344}(SEQ ID NO:132;“c344”)的phrGFP载体转染的SKOV3细胞)导入20只nu/nu小鼠的侧腹。用纯化的单克隆MUC16糖基化抗体10C6以100μg/小鼠自第0天起静脉内处理10只小鼠,每周两次,持续4周。观察所有小鼠的肿瘤形成。每周两次用卡尺测量肿瘤。图23G显示了在存在和不存在10μg/mL纯化的单克隆MUC16糖基化抗体10C6下对相同细胞进行的基质胶侵袭分析。图23H显示,与未处理的MUC16^{c344}肿瘤相比,单克隆MUC16糖基化抗体10C6处理的携带MUC16^{c344}肿瘤的小鼠的平均肿瘤体积差异显著降低(p=0.0004),表明保护免受MUC16对肿瘤生长的影响。

[0191] 图24A-FIG.24D描述了半乳糖凝集素介导的MUC16蛋白-蛋白相互作用。图24A描述了三种糖基化的蛋白(EGFR DDK-His,MUC16$^{c57-114}$-pFUSE和LGALS3Myc-DDK)的免疫印迹(IB)和免疫沉淀(IP)。将MUC16$^{c57-114}$-pFUSE糖基化的蛋白混合LGALS3蛋白(0.13μg)和EGFR(0.13μg),然后在4℃下旋转1小时。加入预封闭的蛋白A/G PLUS琼脂糖珠,然后在4℃下旋转过夜。对IP小球进行冲洗,在上载缓冲液中煮沸并通过10%SDS-PAGE凝胶电泳进行分离,然后转移至硝酸纤维膜上。用抗EGFR-v3、抗4H11-HRP或多克隆抗LGALS3抗体对膜进行检测。如图所示,4H11结合显示MUC16$^{c57-114}$-pFUSE一直存在。LGALS3结合在MUC16$^{c57-114}$-pFUSE阳性泳道中,但是EGFR仅在LGALS3和MUC16$^{c57-114}$-pFUSE均存在时检测到。单克隆MUC16糖基化抗体18C6的存在防止了这些LGALS3,EGFR和MUC16蛋白复合体的形成(右侧泳道)。图24B描述了MUC16和EGFR蛋白共定位。野生型OVCAR3细胞或用表达MUC16^{c344}(SEQ ID NO:132,“SKOV3^{c344}”)的phrGFP或用表达MUC16^{c114}(SEQ ID NO:133,“SKOV3^{c114}”)的phrGFP转染的SKOV3细胞的免疫荧光染色,EGFR-A647和4H11-PE用于MUC16或两种试剂EGFR-A647和4H11-PE组合用于MUC16。显微图像(50μm比例尺)表明所有三种细胞系中EGFR和MUC16^{c114}的共定位(参见箭头)。图24C描述了三种糖基化的蛋白(整联蛋白β1Myc-DDK,MUC16$^{c57-114}$-pFUSE和LGALS3Myc-DDK)的免疫印迹(IB)和免疫沉淀(IP)。使用与图24A中大致相同的方法。免疫印迹的Western印迹分析和所有免疫沉淀的样品在10%SDS-PAGE凝胶上运行,转移至硝酸纤维膜上并用抗4C5-DDK检测整联蛋白β1或用抗4H11-HRP或抗4C5-DDK检测LGALS3抗体。对于EGFR,需要所有三种蛋白来共沉淀整联蛋白β1蛋白。MUC16糖基化抗体18C6也阻断MUC16、LGALS3和整联蛋白β1的组合,如三条右侧的泳道所示。图24D描述了MUC16和整联蛋白β1蛋白的共定位。野生型OVCAR3细胞或用表达MUC16^{c344}(SEQ ID NO:132,“SKOV3^{c344}”)的phrGFP或用表达MUC16^{c114}(SEQ ID NO:133,“SKOV3^{c114}”)的phrGFP转染的SKOV3细胞的免疫荧光染色,整联蛋白β1-A647或4H11-PE用于MUC16或两种试剂整联蛋白β1-A647或4H11-PE的组合用于MUC16。显微图像(50μm比例尺)表明OVCAR3,SKOV3^{c344}和SKOV3^{c114}细胞中整联蛋白β1和

MUC16的共定位(参见箭头)。

[0192] 图25A描述了野生型OVCAR3细胞或用表达MUC16^{c344}(SEQ ID NO:132,“SKOV3^{c344}”)的phrGFP或表达MUC16^{c114}(SEQ ID NO:133,“SKOV3^{c114}”)的phrGFP转染的SKOV3细胞或SKOV3^{c344}或SKOV3^{c114}细胞系的免疫荧光染色,EGFR-A647或4H11-PE或两种试剂的组合用于MUC16。显微图像(比例尺100μm)清晰表明了EGFR和MUC16的共定位(参见箭头)。图25B:野生型OVCAR3或SKOV3^{c344}或具有整联蛋白β1-A647或4H11-PE用于MUC16的细胞系或两种试剂的组合的免疫荧光染色。显微图像(比例尺100μm)清晰表明了整联蛋白β1和MUC16的共定位(参见箭头)。

[0193] 图26A-图26D描述了MUC16肿瘤促进的模型。图26A描述了EGFR-LGALS3-MUC16和LGALS3-整联蛋白β1-MUC16的关系图。通过EGFR的SRC/ERK/AKT信号传导或通过整联蛋白β1的SRC/FAK信号传导依赖于MUC16和与LGALS3五聚体的信号-分子相互作用。图26B描述了糖基化缺失的模型:在shMGAT5-转染的细胞系中,MUC16,EGFR和整联蛋白β1上的位点的N-糖基化由于四触角(tetra-antennary)结构的缺失而降低,导致不结合LGALS3。图26C描述了半乳糖凝集素-3缺失的模型:在shLGALS3转染的细胞系中,虽然MUC16上存在N-糖基化位点,但是与LGALS3结合的缺失导致不能MUC16/EGFR或MUC16/整联蛋白β1关联,并减少了由内向外的信号。图26D描述了MUC16/LGALS3相互作用的潜在抑制剂的模型。暴露于MUC16糖基化抗体或“假的”模拟受体(抗MUC16$^{c57-114}$pFUSE或$^{117-244}$LGALS3-pFUSE)的MUC16(+)细胞不能结合LGALS3凝胶,并随之不能结合EGFR或整联蛋白β1。

[0194] 图27A描述了侧链保护的N-乙酰化的55-mer肽酰胺(SEQ ID NO:129)。图27B描述了糖肽p55-mer[N1-S55]来自UPLC分析的ESI-MS和UV示踪(trace)。计算值$C_{486}H_{760}N_{84}O_{111}S_8$,9812.25(平均同位素)$[M+5H]^{5+}$m/z 1963.45,测试值(found)1963.20,$[M+6H]^{6+}$m/z 1636.38,测试值1636.24,$[M+7H]^{7+}$m/z 1402.75,测试值1402.74。BEH C4柱,梯度:80-99%乙腈/水超过6分钟,流速0.3mL/min。

[0195] 图28A描述了携带壳二糖的55-mer糖肽:“55-mer(壳二糖)[N1-S55]”($GlcNAc_2$-55-mer)(SEQ ID NO:129)。图28B描述了糖肽“55mer(壳二糖)[N1-S55]”($GlcNAc_2$-55-mer)来自UPLC分析的ESI-MS和UV示踪。计算值$C_{291}H_{463}N_{87}O_{97}S$,6764.38(平均同位素)$[M+4H]^{4+}$m/z 1692.10,测试值1692.01,$[M+5H]^{5+}$m/z 1353.88,测试值1353.86,$[M+6H]^{6+}$m/z 1128.40,测试值1128.41,$[M+7H]^{7+}$m/z 967.34,测试值967.45,$[M+8H]^{8+}$m/z 846.55,测试值846.27。BEH C4柱,梯度:20-40%乙腈/水超过6分钟,流速0.3mL/min。

[0196] 图29A描述了携Man3GlcNAc2的55-mer糖肽:“55-mer($Man_3GlcNAc_2$)[N1-S55]”($Man_3GlcNAc_2$-55-mer)(SEQ ID NO:129)。图29B描述了糖肽“55mer($Man_3GlcNAc_2$)[N1-S55]”($Man_3GlcNAc_2$-55-mer)来自分析级HPLC分析的ESI-MS和UV示踪。计算值$C_{309}H_{493}N_{87}O_{112}S$,7250.80(平均同位素)$[M+4H]^{4+}$m/z 1813.70,测试值1813.52,$[M+5H]^{5+}$m/z1451.16,测试值1451.02,$[M+6H]^{6+}$m/z 1209.47,测试值1209.33,$[M+7H]^{7+}$m/z 1036.83,测试值1036.74。Waters X-Bridge C18柱,梯度:25-35%乙腈/水超过30分钟,流速0.2mL/min。

[0197] 图30A描述了侧链保护的15-mer肽(p15-mer[C-G25-V38])(SEQ ID NO:131)。图30B描述了壳二糖-单糖基化的15-mer糖肽:15-mer(壳二糖)[C-G25-V38]($GlcNAc_2$-15-mer)(SEQ ID NO:132)。图30C描述了糖肽“15mer(壳二糖)[C-G25-V38]”($GlcNAc_2$-15-mer)

来自分析级HPLC分析的的ESI-MS和UV示踪。计算值$C_{87}H_{142}N_{24}O_{35}S$,2116.26(平均同位素)[2M+3H]$^{3+}$m/z 1411.84,测试值1412.02,[M+2H]$^{2+}$m/z 1059.13,测试值1059.15,[M+3H]$^{3+}$m/z 706.42,测试值706.46。Varian Microsorb 300-5 C18柱,梯度:15-30%乙腈/水超过30分钟,流速0.2mL/min。

[0198] 图31A描述了侧链保护的18-mer肽(p18-mer[C-G22-V38])(AF-I-165)(SEQ ID NO:130)。图31B描述了壳二糖-双糖基化的18-mer糖肽:“18-mer(壳二糖)$_2$[C-T22-V38]”[(GlcNAc$_2$)$_2$-18-mer](SEQ ID NO:130)。图31C描述了来自糖肽“18mer(壳二糖)$_2$[C-T22-V38]”[(GlcNAc$_2$)$_2$-18-mer]的分析级HPLC分析的ESI-MS和UV示踪。计算值$C_{117}H_{193}N_{33}O_{50}S$,2894.04(平均同位素)[2M+3H]$^{3+}$m/z 1930.36,测试值1930.22,[M+2H]$^{2+}$m/z 1448.02,测试值1447.65,[M+3H]$^{3+}$m/z 965.68,测试值965.25。Varian Microsorb 300-5C8柱,梯度:15-30%乙腈/水over 30minute,流速0.2mL/min。

[0199] 图32A描述了糖肽“15-mer(壳二糖)[C-G25-V38]”,缀合至KLH(SEQ ID NO:131)。图32B描述了糖肽“18-mer(壳二糖)$_2$[C-T22-V38]”,缀合至KLH(SEQ ID NO:130)。

[0200] 5.发明详述

[0201] 本文提供了抗体及其抗原结合片段和包括该抗体或片段的多肽,例如融合蛋白,缀合物,和/或嵌合抗原受体,以及表达其的细胞。抗体和片段中是那些特异性结合MUC16蛋白表位的。该抗体在本文中称为“MUC16糖基化抗体”。该表位通常是位于表位MUC16分子胞外部分或基本位于其胞外部分之内的,通常为非脱落(shed)形式的MUC16,在一些实施方案中,表位不位于MUC16的串联重复区域和/或分泌形式的MUC16之内,或抗体或片段不结合MUC16的串联重复区域和/或分泌形式的MUC16。在一些实施方案中,表位位于MUC16c114之内或包括MUC16c114之内的残基,并典型的包括其中的一个或多个糖基化的残基或糖基化位点。在一些实施方案中,表位包括一个或多个糖基化位点,例如用于N-糖基化的位点。在一些方面,该表位包括对应如SEQ ID NO:150所示的MUC16序列(和/或其糖基化形式)的Asn1806或Asn1800的天冬酰胺残基;在一些方面,在一些方面,表位包括对应SEQ ID NO:150的Asn1806天冬酰胺残基,但不包括对应SEQ ID NO:150的Asn1800天冬酰胺残基,在一些方面,表位包括对应SEQ ID NO:150的Asn1800天冬酰胺残基,但不包括对应SEQ ID NO:150的Asn1806天冬酰胺残基。在一些该实施方案的任何一个,该一个或多个天冬酰胺是糖基化的,例如N-糖基化的。在一些实施方案中,抗体或片段结合SEQ ID NO:131之内的表位或包括SEQ ID NO:131之内的残基的表位,结合SEQ ID NO:130之内的表位或包括SEQ ID NO:130之内的残基的表位,或其组合,在一些实施方案中,抗体或片段不免疫特异性结合对应SEQ ID NO:168的MUC16区域内或SEQ ID NO:168的残基2-19内。

[0202] 在一个方面,本文提供了抗体(例如,单克隆抗体)和其抗原结合片段,其(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139和(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。在另一方面,本文提供了抗体(例如,单克隆抗体)和其抗原结合片段,其(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,且其中第三

形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139和(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。在一个优选实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体及其抗原结合片段免疫特异性结合包含SEQ ID NO:150的氨基酸残基1806(Asn1806)的表位,其中Asn1806是N-糖基化的(本文中称为"Asn1806糖基化")。如本文第6节的实施例所示,Asn1806糖基化对于MUC16介导的侵袭和肿瘤细胞生长是必须的。从而,本文描述的MUC16糖基化抗体及其抗原结合片段能够结合封闭该侵袭和肿瘤细胞生长。

[0203] 在一个实施方案中,MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段除了N-糖基化的Asn1806外还需要N-糖基化的Asn1800以结合MUC16(即,两种N-糖基化位点都是MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段所识别的表位的一部分)。"Asn1800"表示SEQ ID NO:150的氨基酸残基1800。该MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133和(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第五形式的MUC16的细胞,其第五形式是糖基化的,且其中第五形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:172,其中重组表达第一形式的MUC16的细胞与重组表达第五形式的MUC16的细胞是相同细胞类型。

[0204] 在一个实施方案中,MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段需要N-糖基化的Asn1806但不需要N-糖基化的Asn1800以结合MUC16(即,N-糖基化的Asn1806是MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段所识别表位的一部分,但N-糖基化的Asn1800不是MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段所识别表位的一部分)。该MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可通过下述进行鉴定:(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞,该第三形式是糖基化的,且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)其免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞的能力,其第四形式是糖基化的,且其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152和(iii)其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同细胞类型。

[0205] 由SEQ ID NO:133的氨基酸序列编码的蛋白在本文中也称为$MUC16^{c114}$,其由成熟MUC16的C端114个氨基酸残基(SEQ ID NO:150为成熟MUC16的序列)组成。$MUC16^{c114}$能够在SEQ ID NO:133的天冬酰胺氨基酸残基位点1,24和30被N-糖基化(对应于氨基酸位点SEQ ID NO:150的Asn1777,Asn1800和Asn1806)。

[0206] 由SEQ ID NO:139的氨基酸序列编码的蛋白在本文中也称为$MUC16^{c114\text{-}N3}$。$MUC16^{c114\text{-}N3}$由成熟MUC16的C端114个氨基酸残基(SEQ ID NO:150为成熟MUC16的序列)组成,除了氨基酸位点30的天冬酰胺(对应SEQ ID NO:150的氨基酸位点1806)被突变为丙氨酸。从而,$MUC16^{c114\text{-}N3}$不能在SEQ ID NO:139的氨基酸位点30被N-糖基化(对应氨基酸位点SEQ ID NO:150的Asn1806)。

[0207] 由SEQ ID NO:152的氨基酸序列编码的蛋白在本文中也称为$MUC16^{c114\text{-}N2}$。$MUC16^{c114\text{-}N2}$由成熟MUC16的C端114个氨基酸残基(SEQ ID NO:150为成熟MUC16的序列)组成,除了氨基酸位点24的天冬酰胺(对应氨基酸位点SEQ ID NO:150的Asn1800)被突变为丙氨酸。从而,$MUC16^{c114\text{-}N2}$不能在SEQ ID NO:152的氨基酸位点24被N-糖基化(对应氨基酸位点SEQ ID NO:150的Asn1800)。

[0208] 由SEQ ID NO:172的氨基酸序列编码的蛋白在本文中也称为$MUC16^{c114-N23}$。$MUC16^{c114-N23}$由成熟MUC16的C端114个氨基酸残基(SEQ ID NO:150为成熟MUC16的序列)组成,除了氨基酸位点24和30的天冬酰胺(对应于SEQ ID NO:150的氨基酸位点Asn1800和Asn1806)被突变为丙氨酸。从而,$MUC16^{c114-N23}$不能在SEQ ID NO:157的氨基酸位点24和30被N-糖基化(对应于SEQ ID NO:150的氨基酸位点Asn1800和Asn1806)。

[0209] 本文还提供了重链和轻链,其中包含所述重链和轻链的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段:(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭。本文还提供了包含核酸序列(例如,互补DNA(cDNA))的多核苷酸(例如,分离的多核苷酸),其编码该抗体及其抗原结合片段,重链或轻链。进一步的,本文提供了载体(例如,表达载体)和细胞(例如,分离的细胞或离体细胞)包含含有核酸序列(例如,互补DNA(cDNA))的多核苷酸(例如,分离的多核苷酸),所述核酸序列编码该抗体及其抗原结合片段,重链或轻链。本文还提供了制备该抗体,其抗原结合片段,重链,轻链,载体和细胞的方法。在其它方面,本文提供了用于MUC16活性和/或MUC16-驱动的肿瘤生长或治疗或管理某些本文描述的病况或疾病的方法和用途,例如治疗和管理癌症。还提供了相关组合物(例如,药物组合物),试剂盒和诊断方法。

[0210] 如本文使用的术语"MUC16"或"MUC16多肽"或"MUC16肽"表示Yin BW和Lloyd KO,2001,J Biol Chem.276(29):27371-5中所述的MUC16拴粘蛋白。GenBank™登录号NM_024690.2(SEQ ID NO:137)提供了示例性的人MUC16核酸序列。GenBank™登录号NP_078966.2(SEQ ID NO:136)提供了示例性的人MUC16氨基酸序列。原始MUC16包含胞内域,跨膜域,邻近推测的裂解位点的胞外域和大的、高度糖基化的12-20重复区,每区156个氨基酸长(图1A)。"不成熟的"MUC16指SEQ ID NO:136,其包含MUC16信号序列(SEQ ID NO:136的氨基酸残基1-60)。"成熟MUC16"表示如细胞表面上表达的原始MUC16,即,其中信号序列已被细胞加工所去除,例如,SEQ ID NO:150,其中SEQ ID NO:136的前60个氨基酸残基被去除(即,SEQ ID NO:136是"不成熟"形式的MUC16)。

[0211] 对于抗体命名,(i)18C6和18C6.D12可交换使用,(ii)10C6和10C6.E4可交换使用,(iii)19C11和19C11.H6可交换使用,(iv)7B12和7B12.B3可交换使用。抗体亚克隆(即,18C6.D12,10C6.E4,19C11.H6和7B12.B3)被用于第6节中描述的实验。

[0212] 5.1抗体

[0213] MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可以包括,例如,单克隆抗体、多克隆抗体、重组产生的抗体、特异性抗体、多特异性抗体(包括双特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、免疫球蛋白、合成抗体、包含两个重链和两个轻链分子的四聚体抗体、抗体轻链单体、抗体重链单体、抗体轻链二聚体、抗体重链二聚体、抗体轻链抗体重链对、体内抗体、单结构域抗体、单价抗体、单链抗体或单链可变片段(scFv)、骆驼化抗体、亲和体和二硫键连接的Fv(dsFv)或其片段。这样的抗体可以通过本领域已知的方法制备。

[0214] 多特异性抗体或其片段是指可以同时结合至少两个不同结构的靶的抗体或其片段,例如两个不同的抗原,相同抗原或半抗原和抗原或表位上的两个不同的表位。一种特异

性可以是例如B细胞、T细胞、骨髓样细胞、血浆样细胞或肥大细胞抗原或表位，例如CD3。另一特异性可以是相同或不同细胞类型上的不同抗原，例如MUC16。多特异性多价抗体是具有多于一个结合位点的构建体，并且结合位点具有不同的特异性，例如双特异性双抗体，其中一个结合位点与一个抗原反应，另一个与另一个抗原反应。

[0215] 双特异性抗体是可以同时结合两个具有不同结构的靶的抗体。双特异性抗体(bsAb)和双特异性抗体片段(bsFab)具有至少一个免疫特异性结合至第一靶标的臂，例如MUC16，以及至少一个其他免疫特异性结合第二靶标的其它臂，例如CD3。可以使用分子工程生产各种双特异性融合蛋白。在一种形式中，双特异性融合蛋白是二价的，由例如(i)具有一个抗原的单一结合位点的scFv和(ii)具有针对第二抗原的单个结合位点的抗体或Fab片段组成。在另一种形式中，双特异性融合蛋白是四价的，由例如具有两个针对一个抗原的结合位点和两个针对第二抗原的相同scFv的IgG组成。参见例如国际公开号WO 2011/1160119，其全部内容通过引用并入本文。

[0216] 最近用于产生双特异性单克隆抗体的方法包括使用工程重组单克隆抗体，其具有额外的半胱氨酸残基，使得它们比更常见的免疫球蛋白同种型交联更强。参见例如FitzGerald等人，Protein Eng.10(10):1221-1225,1997。另一种方法是设计连接具有所需双重特异性的两种或多种不同单链抗体或抗体片段区段(segment)的重组融合蛋白。参见例如Coloma等，Nature Biotech.15:159-163,1997。可以使用分子工程生产各种双特异性融合蛋白。

[0217] 连接两个或多个不同单链抗体或抗体片段的双特异性融合蛋白可以以相似的方式制备。重组方法可用于产生多种融合蛋白。在某些方面，柔性接头将scFv(例如靶向CD3的scFv)连接到单克隆抗体(例如，本文所述的MUC16糖基化抗体，参见5.1)的轻链恒定区。通过PCR反应将重链Fc与scFv的框内连接所需的合适的接头序列引入VL和Vκ域。然后将编码scFv的DNA片段连接到含有编码CHI结构域的DNA序列的分段(staging)载体中。将所得构建体切下并连接到含有编码抗体(例如，MUC16糖基化抗体)VH区的DNA序列的载体中。所得到的载体可用于转染合适的宿主细胞，例如用于表达双特异性融合蛋白的哺乳动物细胞。

[0218] 在某些实施方案中，本文所述的MUC16糖基化抗体(见第5.1节)及其片段也可用于制备也称为双抗体的功能性双特异性单链抗体(bscAb)，并且可以使用重组方法在哺乳动物细胞中产生。参见，例如，Mack等人，Proc.Natl.Acad.Sci.,92:7021-7025,1995，通过引用并入本文。例如，可以通过使用重组方法通过甘氨酸-丝氨酸接头连接两个单链Fv片段来产生bscAb。使用本领域已知的标准PCR方法分离两种感兴趣的抗体的VL和VH结构域。双特异性单链抗体和双特异性融合蛋白包括在本发明的范围内。

[0219] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段表示scFv。ScFv是本领域公认的术语。scFv包含免疫球蛋白重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)的融合蛋白，其中该融合蛋白保留与完整免疫球蛋白相同的抗原特异性。VH通过肽接头融合到VL。在某些实施方案中，肽接头为5-25、5-15、10-20、10-15或15-25个氨基酸残基长。在某些实施方案中，scFv肽接头显示适合作为本领域技术人员已知的肽接头的一个或多个特征。在某些实施方案中，scFv肽接头包含允许scFv肽接头可溶性的氨基酸，例如，例如，丝氨酸和苏氨酸。在某些实施方案中，scFv肽接头包含允许scFv肽接头柔性的氨基酸，例如，例如，甘氨酸。在某些实施方案中，scFv肽接头将VH的N端连接至的VL C端。在某些实施方案中，scFv

肽接头可以将VH的C端连接至VL的N端。

[0220] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段表示嵌合抗原受体(CAR)。CAR是本领域公认的术语。CAR可以靶向肿瘤相关抗原(例如，MUC16)。本文提供的CAR通常包含来源于MUC16糖基化抗体的scFv；跨膜域，其在一些实施方案中为T细胞共刺激分子来源的跨膜域(例如来源于CD28、CD8、CD38、OX-40或4-1BB的跨膜域)；和初级信号域，例如T细胞受体(TCR)ζ链胞质信号域。在一些实施方案中，CAR还包括一个或多个另外的区域或结构域，例如一个或多个间隔区(spacer)或接头，包括细胞外间隔区，例如来源于抗体或其它细胞表面分子的间隔区，例如包含一个或多个抗体CH2、CH3和/或铰链区的间隔区，或来源于CD28分子或CD8分子的间隔区或其它间隔区。本文还提供了细胞，例如工程化以表达该CAR的T细胞，例如重组表达该CAR的T细胞。表达CAR的T细胞在识别表达MUC16的肿瘤时，优选诱导这种肿瘤的细胞的T细胞活化、增殖和/或裂解。

[0221] MUC16糖基化抗体可以是任何类型(type)(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY)、任何类别(class)(例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1或IgA_2)或任何亚类(subclass)(例如，IgG_{2a}或IgG_{2b})的免疫球蛋白分子。在某些实施方案中，本文描述的抗体是IgG抗体或其一个类别或亚类。在某些实施方案中，本文描述的抗体是IgG_1抗体。在某些实施方案中，本文描述的抗体是IgG_2抗体。在某些实施方案中，本文描述的抗体是IgG_{2a}抗体。在某些实施方案中，本文描述的抗体是IgG_{2b}抗体。在某些实施方案中，本文描述的抗体是IgG_{2a}和IgG_{2b}抗体的混合物。在具体实施方案中，抗体是人源化形式的啮齿类单克隆抗体。

[0222] 在具体实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段所结合的抗原是一种形式的糖基化MUC16，例如，其中该形式的MUC16的氨基酸序列是SEQ ID NO:133。由SEQ ID NO:133的氨基酸序列编码的蛋白在本文中也称为$MUC16^{c114}$，其由成熟MUC16C末端114个氨基酸残基组成。$MUC16^{c114}$能够在SEQ ID NO:133的位点1、24和30的天冬酰胺氨基酸(对应于SEQ ID NO:150的氨基酸位点Asn1777，Asn1800和Asn1806)处N-糖基化。成熟MUC16(SEQ ID NO:150)表示全长MUC16，其中信号序列被去除且其中信号序列由SEQ ID NO:136的前60个氨基酸残基组成(即，SEQ ID NO:136是“不成熟的”形式的MUC16)。

[0223] MUC16糖基化抗体的抗原结合片段可以是Fab片段、$F(ab')_2$片段或MUC16糖基化抗体的一部分，其包含赋予MUC16糖基化抗体其抗原特异性的氨基酸残基(例如，互补决定区(CDR))。MUC16糖基化抗体可来自任何动物品种，例如啮齿类(例如，小鼠，大鼠或仓鼠)和人。

[0224] 如本文使用的，术语“可变区”或“可变域”可交换使用，并是本领域常规的。可变区通常表示抗体的一部分，一般为轻链或重链的一部分，通常是成熟重链氨基末端约110-120个氨基酸和成熟轻链氨基末端约90-100个氨基酸，其序列在不同抗体中显著不同，并被用于特定抗体针对其特定抗原的结合和特异性。序列中的变化在称为互补决定区(CDR)的那些区域内集中，可变区中更为高度保守的区域称为框架区(FR)。CDR的两侧是FR。一般，CDR和FR的N末端到C末端方向的空间定位如下：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。不希望受任何特定机理或理论的约束，我们相信轻链和重链CDR主要负责抗体与抗原的相互作用和特异性。在某些实施方案中，可变区是啮齿类(例如，小鼠或大鼠)可变区。在某些实施方案中，可变区是人可变区。在某些实施方案中，可变区包含啮齿类(例如，小鼠或大鼠)CDR和人框架区(FR)。在具体实施方案中，可变区是灵长类(例如，非人灵长类)可变区。在某些实施

方案中,可变区包含啮齿类或鼠类CDR和灵长类(例如,非人灵长类)框架区(FR)。

[0225] CDR在本领域以多种方式定义,包括Kabat、Chothia和IMGT和示例定义。Kabat定义基于序列可变性(Kabat,Elvin A.等,Sequences of Proteins of Immunological Interest.Bethesda:National Institutes of Health,1983)。对于Kabat编号系统,(i)VH CDR1通常位于重链氨基酸位点31-35,其可选的可包括氨基酸位点35之后一个或两个另外的氨基酸(在Kabat编号方案中指35A和35B),(ii)VH CDR2通常位于重链氨基酸位点50-65,(iii)VH CDR2通常位于重链氨基酸位点95-102(Kabat,Elvin A.等,Sequences of Proteins of Immunological Interest.Bethesda:National Institutes of Health,1983)。对于Kabat编号系统,(i)VL CDR1通常位于轻链氨基酸位点24-34,(ii)VL CDR2通常位于轻链氨基酸位点50-56,(iii)VL CDR3通常位于轻链氨基酸位点89-97(Kabat,Elvin A.等,Sequences of Proteins of Immunological Interest.Bethesda:National Institutes of Health,1983)。如本领域技术人员熟知的,使用Kabat编号系统,由于FR和/或CDR的缩短和延长,抗体可变区的实际线性氨基酸序列可以包含更少或额外的氨基酸,从而,氨基酸的Kabat编号不必与其线性氨基酸编号相同。

[0226] Chothia定义是基于结构性环区域的位置(Chothia等,(1987)J Mol Biol 196:901-917和美国专利号7,709,226)。术语“Chothia CDR”和相似术语是本领域认可的,表示根据Chothia和Lesk,1987,J.Mol.Biol.,196:901-917的方法确定的抗体CDR序列,其在本文中称为“Chothia CDR”(也参见,例如,美国专利号7,709,226和Kontermann和Dübel编写的Antibody Engineering,第31章,pp.422-439,Springer-Verlag,Berlin(2001)中的Martin,A.,“Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains”。对于Chothia编号系统,使用对VH区氨基酸残基进行编号的Kabat编号系统,(i)VH CDR1通常位于重链氨基酸位点26-32,(ii)VH CDR2通常位于重链氨基酸位点53-55,(iii)VH CDR3通常位于重链氨基酸位点96-101。在具体实施方案中,对于Chothia编号系统,使用对VH区氨基酸残基进行编号的Kabat编号系统,(i)VH CDR1通常位于重链氨基酸位点26-32或34,(ii)VH CDR2通常位于重链氨基酸位点52-56(在一个实施方案中,CDR2位于位点52A-56,其中52A在位点52后),(iii)VH CDR3通常位于重链氨基酸位点95-102(在一个实施方案中,位点编号96-100处没有氨基酸)。对于Chothia编号系统,使用对VL区氨基酸残基进行编号的Kabat编号系统,(i)VL CDR1通常位于轻链氨基酸位点26-33,(ii)VL CDR2通常位于轻链氨基酸位点50-52,(iii)VL CDR3通常位于轻链氨基酸位点91-96。在具体实施方案中,对于Chothia编号系统,使用对VL区氨基酸残基进行编号的Kabat编号系统,(i)VL CDR1通常位于轻链氨基酸位点24-34,(ii)VL CDR2通常位于轻链氨基酸位点50-56和(iii)VL CDR3通常位于轻链氨基酸位点89-97(在一个实施方案中,位点编号96-100处没有氨基酸)。这些Chothia CDR位点可根据抗体不同发生变化,并可根据本领域已知的方法确定。

[0227] IMGT定义来自于IMGT(″IMGT®,国际ImMunoGeneTics信息系统®网址imgt.org,建立者和主管:Marie-Paule Lefranc,Montpellier,France,参见,例如,Lefranc,M.-P.,1999,The Immunologist,7:132-136和Lefranc,M.-P.等,1999,Nucleic Res.,27:209-212,其均在此全文引入作为参考)。对于IMGT编号系统,(i)VH CDR1通常位于重链氨基酸位点25-35,(ii)VH CDR2通常位于重链氨基酸位点51-57,(iii)VH CDR2通常位于重链氨基酸位点93-102。对于IMGT编号系统,(i)VL CDR1通常位于轻链氨基酸位点27-

32,(ii)VL CDR2通常位于轻链氨基酸位点50-52,(iii)VL CDR3通常位于轻链氨基酸位点89-97。

[0228] 5.1.1序列和结构

[0229] 在某些实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其包含本文提供的MUC16糖基化抗体的任何VH CDR,例如,如表1、3和5所示。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含MUC16糖基化抗体VH CDR1,如表1、3或5所示。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含MUC16糖基化抗体VH CDR2,如表1、3或5所示。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含MUC16糖基化抗体VH CDR3,如表1、3或5所示。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含1个、2个或全部3个的MUC16糖基化抗体VH CDR,如表1、3或5所示(例如,表1第2行的VL CDR,例如,抗体10C6的所有VH CDR)。

[0230] 在某些实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其包含本文提供的抗MUC16抗体的任何VL CDR,例如,如表2、4和6所示。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含MUC16糖基化抗体VH CDR1,如表2、4或6所示。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含MUC16糖基化抗体VH CDR2,如表2、4或6所示。在某些实施方案中,本文提供的抗MUC16抗体或其抗原结合片段包含MUC16糖基化抗体VH CDR3,如表2、4或6所示。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含表2、4或6中1个、2个或全部3个的MUC16糖基化抗体VL CDR(例如,表2第2行的VL CDR,例如,抗体10C6的所有VH CDR)。

[0231] 表1.VH CDR氨基酸序列(Kabat).

[0232]

抗体	VH CDR1 (SEQ ID NO)	VH CDR2 (SEQ ID NO)	VH CDR3 (SEQ ID NO)
10C6	TLGMGVG (SEQ ID NO:3)	HIWWDDDKYYNPALKS (SEQ ID NO:4)	IGTAQATDALDY (SEQ ID NO:5)
7B12	TVGMGVG (SEQ ID NO:23)	HIWWDDEDKYYNPALKS (SEQ ID NO:24)	IGTAQATDALDY (SEQ ID NO:25)
19C11	TLGMGVG (SEQ ID NO:43)	HIWWDDDKYYNPALKS (SEQ ID NO:44)	IGTAQATDALDY (SEQ ID NO:45)
16C5	TLGMGVG (SEQ ID NO:63)	HIWWDDDKYYYPALKS (SEQ ID NO:64)	IGTAQATDALDY (SEQ ID NO:65)
18C6	TVGMGVG (SEQ ID NO:83)	HIWWDDEDKYYNPALKS (SEQ ID NO:84)	IGTAQATDALDY (SEQ ID NO:85)
10C6、7B12、19C11、16C5和18C6共同序列(Consensus)	TX_1GMGVG (SEQ ID NO:103) 其中X_1是L或V	HIWWDDX_2DKYYX_3PALKS (SEQ ID NO:104) 其中X_2是E或不存在且其中X_3是Y或N	IGTAQATDALDY (SEQ ID NO:105)

[0233] 表2.VL CDR氨基酸序列(Kabat).

[0234]

抗体	VL CDR1 (SEQ ID NO)	VL CDR2 (SEQ ID NO)	VL CDR3 (SEQ ID NO)
10C6	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:6)	LVSNLES (SEQ ID NO:7)	QHIRELTRS (SEQ ID NO:8)
7B12	RSSKSLRKSNGNTYL (SEQ ID NO:26)	YMSNLAS (SEQ ID NO:27)	MQSLEYPLT (SEQ ID NO:28)
19C11	RSSKSLLHSNGNTYLY (SEQ ID NO:46)	YMSNLAS (SEQ ID NO:47)	MQGLEHPLT (SEQ ID NO:48)
16C5	LASEDIYSGIS (SEQ ID NO:66)	GASNLES (SEQ ID NO:67)	LGGYSYSSTLT (SEQ ID NO:68)
18C6	RSSKSLLHSNGNTYLY (SEQ ID NO:86)	YMSNLAS (SEQ ID NO:87)	MQSLEYPLT (SEQ ID NO:88)
7B12、19C11 和 18C6 共同序列	RSSKSLX4X5SNGNTYLY (SEQ ID NO:106) 其中 X4 是 R 或 L 且其中 X5 是 K 或 H	YMSNLAS (SEQ ID NO:107)	MQX6LEX7PLT (SEQ ID NO:108) 其中 X6 是 G 或 S 且其中 X7 是 H 或 Y

[0235]

[0236] 表3.VH CDR氨基酸序列(Chothia).

[0237]

抗体	VH CDR1 (SEQ ID NO)	VH CDR2 (SEQ ID NO)	VH CDR3 (SEQ ID NO)
10C6	GFSLNTLGM (SEQ ID NO:9)	WDD (SEQ ID NO:10)	GTAQATDALD (SEQ ID NO:11)
7B12	GFSLSTVGM (SEQ ID NO:29)	WDDE (SEQ ID NO:30)	GTAQATDALD (SEQ ID NO:31)
19C11	GFSLSTLGM (SEQ ID NO:49)	WDD (SEQ ID NO:50)	GTAQATDALD (SEQ ID NO:51)
16C5	GFSLNTLGM (SEQ ID NO:69)	WDD (SEQ ID NO:70)	GTAQATDALD (SEQ ID NO:71)
18C6	GFSLSTVGM (SEQ ID NO:89)	WDDE (SEQ ID NO:90)	GTAQATDALD (SEQ ID NO:91)
10C6、7B12、19C11、16C5 和 18C6 共同序列	GFSLX8TX9GM (SEQ ID NO:109) 其中 X8 是 N 或 S 且其中 X9 是 L 或 V	WDDX10 (SEQ ID NO:110) 其中 X10 是 E 或不存在	GTAQATDALD (SEQ ID NO:111)

[0238] 表4.VL CDR氨基酸序列(Chothia).

[0239]

抗体	VL CDR1 (SEQ ID NO)	VL CDR2 (SEQ ID NO)	VL CDR3 (SEQ ID NO)
10C6	SKSVSTSGYSY (SEQ ID NO:12)	LVS (SEQ ID NO:13)	IRELTR (SEQ ID NO:14)
7B12	SKSLRKSNGNTY (SEQ ID NO:32)	YMS (SEQ ID NO:33)	SLEYPL (SEQ ID NO:34)
19C11	SKSLLHSNGNTY (SEQ ID NO:52)	YMS (SEQ ID NO:53)	GLEHPL (SEQ ID NO:54)
16C5	SEDIYSG (SEQ ID NO:72)	GAS (SEQ ID NO:73)	GYSYSSTL (SEQ ID NO:74)
18C6	SKSLLHSNGNTY (SEQ ID NO:92)	YMS (SEQ ID NO:93)	SLEYPL (SEQ ID NO:94)
7B12、19C11 和 18C6 共同序列	SKSL$X_{11}X_{12}$SNGNTY (SEQ ID NO:112) 其中 X_{11} 是 L 或 R 且其中 X_{12} 是 H 或 K	YMS (SEQ ID NO:113)	X_{13}LEX_{14}PL (SEQ ID NO:114) 其中 X_{13} 是 G 或 S 且其中 X_{14} 是 H 或 Y

[0240] 表5.VH CDR氨基酸序列(IMGT).

[0241]

抗体	VH CDR1 (SEQ ID NO)	VH CDR2 (SEQ ID NO)	VH CDR3 (SEQ ID NO)
10C6	GFSLNTLGMG (SEQ ID NO:15)	IWWDDDK (SEQ ID NO:16)	SRIGTAQATDALDY (SEQ ID NO:17)
7B12	GFSLSTVGMG (SEQ ID NO:35)	IWWDDEDK (SEQ ID NO:36)	TRIGTAQATDALDY (SEQ ID NO:37)
19C11	GFSLSTLGMG (SEQ ID NO:55)	IWWDDDK (SEQ ID NO:56)	ARIGTAQATDALDY (SEQ ID NO:57)
16C5	GFSLNTLGMG (SEQ ID NO:75)	IWWDDDK (SEQ ID NO:76)	ARIGTAQATDALDY (SEQ ID NO:77)
18C6	GFSLSTVGMG (SEQ ID NO:95)	IWWDDEDK (SEQ ID NO:96)	TRIGTAQATDALDY (SEQ ID NO:97)
10C6、7B12、19C11、16C5 和 18C6 共同序列	GFSLX_{15}TX_{16}GMG (SEQ ID NO:115) 其中 X_{15} 是 N 或 S 且其中 X_{16} 是 V 或 L	IWWDDX_{17}DK (SEQ ID NO:116) 其中 X_{17} 是 E 或不存在	X_{18}RIGTAQATDALDY (SEQ ID NO:117) 其中 X_{18} 是 T，A 或 S

[0242]

[0243] 表6.VL CDR氨基酸序列(IMGT).

[0244]

抗体	VL CDR1 (SEQ ID NO)	VL CDR2 (SEQ ID NO)	VL CDR3 (SEQ ID NO)
10C6	KSVSTSGYSY (SEQ ID NO:18)	LVS (SEQ ID NO:19)	QHIRELTRS (SEQ ID NO:20)
7B12	KSLRKSNGNTY (SEQ ID NO:38)	YMS (SEQ ID NO:39)	MQSLEYPLT (SEQ ID NO:4)
19C11	KSLLHSNGNTY (SEQ ID NO:58)	YMS (SEQ ID NO:59)	MQGLEHPLT (SEQ ID NO:60)
16C5	EDIYSG (SEQ ID NO:78)	GAS (SEQ ID NO:79)	LGGYSYSSTLT (SEQ ID NO:80)
18C6	KSLLHSNGNTY (SEQ ID NO:98)	YMS (SEQ ID NO:99)	MQSLEYPLT (SEQ ID NO:100)
7B12、19C11和18C6共同序列	KSLX19X20SNGNTY (SEQ ID NO:118) 其中X19是V或L且 其中X20是H或K	YMS (SEQ ID NO:119)	MQSLEYPLT (SEQ ID NO:120)

[0245] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:

[0246] (a)VH CDR1,包含氨基酸序列TX_1GMGVG(SEQ ID NO:103),其中X_1是L或V,

[0247] (b)VH CDR2,包含氨基酸序列$HIWWDDX_2DKYYX_3PALKS$(SEQ ID NO:104),其中X_2是E或不存在且X_3是Y或N,和

[0248] (c)VH CDR3,包含氨基酸序列IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105)。

[0249] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:

[0250] (d)VH CDR1,包含氨基酸序列$GFSLX_8TX_9GM$(SEQ ID NO:109),其中X_8是N或S且X_9是L或V,

[0251] (e)VH CDR2,包含氨基酸序列$WDDX_{10}$(SEQ ID NO:110),其中X_{10}是E或不存在,和

[0252] (f)VH CDR3,包含氨基酸序列GTAQATDALD(SEQ ID NO:111)。

[0253] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:

[0254] (g)VH CDR1,包含氨基酸序列$GFSLX_{15}TX_{16}GMG$(SEQ ID NO:115),其中X_{15}是N或S且X_{16}是V或L,

[0255] (h)VH CDR2,包含氨基酸序列$IWWDDX_{17}DK$(SEQ ID NO:116),其中X_{17}是E或不存在,和

[0256] (i)VH CDR3,包含氨基酸序列$X_{18}RIGTAQATDALDY$(SEQ ID NO:117),其中X_{18}是T,A或S。

[0257] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含

SEQ ID NO:15的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0258] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0259] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列。

[0260] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列。在具体实施方案中,MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

[0261] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

[0262] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含:

[0263] (j)VL CDR1,包含氨基酸序列RSSKSLX$_4$X$_5$SNGNTYLY(SEQ ID NO:106),其中X$_4$是R或

L且X_5是K或H，

[0264] (k)VL CDR2，包含氨基酸序列YMSNLAS(SEQ ID NO:107)，和

[0265] (l)VL CDR3，包含氨基酸序列MQX_6LEX_7PLT(SEQ ID NO:108)，其中X_6是G或S且X_7是H或Y。

[0266] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含：

[0267] (m)VL CDR1，包含氨基酸序列KSL$X_{11}X_{12}$SNGNTY(SEQ ID NO:112)，其中X_{11}是L或R且X_{12}是H或K，

[0268] (n)VL CDR2，包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:113)，和

[0269] (o)VL CDR3，包含氨基酸序列X_{13}LEX_{14}PL(SEQ ID NO:114)，

[0270] 其中X_{13}是G或S且X_{14}是H或Y。

[0271] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含：

[0272] (p)VL互补决定区(CDR)1，包含氨基酸序列KSL$X_{19}X_{20}$SNGNTY(SEQ ID NO:118)，其中X_{19}是V或L且X_{20}是H或K，

[0273] (q)VL CDR2，包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:119)，和

[0274] (r)VL CDR3，包含氨基酸序列MQSLEYPLT(SEQ ID NO:120)。

[0275] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含：VL CDR1，包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列；VL CDR2，包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列；和VL CDR3，包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含：VL CDR1，包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列；VL CDR2，包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列；和VL CDR3，包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含：VL CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列；VL CDR2，包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列；和VL CDR3，包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0276] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含：VL CDR1，包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列；VL CDR2，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列；和VL CDR3，包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含：VL CDR1，包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列；VL CDR2，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列；和VL CDR3，包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含：VL CDR1，包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列；VL CDR2，包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列；和VL CDR3，包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

[0277] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含：VL CDR1，包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列；VL CDR2，包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列；和VL CDR3，包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含：VL CDR1，包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列；VL CDR2，包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列；和VL CDR3，包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL，其包含：VL CDR1，

包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列。

[0278] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0279] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列。

[0280] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:

[0281] (i)VH,其包含:

[0282] (a)VH CDR1,包含氨基酸序列TX$_1$GMGVG(SEQ ID NO:103),其中X$_1$是L或V,

[0283] (b)VH CDR2,包含氨基酸序列HIWWDDX$_2$DKYYX$_3$PALKS(SEQ ID NO:104),其中X$_2$是E或不存在且其中X$_3$是Y或N,和(c)VH CDR3,包含氨基酸序列IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105),和

[0284] (ii)VL,其包含:

[0285] (d)VL CDR1,包含氨基酸序列RSSKSLX$_4$X$_5$SNGNTYLY(SEQ ID NO:106),其中X$_4$是R或L且其中X$_5$是K或H,

[0286] (e)VL CDR2,包含氨基酸序列YMSNLAS(SEQ ID NO:107),和

[0287] (f)VL CDR3,包含氨基酸序列MQX$_6$LEX$_7$PLT(SEQ ID NO:108),其中X$_6$是G或S且其中X$_7$是H或Y。

[0288] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含

[0289] (i)VH,其包含:

[0290] (g)VH CDR1,包含氨基酸序列GFSLX$_8$TX$_9$GM(SEQ ID NO:109),其中X$_8$是N或S且其中X$_9$是L或V,

[0291] (h)VH CDR2,包含氨基酸序列WDDX$_{10}$(SEQ ID NO:110),其中X$_{10}$是E或不存在,和

[0292] (i)VH CDR3,包含氨基酸序列GTAQATDALD(SEQ ID NO:111)和

[0293] (ii)VL,其包含:

[0294] (j)VL CDR1,包含氨基酸序列KSLX$_{11}$X$_{12}$SNGNTY(SEQ ID NO:112),其中X$_{11}$是L或R且其中X$_{12}$是H或K,

[0295] (k)VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:113),和

[0296] (l)VL CDR3,包含氨基酸序列$X_{13}LEX_{14}PL$(SEQ ID NO:114),其中X_{13}是G或S且其中X_{14}是H或Y。

[0297] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含

[0298] (i)VH,其包含:

[0299] (m)VH CDR1,包含氨基酸序列$GFSLX_{15}TX_{16}GMG$(SEQ ID NO:115),其中X_{15}是N或S且其中X_{16}是V或L,

[0300] (n)VH CDR2,包含氨基酸序列$IWWDDX_{17}DK$(SEQ ID NO:116),其中X_{17}是E或不存在,和

[0301] (o)VH CDR3,包含氨基酸序列$X_{18}RIGTAQATDALDY$(SEQ ID NO:117),其中X_{18}是T,A或S,和

[0302] (ii)VL,其包含:

[0303] (p)VL CDR1,包含氨基酸序列$KSLX_{19}X_{20}SNGNTY$(SEQ ID NO:118),其中X_{19}是V或L且其中X_{20}是H或K,

[0304] (q)VL CDR2,包含氨基酸序列YMS(SEQ ID NO:119),和

[0305] (r)VL CDR3,包含氨基酸序列MQSLEYPLT(SEQ ID NO:120)。

[0306] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:

[0307] (i)VH,其包含:

[0308] (s)VH CDR1,包含氨基酸序列TX_1GMGVG(SEQ ID NO:103),其中X_1是L或V,

[0309] (t)VH CDR2,包含氨基酸序列$HIWWDDX_2DKYYX_3PALKS$(SEQ ID NO:104),其中X_2是E或不存在且其中X_3是Y或N,和

[0310] (u)VH CDR3,包含氨基酸序列IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105),和

[0311] (ii)VL,其包含:

[0312] (v)VL CDR1,包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,

[0313] (w)VL CDR2,包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,和

[0314] (x)VL CDR3,包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0315] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含

[0316] (i)VH,其包含:

[0317] (y)VH CDR1,包含氨基酸序列$GFSLX_8TX_9GM$(SEQ ID NO:109),其中X_8是N或S且其中X_9是L或V,

[0318] (z)VH CDR2,包含氨基酸序列$WDDX_{10}$(SEQ ID NO:110),其中X_{10}是E或不存在,和

[0319] (aa)VH CDR3,包含氨基酸序列GTAQATDALD(SEQ ID NO:111)和

[0320] (ii)VL,其包含:

[0321] (bb)VL CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列,

[0322] (cc)VL CDR2,包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列,和

[0323] (dd)VL CDR3,包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

[0324] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含:

[0325] (ee)VH CDR1,包含氨基酸序列$GFSLX_{15}TX_{16}GMG$(SEQ ID NO:115),其中X_{15}是N或S且

其中X_{16}是V或L，

[0326] (ff)VH CDR2，包含氨基酸序列IWWDDX_{17}DK(SEQ ID NO:116)，其中X_{17}是E或不存在，和

[0327] (gg)VH CDR3，包含氨基酸序列X_{18}RIGTAQATDALDY(SEQ ID NO:117)，其中X_{18}是T，A或S和

[0328] (ii)VL，其包含：

[0329] (hh)VL CDR1，包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列，

[0330] (ii)VL CDR2，包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列，和

[0331] (jj)VL CDR3，包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0332] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含

[0333] (i)VH，其包含：

[0334] (kk)VH CDR1，包含氨基酸序列TX_1GMGVG(SEQ ID NO:103)，其中X_1是L或V，

[0335] (ll)VH CDR2，包含氨基酸序列HIWWDDX_2DKYYX_3PALKS(SEQ ID NO:104)，其中X_2是E或不存在且其中X_3是Y或N，和(mm)VH CDR3，包含氨基酸序列IGTAQATDALDY(SEQ ID NO:105)，和

[0336] (ii)VL，其包含：

[0337] (nn)VL CDR1，包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列，

[0338] (oo)VL CDR2，包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列，和

[0339] (pp)VL CDR3，包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

[0340] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含：

[0341] (i)VH，其包含：

[0342] (qq)VH CDR1，包含氨基酸序列GFSLX_8TX_9GM(SEQ ID NO:109)，其中X_8是N或S且其中X_9是L或V，

[0343] (rr)VH CDR2，包含氨基酸序列WDDX_{10}(SEQ ID NO:110)，其中X_{10}是E或不存在，和

[0344] (ss)VH CDR3，包含氨基酸序列GTAQATDALD(SEQ ID NO:111)，和

[0345] (ii)VL，其包含：

[0346] (tt)VL CDR1，包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列，

[0347] (uu)VL CDR2，包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列，和

[0348] (vv)VL CDR3，包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

[0349] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含：

[0350] (i)VH，其包含：

[0351] (ww)VH CDR1，包含氨基酸序列GFSLX_{15}TX_{16}GMG(SEQ ID NO:115)，其中X_{15}是N或S且其中X_{16}是V或L，

[0352] (xx)VH CDR2，包含氨基酸序列IWWDDX_{17}DK(SEQ ID NO:116)，其中X_{17}是E或不存在，和

[0353] (yy)VH CDR3，包含氨基酸序列X_{18}RIGTAQATDALDY(SEQ ID NO:117)，其中X_{18}是T，A或S，和

[0354] (ii)VL，其包含：

[0355] (zz)VL CDR1，包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列，

[0356] (aaa)VL CDR2,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,和

[0357] (bbb)VL CDR3,包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

[0358] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列;和(b)VL CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;和(b)VL CDR1,包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0359] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列;和(b)VL CDR1,包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

[0360] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列;和(b)VL,其包

含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列。

[0361] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0362] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:(a)VH,其包含:VH CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;VH CDR2,包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;和VH CDR3,包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列;和(b)VL,其包含:VL CDR1,包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列;VL CDR2,包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列;和VL CDR3,包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列。

[0363] 表7.VH区氨基酸序列

[0364]

抗体	VH (SEQ ID NO)
10C6	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLNTLGMGVGWIRQPSGKGLEWLA HIWWDDDKYYNPALKSRLTISKDSSKNQVFLKIANVDTADIATYYCSRIGT AQATDALDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:1)
7B12	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTVGMGVGWSRQPSGKGLEWLA HIWWDDEDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTADSATYYCTRIG TAQATDALDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:21)
19C11	QVNLKESGPGKLQPSQTLSLTCSFSGFSLSTLGMGVGWIRQSSGKGLEWLA HIWWDDDKYYNPALKSRLTISRATKNQVFLKIVNVGTADTATYYCARIGTA QATDALDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:41)
16C5	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLNTLGMGVGWIRQPSGKGLEWLA HIWWDDDKYYYPALKSRLTISRDTSKNQVFLKIANVDTADTATYYCARIGT AQATDALDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:61)
18C6	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTVGMGVGWSRQPSGKGLEWLA HIWWDDEDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTADTATYYCTRIG TAQATDALDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:81)
10C6、7B12、19C11、16C5和18C6的VH共同序列	QVX21LKESGPGX22LQPSQTLSLTCSFSGFSLX23TX24GMGVGWX25RQX26SG KGLEWLAHIWWDDX27DKYYX28PALKSRLTISX29X30X31SKNQVFLKIX32N VX33TADX34ATYYCX35RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:101) 其中 X_{21} 是 T 或 N，X_{22} 是 I 或 K，X_{23} 是 N 或 S，X_{24} 是 V 或 L，X_{25} 是 S 或 I，X_{26} 是 P 或 S，X_{27} 是 E 或不存在，X_{28} 是 N 或 Y，X_{29} 是 K 或 R，X_{30} 是 A 或 D，X_{31} 是 T 或 S，X_{32} 是 V 或 A，X_{33} 是 G 或 D，X_{34} 是 T，I 或 S 且 X_{35} 是 T，S 或 A

[0365] 表8.VL区氨基酸序列

[0366]

抗体	VL (SEQ ID NO)
10C6	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVSTSGYSYMHWNQQKPGQPPRLLI YLVSNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHIRELTRSEGG PSWKN (SEQ ID NO:2)
7B12	DIVMTQAAPSVSVTPGESVSISCRSSKSLRKSNGNTYLYWFLQRPGQSPQR LIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCMQSLEYPLT FGGGTKLKIK (SEQ ID NO:22)
19C11	DIVMTQAAPSIPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQRLI YYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLKISRVEAGDVGVYYCMQGLEHPLTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:42)
16C5	ELDMTQTPPSLSASVGETVRIRCLASEDIYSGISWYQQKPGKPPTLLIYGAS NLESGVPPRFSGSGSGTDYTLTIGGVQAEDAATYYCLGGYSYSSTLTFGAG TNVEIK (SEQ ID NO:62)
18C6	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQR LIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCMQSLEYPLT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:82)
7B12，19C11和18C6的VH共同序列	DIVMTQAAPSX36X37VTPGESVSISCRSSKSLX38X39SNGNTYLYWFLQRPGQ SPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLX40ISRVEAX41DVGVYYCMQ X42LEX43PLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:102) 其中 X_{36} 是 I 或 V，X_{37} 是 P 或 S，X_{38} 是 R 或 L，X_{39} 是 K 或 H，X_{40} 是 R 或 K，X_{41} 是 E 或 G，X_{42} 是 S 或 G 且 X_{43} 是 Y 或 H

[0367]

[0368] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH区，其包含：

[0369] $QVX_{21}LKESGPGX_{22}LQPSQTLSLTCSFSGFSLX_{23}TX_{24}GMGVGWX_{25}RQX_{26}SGKGLEWLAHIWWDDX_{27}D$

KYYX$_{28}$PALKSRLTISX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$SKNQVFLKIX$_{32}$NVX$_{33}$TADX$_{34}$ATYYCX$_{35}$RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:101),其中X$_{21}$是T或N,X$_{22}$是I或K,X$_{23}$是N或S,X$_{24}$是V或L,X$_{25}$是S或I,X$_{26}$是P或S,X$_{27}$是E或不存在,X$_{28}$是N或Y,X$_{29}$是K或R,X$_{30}$是A或D,X$_{31}$是T或S,X$_{32}$是V或A,X$_{33}$是G或D,X$_{34}$是T,I或S且X$_{35}$是T,S或A。

[0370] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL区,其包含:

[0371] DIVMTQAAPSX$_{36}$X$_{37}$VTPGESVSISCRSSKSLX$_{38}$X$_{39}$SNGNTYLYWFLQRPGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLX$_{40}$ISRVEAX$_{41}$DVGVYYCMQX$_{42}$LEX$_{43}$PLTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:102),其中X$_{36}$是I或V,X$_{37}$是P或S,X$_{38}$是R或L,X$_{39}$是K或H,X$_{40}$是R或K,X$_{41}$是E或G,X$_{42}$是S或G且X$_{43}$是Y或H。

[0372] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含

[0373] (ccc)VH区,其包含

[0374] QVX$_{21}$LKESGPGX$_{22}$LQPSQTLSLTCSFSGFSLX$_{23}$TX$_{24}$GMGVGWX$_{25}$RQX$_{26}$SGKGLEWLAHIWWDDX$_{27}$DKYYX$_{28}$PALKSRLTISX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$SKNQVFLKIX$_{32}$NVX$_{33}$TADX$_{34}$ATYYCX$_{35}$RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:101),其中X$_{21}$是T或N,X$_{22}$是I或K,X$_{23}$是N或S,X$_{24}$是V或L,X$_{25}$是S或I,X$_{26}$是P或S,X$_{27}$是E或不存在,X$_{28}$是N或Y,X$_{29}$是K或R,X$_{30}$是A或D,X$_{31}$是T或S,X$_{32}$是V或A,X$_{33}$是G或D,X$_{34}$是T,I或S且X$_{35}$是T,S或A,和

[0375] (ddd)VL区,其包含

[0376] DIVMTQAAPSX$_{36}$X$_{37}$VTPGESVSISCRSSKSLX$_{38}$X$_{39}$SNGNTYLYWFLQRPGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLX$_{40}$ISRVEAX$_{41}$DVGVYYCMQX$_{42}$LEX$_{43}$PLTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:102),其中X$_{36}$是I或V,X$_{37}$是P或S,X$_{38}$是R或L,X$_{39}$是K或H,X$_{40}$是R或K,X$_{41}$是E或G,X$_{42}$是S或G且X$_{43}$是Y或H。

[0377] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含

[0378] (eee)VH区,其包含

[0379] QVX$_{21}$LKESGPGX$_{22}$LQPSQTLSLTCSFSGFSLX$_{23}$TX$_{24}$GMGVGWX$_{25}$RQX$_{26}$SGKGLEWLAHIWWDDX$_{27}$DKYYX$_{28}$PALKSRLTISX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$SKNQVFLKIX$_{32}$NVX$_{33}$TADX$_{34}$ATYYCX$_{35}$RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:101),其中X$_{21}$是T或N,X$_{22}$是I或K,X$_{23}$是N或S,X$_{24}$是V或L,X$_{25}$是S或I,X$_{26}$是P或S,X$_{27}$是E或不存在,X$_{28}$是N或Y,X$_{29}$是K或R,X$_{30}$是A或D,X$_{31}$是T或S,X$_{32}$是V或A,X$_{33}$是G或D,X$_{34}$是T,I或S且X$_{35}$是T,S或A,和

[0380] (fff)VL区,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

[0381] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含

[0382] (ggg)VH区,其包含

[0383] QVX$_{21}$LKESGPGX$_{22}$LQPSQTLSLTCSFSGFSLX$_{23}$TX$_{24}$GMGVGWX$_{25}$RQX$_{26}$SGKGLEWLAHIWWDDX$_{27}$DKYYX$_{28}$PALKSRLTISX$_{29}$X$_{30}$X$_{31}$SKNQVFLKIX$_{32}$NVX$_{33}$TADX$_{34}$ATYYCX$_{35}$RIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:101),其中X$_{21}$是T或N,X$_{22}$是I或K,X$_{23}$是N或S,X$_{24}$是V或L,X$_{25}$是S或I,X$_{26}$是P或S,X$_{27}$是E或不存在,X$_{28}$是N或Y,X$_{29}$是K或R,X$_{30}$是A或D,X$_{31}$是T或S,X$_{32}$是V或A,X$_{33}$是G或D,X$_{34}$是T,I或S且X$_{35}$是T,S或A,和

[0384] (hhh)VL区,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列。

[0385] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含如表7所示的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列(表7)(例如,抗体10C6的

VH)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(表7)(例如,抗体7B12的VH)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列(表7)(例如,抗体19C11的VH)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列(表7)(例如,抗体16C5的VH)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列(表7)(例如,抗体18C6的VH)。

[0386] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL,其包含如表8所示的氨基酸序列。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列(表8)(例如,抗体10C6的VL)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列(表8)(例如,抗体7B12的VL)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列(表8)(例如,抗体19C11的VL)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列(表8)(例如,抗体16C5的VL)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列(表8)(例如,抗体18C6的VL)。

[0387] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含(a)包含如表7所示氨基酸序列的VH;和(b)包含如表8所示氨基酸序列的VL。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含(a)重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列(表7)(例如,抗体10C6的VH)和(b)轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列(表8)(例如,抗体10C6的VL)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含(a)重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列(表7)(例如,抗体7B12的VH)和(b)轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列(表8)(例如,抗体7B12的VL)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含(a)重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列(表7)(例如,抗体19C11的VH)和(b)轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列(表8)(例如,抗体19C11的VL)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含(a)重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列(表7)(例如,抗体16C5的VH)和(b)轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列(表8)(例如,抗体16C5的VL)。在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含(a)重链可变区序列,其包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列(表7)(例如,抗体18C6的VH)和(b)轻链可变区序列,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列(表8)(例如,抗体18C6的VL)。

[0388] 在某些实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含:具有如表7所示氨基酸序列的VH的VH CDR(例如,如表1、3或5所示),和具有如表8所示氨基酸序列的VL的VL CDR(例如,如表2,4或6所示)。

[0389] 在某些实施方案中,本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可以通过其VH结构域单独或其VL域单独或其三个VH CDR单独或其三个VL CDR单独描述。参见例如Rader C等人(1998)PNAS 95:8910-8915,其通过引用整体并入本文,其描述了通过分别从

人轻链或重链文库鉴定互补轻链或重链来对小鼠抗αvβ3抗体进行人源化，得到具有相当或高于原始抗体亲和力的亲和力的人源化抗体变体。还参见Clackson T等(1991)Nature 352:624-628，其全部内容通过引用并入本文，描述了通过使用特异性VH区(或VL区)产生结合特异性抗原的抗体，并针对互补可变区进行筛选的方法。另见Kim SJ&Hong HJ，(2007)J Microbiol 45:572-577，其全部内容通过引用并入本文，描述了通过使用特异性VH区和筛选文库(例如，人VL文库)中的互补VL区来产生结合特异性抗原的抗体的方法；选择的VL结构域可继而用于指导另外的互补(例如，人)VH区的选择。

[0390] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可以是人源化抗体，例如，人源化形式的啮齿类抗体。人源化抗体可使用本领域已知的多种技术进行生产，包括但不限于，CDR-移植(欧洲专利号EP 239,400，国际公开号WO 91/09967和美国专利号5,225,539,5,530,101和5,585,089)、链更替(美国专利号5,565,332)、嵌合(veneering)或重修饰(resurfacing)(欧洲专利号EP 592,106和EP 519,596，Padlan,1991,Molecular Immunology 28(4/5):489-498,Studnicka等,1994,Protein Engineering 7(6):805-814和Roguska等,1994,PNAS 91:969-973)，以及下述文件中描述的技术，例如，美国专利号6,407,213，美国专利号5,766,886,WO 9317105,Sandhu JS,Gene 150(2):409-10(1994)，Pedersen等,J.Mol.Biol.235(3):959-73(1994)，Couto等,Cancer Res.55(8):1717-22(1995)，Roguska等,Protein Eng.9(10):895 904(1996)，Baca等,J.Biol.Chem.272(16):10678-84(1997)，Couto等,Cancer Res.55(23Supp):5973s-5977s(1995)，Caldas等,Protein Eng.13(5):353-60(2000)，Morea等,Methods 20(3):267 79(2000)和Tan等,J.Immunol.169:1119 25(2002)。还参见美国专利公开号US 2005/0042664A1(2005年2月24日)，其分别全文引入作为参考。

[0391] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可以是复合人抗体。复合人抗体可以通过下述方式产生，例如，以避开T细胞表位的方式从多个人抗体可变区序列片段设计可变区序列，从而最小化得到的抗体的免疫原性(参见，例如，Baker等,2010,Self Nonself.,1(4):314-322,Bryson等,2010,BioDrugs,24(1):1-8和Jones等,2009,Methods Mol Biol.,525:405-23)。该抗体可包含人恒定区序列，例如，人轻链和/或重链恒定区。

[0392] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可以是去免疫化(deimmunized)抗体。去免疫化抗体是其中T细胞表位已被去除的抗体。制备去免疫化抗体的方法已有描述。参见，例如，Jones等,Methods Mol Biol.2009;525:405-23,xiv和De Groot等,Cell.Immunol.244:148-153(2006))。

[0393] 在具体的实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段是人源化的免疫球蛋白，其包含表1,表2和表3和表4,表5和表6各自中的任何抗体的3个VH CDR和3个VL CDR(即，VH CDR1、VH CDR2,VH CDR3,VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)，人源的框架区和人源的恒定区。非限制性示例的人框架区在本领域已有描述，例如，参见Kabat等(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，美国卫生及公共服务部，NIH出版号91-3242)。在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含人框架区或源自人框架区的框架区(例如，VL区和/或VH区的框架区)。在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含灵长类(例如，非人灵长类)框架区

或源自灵长类(例如,非人灵长类)框架区的框架区(例如,VL区和/或VH区的框架区)。例如,抗原特异性非人抗体的CDR,通常为啮齿类来源的(例如,小鼠或大鼠),被植入同源的人或非人灵长类(例如,旧大陆猿(Old World apes),例如黑猩猩(Pan troglodytes),倭黑猩猩(Pan paniscus)或大猩猩(Gorilla gorilla),黑猩猩(Pan troglodytes),旧大陆猴(Old World monkeys),例如来自猕猴属(Macaca)或食蟹猴猕猴属(cynomolgus monkey Macaca cynomolgus)。非人灵长类框架序列描述于美国专利申请公开号US 2005/0208625。

[0394] 在具体实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的VH CDR1、VH CDR2,和/或VH CDR3在VH区中的位置和/或VL CDR1、VL CDR2,和/或VL CDR2在VL区中的位置可以变化1、2、3、4、5、6或更多个氨基酸位点,只要(i)保持免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)保持不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)保持抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭(例如,基本保持,例如,至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%)。在另一实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的VH CDR1、VH CDR2,和/或VH CDR3在VH区中的长度和/或VL CDR1、VL CDR2,和/或VL CDR2在VL区中的长度可以变化(例如,更短或更长)1、2、3、4、5、6或更多个氨基酸,只要(i)保持免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)保持不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139,和(iii)保持抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭(例如,基本保持,例如,至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%)。在另一实施方案中,与一个或多个本文描述的CDR相比,本文描述的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、和/或VL CDR3的氨基端和/或羧基端可延伸或截短1、2、3、4、5、6或更多个氨基酸,只要(i)保持免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)保持不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)保持抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭(例如,基本保持,例如,至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%)。如本文使用的,术语“免疫特异性结合”、“免疫特异性识别”、“特异性结合”和“特异性识别”在抗体的语境下是类似术语,表示抗体及其抗原结合片段通过如本领域技术人员所理解的抗原结合位点结合抗原(例如,表位或免疫复合物),且不排除抗体或抗原结合片段与其它抗原的交叉反应性。本领域已知的任何方法都可用于确认是否:(i)保持免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞,其第一形式是糖基化的,且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133;(ii)保持不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139;和(iii)保持抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭,例如,ELISA结合分析或FACs分析,如下第6节所述。

[0395] 在具体的方面,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其包含抗体重链和/或轻链,例如,单独的重链,单独的轻链或重链和轻链。对于重链,在具体实施方案中,本

文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的重链可以是α、δ、ε、γ或μ重链。在另一具体实施方案中，所述MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的重链可以包含人α、δ、ε、γ或μ重链。

[0396] 在具体实施方案中，(i)免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；并(iii)抑制重组表达所述第一形式的MUC16的细胞的体外基质胶侵袭的本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链，其中重链可变区的氨基酸序列包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3，其分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105；分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111；或分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117；且其中重链恒定区是人α、δ、ε、γ或μ重链恒定区。如本文使用的术语“恒定区”或“恒定域”是可互相替换的，具有其在本领域的常规含义。恒定区是抗体的部分，例如，轻链和/或重链的羧端部分，其不直接涉及抗体与抗原的结合，但能够表现出多种效应物功能，例如与Fc受体的相互作用。免疫球蛋白分子的恒定区一般具有相对免疫球蛋白可变区而言更为保守的氨基酸序列。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链，其中重链可变区的氨基酸序列包含抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6(即，列于表1、表3或表5的抗体)的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3，且其中重链恒定区是人α、δ、ε、γ或μ重链恒定区。

[0397] 在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含重链，其中重链可变区的氨基酸序列包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列，且其中重链恒定区是人α、δ、ε、γ或μ重链恒定区。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含重链，其中重链可变区的氨基酸序列包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:61或SEQ ID NO:81的氨基酸序列，且其中重链恒定区是人α、δ、ε、γ或μ重链恒定区。

[0398] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含重链，其中重链可变区的氨基酸序列包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3，其分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105；或分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110或SEQ ID NO:111；或分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116或SEQ ID NO:117，且其中重链恒定区是人重链恒定区。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含重链，其中重链可变区的氨基酸序列包含抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6VH CDR(即，列于表1、表3和表5的那些)的任何VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3，且其中重链恒定区是人重链恒定区。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含重链，其中重链可变区的氨基酸序列包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列，且其中重链恒定区是人重链恒定区。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含重链，其中重链可变区的氨基酸序列包含抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VH CDR(即，列于表7的那些)的任一的氨基酸序列，且其中重链恒定区是人重链恒定区。非限制性示例的人恒定区序列在本领域已有描述，例如，参见Kabat EA等，(1991)，同上。

[0399] 对于轻链，在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的

轻链是κ轻链。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的轻链是λ轻链。在又一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的轻链是人κ轻链或人λ轻链。

[0400] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含轻链，其中轻链可变区氨基酸序列包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，其分别具有抗体氨基酸序列SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108，或分别具有SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114，或分别具有SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120，且其中轻链恒定区是κ或λ轻链恒定区。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含轻链，其中轻链可变区氨基酸序列包含抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6(即，列于表2、表4或表6的那些)的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，且其中轻链恒定区是κ或λ轻链恒定区。

[0401] 在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含轻链，其中轻链可变区氨基酸序列包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列，且其中轻链恒定区是κ或λ轻链恒定区。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含轻链，其中轻链可变区氨基酸序列包含SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:82的氨基酸序列，且其中轻链恒定区是κ或λ轻链恒定区。

[0402] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含轻链，其中轻链可变区氨基酸序列包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，其分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108，或分别具有SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114，或分别具有SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120，且其中轻链恒定区包含人轻链恒定区的氨基酸。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含轻链，其中轻链可变区氨基酸序列包含具有抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VL CDR(即，列于表2、表4和表6的那些)任一的氨基酸序列的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，且其中轻链恒定区是人轻链恒定区。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含轻链，其中轻链可变区氨基酸序列包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列，且其中轻链恒定区是人轻链恒定区。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化的抗体或其抗原结合片段包含轻链，其中轻链可变区氨基酸序列包含抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VL CDR(即，列于表8的那些)任一的氨基酸序列，且其中轻链恒定区是人轻链恒定区。非限制性示例的人恒定区序列在本领域已有描述，例如，参见Kabat EA等，(1991)，同上。

[0403] 在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含如本文描述的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)，且其中恒定区是IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子或人IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子中的类型。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH和VL，其包含本文描述的任何氨基酸序列，且其中恒定区是IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子，任何类别(例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1和IgA_2)或任何亚类(例如，IgG_{2a}和IgG_{2b})of免疫球蛋白分子中的类型。在具体实施方案中，恒定区是人IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子，免疫球蛋白分子任何类别(例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1和IgA_2)或任何亚类(例如，IgG_{2a}和IgG_{2b})中的类型。

[0404] 在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链，其中(i)重链包含(a)可变区，包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3，其分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105；分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111；或分别具有SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117，且(b)包含重链恒定区，其是人IgG重链恒定区，和/或(ii)轻链包含(a)可变区，包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，其分别具有氨基酸序列SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108，或分别具有SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114，或分别具有SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120；和(b)轻链恒定区，其是人IgG恒定区。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链，其中(i)重链包含(a)可变区，包含具有抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VH CDR(即，列于表1、表3和表5的那些)任一的氨基酸序列的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3且(b)包含重链恒定区，其是人IgG重链恒定区，和/或(ii)轻链包含(a)可变区，包含具有抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VL CDR(即，列于表2、表4和表6的那些)任一氨基酸序列的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3，和(b)轻链恒定区，其是人IgG的恒定区。

[0405] 在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链，其中(i)重链包含(a)可变区，包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列；和(b)重链恒定区，其是人IgG恒定区，和/或(ii)轻链包含(a)可变区，包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列；和(b)轻链恒定区，其是人κ轻链恒定区。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链，其中(i)重链包含(a)可变区，包含下述：抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6(即，列于表7的那些)任一的VH的氨基酸序列和(b)重链恒定区，其是人IgG恒定区，和/或(ii)轻链包含(a)可变区，包含下述氨基酸序列：抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6(即，列于表8的那些)任一的VL，和(b)轻链恒定区，其是人κ轻链恒定区。

[0406] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段或其抗原结合片段包含相对于任何的SEQ ID NOs:1-100具有下述百分比同一性的氨基酸序列。数学算法可用于确定两条序列(例如，氨基酸序列或核酸序列)之间的同一性百分比。用于比较两个序列的数学算法的优选的非限制性示例是Karlin和Altschul，1990，Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.87:22642268，于Karlin和Altschul，1993，Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.90:5873 5877中优化。该算法被并入Altschul等，1990，J.Mol.Biol.215:403的NBLAST和XBLAST程序中。可以使用NBLAST核苷酸程序参数设置进行BLAST核苷酸检索，例如，设定score＝100，wordlength＝12，以获得与本文所述的核酸分子同源的核苷酸序列。可以使用XBLAST程序参数设置进行BLAST蛋白质检索，例如设定score 50，wordlength＝3以获得与本文所述的蛋白质分子同源的氨基酸序列。可以按照Altschul等人，1997，Nucleic Acids Res.25:3389 3402中的描述进行缺口BLAST，以获得用于比较目的的缺口比对。可选的，可以通过PSI BLAST(Id.)来执行检测分子之间远缘关系的迭代检索。当使用BLAST，Gapped BLAST和PSI Blast程序时，可以使用相应程序(例如，XBLAST和NBLAST)的缺省参数(例如，参见例如，国家生物技术信息中心(NCBI)，万维网ncbi.nlm.nih.gov)。用于比较序列的数学算法的另一个优选的非限制性实例是Myers和Miller，1988，CABIOS 4:11 17的算法。这样的算法被并入ALIGN程序(版本2.0)中，其是GCG

序列比对软件包的一部分。当使用ALIGN程序比较氨基酸序列时，可以使用PAM120权重残基表，缺口长度罚分为12，缺口罚分为4。此外，可以使用与上述类似的技术来确定两个序列之间的百分比同一性，允许或不允许缺口。通常，计算百分比同一性时，只计算完全匹配。

[0407] 在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含具有与SEQ ID NO:101的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性的VH。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含具有与抗体10C6、7B12、19C11、16C5或1B5(即，列于表7的那些)的任一VH的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性的VH。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH区，其具有与SEQ ID NO:101的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性，其中抗体或抗原结合片段包含与表1、表2、表3、表4、表5或表6中所示CDR(例如，VH CDR和/或VL CDR)相同的CDR(例如，VH CDR和/或VL CDR)。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VH区，其具有与抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6(即，列于表7的那些)的任一VH的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性，其中抗体或抗原结合片段包含与表1、表2、表3、表4、表5或表6中所示CDR(例如，VH CDR和/或VL CDR)相同的CDR(例如，VH CDR和/或VL CDR)。

[0408] 在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含具有与SEQ ID NO:102的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性的VL。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含具有与任一抗体10C6、7B12、19C11、16C5或1B5(即，列于表8的那些)的VL氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性的VL。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL区，其具有与SEQ ID NO:102的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性，其中抗体或抗原结合片段包含与表1、表2、表3、表4、表5或表6中所示CDR(例如，VH CDR和/或VL CDR)相同的CDR(例如，VH CDR和/或VL CDR)。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含VL区，其具有与任一抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6(即，列于表7的那些)的VL氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性，其中抗体或抗原结合片段包含与表1、表2、表3、表4、表5或表6中所示CDR(例如，VH CDR和/或VL CDR)相同的CDR(例如，VH CDR和/或VL CDR)。

[0409] 在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含：(i)VH区，其具有与SEQ ID NO:101的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性和(ii)VL区，其具有与SEQ ID NO:102的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段分别包含：(i)VH区，其具有与任一抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VH氨基酸序列(即，列于表8的那些)至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性和(ii)VL区，其具有与任一抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VL氨基酸序列(即，列于表7的那些)至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包含：(i)VH区，其具有与SEQ ID NO:101的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性和(ii)VL区，其具有与SEQ ID NO:102的氨基酸序列至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或至少98％序列同一性，其中抗体或抗原结合片段包含与表1、表2、表3、表4、表5或表6中所示CDR(例如，VH CDR和/

或VL CDR)相同的CDR(例如,VH CDR和/或VL CDR)。在某些实施方案中,MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段分别包含:(i)VH区,其具有与任一抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VH氨基酸序列(即,列于表8的那些)至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少98%序列同一性和(ii)VL区,其具有与任一抗体10C6、7B12、19C11、16C5或18C6的VL氨基酸序列(即,列于表7的那些)至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少98%序列同一性,其中抗体或抗原结合片段包含与表1、表2、表3、表4、表5或表6中所示CDR(例如,VH CDR和/或VL CDR)相同的CDR(例如,VH CDR和/或VL CDR)。

[0410] 在另一方面,本文提供了结合本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(例如,10C6、7B12、19C11、16C5和/或16C5)的相同或重叠表位的抗体。如本文所用,"表位"是本领域中的术语,并且可以指抗体可以免疫特异性结合的抗原局部区域。表位可以是例如多肽的连续氨基酸(线性或连续表位),或表位可以例如一起来自一种多肽或多种多肽的两个或多个非连续区域(构象、非线性、不连续或非连续表位)。在某些实施方案中,抗体的表位可以通过例如NMR谱、X射线衍射晶体学研究、ELISA测定、与质谱联用的氢/氘反应(例如,MALDI质谱)、基于阵列的寡肽扫描测定和/或诱变作图(例如,定点诱变作图)进行确定。对于X射线晶体学,可以使用本领域中任何已知方法(例如,Giegé R等,(1994)Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4):339-350,McPherson A(1990)Eur J Biochem 189:1-23,Chayen NE(1997)Structure 5:1269-1274,McPherson A(1976)J Biol Chem 251:6300-6303)。抗体:抗原晶体可使用熟知的X射线衍射技术进行研究,并可使用计算机软件拟合(refine),例如X-PLOR(Yale University,1992,由Molecular Simulations,Inc.分配,参见例如Meth Enzymol(1985)第114&115卷,Wyckoff HW等编,美国专利申请号2004/0014194)和BUSTER(Bricogne G(1993)Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1):37-60,Bricogne G(1997)Meth Enzymol 276A:361-423,Carter CW,Roversi P等编,(2000)Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10):1316-1323)。可以使用本领域技术人员已知的任何方法进行诱变作图。参见,例如,Champe M等,(1995)和Cunningham BC&Wells JA(1989)对于诱变技术的描述,包括丙氨酸扫描诱变技术。此外,可以使用常规技术例如免疫测定来鉴定识别和结合相同或重叠的表位的抗体,例如通过显示一种抗体阻断另一种抗体与靶抗原的结合的能力,即竞争性结合测定。竞争结合测定法也可用于确定两种抗体是否对表位具有相似的结合特异性。可以在其中被测免疫球蛋白抑制参考抗体与共同抗原的免疫特异性结合的测定中确定竞争性结合。许多类型的竞争结合测定法是已知的,例如:固相直接或间接放射免疫测定(RIA),固相直接或间接酶免疫测定(EIA),三明治竞争测定(参见Stahli C等,(1983)Methods Enzymol 9:242-253),固相直接生物素-亲和素EIA(参见Kirkland TN等,(1986)J Immunol 137:3614-9),固相直接标记分析,固相直接标记夹心分析(参见Harlow E&Lane D,(1988)Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press),使用I-125标记的固相直接标记RIA(参见Morel GA等,(1988)Mol Immunol 25(1):7-15),固相直接生物素-亲和素EIA(Cheung RC等,(1990)Virology 176:546-52)和直接标记RIA(Moldenhauer G等,(1990)Scand J Immunol 32:77-82)。通常,这种测定涉及使用与固体表面结合的纯化抗原或携带其任一的细胞,未标记的测试免疫球蛋白和标记的参比免疫球蛋白。可以通过测定在测试免疫球蛋白存在下与固体表面或细胞结合的标记物的量来测量竞争性抑制。通常测试的免疫球蛋白过量存在。通

常，当竞争抗体过量存在时，其将至少50-55％、55-60％、60-65％、65-70％、70-75％或者更多地抑制参比抗体与共同抗原的免疫特异性结合。竞争结合测定可以使用标记的抗原或标记的抗体以大量不同的形式进行设计。在该测定的通用形式中，将抗原固定在96孔板上。然后使用放射性或酶标记测量未标记抗体阻断标记抗体与抗原结合的能力。更详细的内容参见，例如，Wagener C等，(1983)J Immunol 130:2308-2315，Wagener C等，(1984)J Immunol Methods 68:269-274，Kuroki M等，(1990)Cancer Res 50:4872-4879，Kuroki M等，(1992)Immunol Invest 21:523-538，Kuroki M等，(1992)Hybridoma 11:391-407和Antibodies:A Laboratory Manual，Harlow E&Lane D编，同上，pp.386-389。

[0411] 在某些方面，竞争结合测定法可用于确定在竞争结合测定法(例如竞争性ELISA测定)中，当两种抗体识别相同或空间重叠的表位时，一种抗体是否以例如剂量依赖的方式被另一种抗体(例如，作为参比抗体，其基本上结合相同的表位或重叠的表位的抗体)竞争性阻断，所述测定法可以使用标记的抗原或标记的抗体配置为不同形式的所有数量。在具体实施方案中，抗体可以在本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的竞争结合测定中进行测试(例如，含有10C6、7B12、19C11、16C5或16C5可变区的鼠IgG抗体)。

[0412] 在另一方面，本文提供了使用本领域技术人员已知的或本文描述的测定法(例如，ELISA)确定的能够与本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(例如，含有10C6、7B12、19C11、16C5或16C5可变区的鼠IgG抗体)竞争(例如，以剂量依赖的形式)结合MUC16的抗体。在另一方面，本文提供了使用本领域技术人员已知的或本文描述的测定法(例如，ELISA)确定的能够竞争性抑制(例如，以剂量依赖的形式)本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(例如，含有10C6、7B12、19C11、16C5或16C5可变区的鼠IgG抗体)与MUC16的结合的抗体。

[0413] 在某些实施方案中，本文提供了与本文描述的抗体竞争性结合MUC16的抗体，所述抗体以与本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段自我竞争结合MUC16相同的程度结合MUC16。在某些实施方案中，本文提供了第一抗体，其与本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争结合MUC16，其中该竞争表现为将第一抗体与表位的结合降低超过80％(例如，85％、90％、95％或98％或80％-85％、80％-90％、85％-90％或85％-95％)。

[0414] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VH，其包含具有表1、表3或表5所示氨基酸序列的VH CDR1、VH CDR2，和/或VH CDR3。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含10C6的VH CDR的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16(参见，表1、表3和表5)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含7B12的VH CDR的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16(参见，表1、表3和表5)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含19C11的VH CDR的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16(参见，表1、表3和表5)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含16C5的VH CDR的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16(参见，表1、表3和表5)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或

其抗原结合片段,其与包含18C6的VH CDR的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16(参见,表1、表3和表5)。

[0415] 在具体的方面,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VL,包含具有表2、表4或表6所示氨基酸序列的VL CDR1、VL CDR2,和/或VL CDR3。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含10C6的VL CDR(参见,表2、表4和表6)的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含7B12的VL CDR(参见,表2、表4和表6)的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含19C11的VL CDR(参见,表2、表4和表6)的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含16C5的VL CDR(参见,表2、表4和表6)的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含18C6的VL CDR(参见,表2、表4和表6)的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16。

[0416] 在具体的方面,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)包含下述的VH:具有表1、表3或表5所示氨基酸序列的VH CDR1、VH CDR2,和/或VH CDR3;和(b)包含下述的VL:具有表2、表4或表6所示氨基酸序列的VL CDR1、VL CDR2,和/或VL CDR3。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)10C6的VH CDR(参见,表1、表3和表5)和(b)10C6的VL CDR(参见,表2、表4和表6)。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)7B12的VH CDR(参见,表1、表3和表5)和(b)7B12的VL CDR(参见,表2、表4和表6)。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)19C11的VH CDR(参见,表1、表3和表5)和(b)19C11的VL CDR(参见,表2、表4和表6)。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)16C5的VH CDR(参见,表1、表3和表5)和(b)16C5的VL CDR(参见,表2、表4和表6)。在具体实施方案中,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)18C6的VH CDR(参见,表1、表3和表5)和(b)18C6的VL CDR(参见,表2、表4和表6)。

[0417] 在具体的方面,本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如,以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VH区,其具有表7所示的氨基酸序列。在具体的方面,本文提供了MUC16糖基化抗体或

其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VH区，其具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VH区，其具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VH区，其具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VH区，其具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VH区，其具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

[0418] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VL区，其具有表8所示的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VL区，其具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VL区，其具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VL区，其具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VL区，其具有SEQ ID NO:62的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:VL区，其具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列。

[0419] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)VH区，其具有表7所示的氨基酸序列和(b)VL区，其具有表8所示的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)VH区，其具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)VH区，其具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:(a)VH区，其具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在具体的

方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16：(a)VH区，其具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:62的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16：(a)VH区，其具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列。

[0420] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VH，其包含具有表1、表3或表5所示氨基酸序列的VH CDR1、VH CDR2，和/或VH CDR3。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含10C6的VH CDR(参见，表1、表3和表5)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含7B12的VH CDR(参见，表1、表3和表5)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其与包含以下的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争性(例如，以剂量依赖的形式)免疫特异性结合MUC16:19C11的VH CDR(参见，表1、表3和表5)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含16C5的VH CDR(参见，表1、表3和表5)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含18C6的VH CDR(参见，表1、表3和表5)。

[0421] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或或其抗原结合片段结合抗体的相同或重叠表位，所述抗体包含VL，其包含具有表2、表4或表6所示氨基酸序列的VL CDR1、VL CDR2，和/或VL CDR3。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含10C6的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含7B12的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含19C11的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含16C5的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含18C6的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。

[0422] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)VH，其包含具有表1、表3或表5所示氨基酸序列的VH CDR1、VH CDR2，和/或VH CDR3和(b)VL，其包含具有表2、表4或表6所示氨基酸序列的VL CDR1、VL CDR2，和/或VL CDR3。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)10C6的VH CDR(参见，表1、表3和表5)和(b)10C6的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)7B12的VH CDR(参见，表1、表3和表5)和(b)7B12的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)19C11的VH CDR(参见，表1、表3和表5)和(b)19C11的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。在具体

实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)16C5的VH CDR(参见，表1、表3和表5)和(b)16C5的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。在具体实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)18C6的VH CDR(参见，表1、表3和表5)和(b)18C6的VL CDR(参见，表2、表4和表6)。

[0423] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VH区，其具有表7所示的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VH区，其具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VH区，其具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VH区，其具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VH区，其具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VH区，其具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

[0424] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VL区，其具有表8所示的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VL区，其具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VL区，其具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VL区，其具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VL区，其具有SEQ ID NO:62的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含VL区，其具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列。

[0425] 在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)VH区，其具有表7所示的氨基酸序列和(b)VL区，其具有表8所示的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)VH区，其具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)VH区，其具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)VH区，其具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)VH区，其具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:62的氨基酸序列。在具体的方面，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其结

合抗体的相同或重叠表位，后一抗体包含(a)VH区，其具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列和(b)VL区，其具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列。

[0426] 可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的测定法(例如，X-射线晶体学，ELISA分析等)确定两种抗体是否结合相同表位。可以使用多种本领域已知方式测量和/或表达亲和力，包括但不限于平衡解离常数(K_D)和平衡缔合常数(K_A)。可以通过本领域技术人员已知的技术测定K_D，例如生物层干涉法。

[0427] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的表位被用作免疫原来产生抗体。参见，例如，第5.3节和第6.2节的产生抗体的方法。

[0428] 5.1.2功能特征

[0429] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以低于$0.5x10^{-3}$/s、$1x10^{-3}$/s、$1.5x10^{-3}$/s、$2x10^{-3}$/s、$2.5x10^{-3}$/s、$3x10^{-3}$/s、$4x10^{-3}$/s、$5x10^{-3}$/s、$6x10^{-3}$/s、$7x10^{-3}$/s、$8x10^{-3}$/s、$9x10^{-3}$/s、$1x10^{-4}$/s、$2x10^{-4}$/s、$3x10^{-4}$/s、$4x10^{-4}$/s、$5x10^{-4}$/s、$6x10^{-4}$/s、$7x10^{-4}$/s或$8x10^{-4}$/s的k_d结合MUC16。在一些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$0.5x10^{-3}$/s、$1x10^{-3}$/s、$1.5x10^{-3}$/s、$2x10^{-3}$/s、$2.5x10^{-3}$/s、$3x10^{-3}$/s、$4x10^{-3}$/s、$5x10^{-3}$/s、$6x10^{-3}$/s、$7x10^{-3}$/s、$8x10^{-3}$/s、$9x10^{-3}$/s、$1x10^{-4}$/s、$2x10^{-4}$/s、$3x10^{-4}$/s、$4x10^{-4}$/s、$5x10^{-4}$/s、$6x10^{-4}$/s、$7x10^{-4}$/s或$8x10^{-4}$/s的k_d结合MUC16。在一些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$0.5x10^{-3}$/s-$8x10^{-4}$/s的k_d结合MUC16。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$1x10^{-3}$/s的k_d结合MUC16。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$1.5x10^{-3}$/s的k_d结合MUC16。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$2x10^{-3}$/s的k_d结合MUC16。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$2x10^{-4}$/s的k_d结合MUC16。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$7x10^{-4}$/s的k_d结合MUC16。

[0430] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以至少$2.5x10^4$/s、$3x10^4$/s、$3.5x10^4$/s、$4x10^4$/s、$4.5x10^4$/s、$5x10^4$/s、$5.5x10^4$/s、$6x10^4$/s、$6.5x10^4$/s、$7x10^4$/s、$7.5x10^4$/s、$8x10^4$/s、$9x10^4$/s或$9x10^5$/s的k_a结合MUC16。在一些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$2.5x10^4$/s、$3x10^4$/s、$3.5x10^4$/s、$4x10^4$/s、$4.5x10^4$/s、$5x10^4$/s、$5.5x10^4$/s、$6x10^4$/s、$6.5x10^4$/s、$7x10^4$/s、$7.5x10^4$/s、$8x10^4$/s、$9x10^4$/s或$9x10^5$/s的k_a结合MUC16。在一些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$4x10^4$/s的k_a结合MUC16。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$6x10^4$/s的k_a结合MUC16。在具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$7.5x10^4$/s的k_a结合MUC16。

[0431] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以低于1000nM、500nM、100nM、50nM、25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.5nM、0.1nM或0.05nM的K_D结合MUC16。在一些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约1000nM、500nM、100nM、50nM、25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.5nM、0.1nM或0.05nM的K_D结合MUC16。在一些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约500nM-1000nM的K_D结合MUC16。在一些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约5nM-75nM的K_D结合MUC16。在具体实施方案中，本文描述的

MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约7nM的K_D结合MUC16。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约10pM的K_D结合MUC16。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约15pM的K_D结合MUC16。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约20pM的K_D结合MUC16。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约25pM的K_D结合MUC16。在另一具体实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约65pM的K_D结合MUC16。如本文使用的，当用于修饰数值或数值范围时，术语“约”表示数值或数值范围的5%-10%以上和5%-10%以下偏差保留在引用数值或范围的所期望的含义内。

[0432] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133。在某些实施方案中，细胞是癌细胞(例如，卵巢癌细胞，肺癌细胞，胰腺癌细胞，乳腺癌细胞，输卵管癌细胞，子宫(例如，子宫内膜)癌细胞或原发性腹膜癌细胞)。在某些实施方案中，细胞是卵巢癌细胞。在某些实施方案中，细胞是肺癌细胞。在某些实施方案中，细胞是胰腺癌细胞。在某些实施方案中，细胞是乳腺癌细胞。在某些实施方案中，细胞是子宫(例如，子宫内膜)癌细胞。在某些实施方案中，细胞是输卵管癌细胞。在某些实施方案中，细胞是原发性腹膜癌细胞。在某些实施方案中，细胞是SKOV3细胞。在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133，其结合至少10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、250、500或1000倍高于同种型对照抗体结合细胞。同种型对照抗体是本领域公认的术语。在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133，其结合约10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、250、500或1000倍高于同种型对照抗体结合细胞。在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第一形式的MUC16的细胞，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133，其结合10-50、50-100、100-250、250-500或500-1000倍高于同种型对照抗体结合细胞。

[0433] 由SEQ ID NO:133的氨基酸序列编码的蛋白在本文中也称为$MUC16^{c114}$，其由成熟MUC16的C端114个氨基酸残基(SEQ ID NO:150为成熟MUC16的序列)组成。$MUC16^{c114}$能够在SEQ ID NO:133位点1、24和30的天冬酰胺氨基酸处N-糖基化(对应于SEQ ID NO:150的氨基酸位点Asn1777，Asn1800和Asn1806)。

[0434] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段不能免疫特异性结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139。在某些实施方案中，细胞是卵巢癌细胞。在某些实施方案中，细胞是肺癌细胞。在某些实施方案中，细胞是胰腺癌细胞。在某些实施方案中，细胞是乳腺癌细胞。在某些实施方案中，细胞是子宫(例如，子宫内膜)癌细胞。在某些实施方案中，细胞是输卵管癌细胞。在某些实施方案中，细胞是原发性腹膜癌细胞。在某些实施方案中，细胞是SKOV3细胞。在某些实施方案中，第二形式的MUC16融合至可检测蛋白，例如，如，绿色荧光蛋白或红色荧光蛋白。在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第二形式的MUC16的细胞，其第二形式是未糖基化的，且其中第二形式的氨基

酸序列是SEQ ID NO:139,其结合至多1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2、3、4或5倍高于同种型对照抗体结合细胞。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139,其结合约1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2、3、4或5倍高于同种型对照抗体结合细胞。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139,其结合0-1.1,1.1-1.5,1.5-3或3-5倍高于同种型对照抗体结合细胞。

[0435] 由SEQ ID NO:139的氨基酸序列编码的蛋白在本文中也称为$MUC16^{c114\text{-}N3}$。$MUC16^{c114\text{-}N3}$由成熟MUC16的C端114个氨基酸残基(SEQ ID NO:150为成熟MUC16的序列)组成,除了氨基酸位点30的天冬酰胺(对应SEQ ID NO:150氨基酸位点1806)被突变为丙氨酸。从而,$MUC16^{c114\text{-}N3}$不能在SEQ ID NO:139氨基酸位点30(对应SEQ ID NO:150的氨基酸位点Asn1806)被N-糖基化。

[0436] 在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139,其结合至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、30或40倍低于4H11结合细胞。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139,其结合约3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、30或40倍低于4H11结合细胞。在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合重组表达第二形式的MUC16的细胞,其第二形式是未糖基化的,且其中第二形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139,其结合3-5、5-10、10-20或20-40倍低于4H11结合细胞。

[0437] 用于确定本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段与细胞的结合的测定法,例如,如,FACs,是本领域技术人员已知的。参见,例如,第6.2节描述的方法。

[0438] 如本文使用的,“4H11”表示Rao等,Appl.Immunohistochem Mol Morphol,2010、18(5):462-72和国际专利申请公开号WO 2011/119979中的单克隆抗MUC16抗体4H11。

[0439] 在某些实施方案中,本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合一种肽,所述肽包含氨基酸序列CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130),其中CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)的4号氨基酸残基(N4)和10号氨基酸残基(N10)是糖基化的。在某些实施方案中,所述肽由氨基酸序列CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)组成,其中CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)的4号氨基酸残基(N4)和10号氨基酸残基(N10)是糖基化的。在某些实施方案中,糖基化包含N连接的壳二糖。在某些实施方案中,MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合一种肽,所述肽由氨基酸序列CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)组成,其中CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)的7号氨基酸残基(N7)是糖基化的。在某些实施方案中,所述肽包含氨基酸序列CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131),其中CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)的7号氨基酸残基(N7)是糖基化的。在某些实施方案中,糖基化包含N连接的壳二糖。在某些实施方案中,MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合肽混合物,其中肽混合物包含(a)第一肽,其包含氨基酸序列CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130),其中CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)的4号氨基酸残基(N4)和10号氨基酸残基(N10)是糖基化的和(b)第二肽,其包含氨基酸序列CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:

131)，其中CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)的7号氨基酸残基(N7)是糖基化的。在某些实施方案中，第一肽由氨基酸序列CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)组成，其中CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)的4号氨基酸残基(N4)和10号氨基酸残基(N10)是糖基化的。在某些实施方案中，第二肽由氨基酸序列CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)组成，其中CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)的7号氨基酸残基(N7)是糖基化的。在某些实施方案中，糖基化包含N连接的壳二糖。

[0440] 测定本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段与细胞的结合的测定法，例如，如，ELISA，是本领域技术人员已知的。参见，例如，第6.2节描述的方法。在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以相对于抗MUC16单克隆抗体4H11与肽结合的至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或30倍之多结合所述肽。在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以相对于抗MUC16单克隆抗体4H11与肽结合的约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或30倍之多结合所述肽。

[0441] 在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以低于$0.5x10^{-3}$/s、$1x10^{-3}$/s、$1.5x10^{-3}$/s、$2x10^{-3}$/s、$2.5x10^{-3}$/s、$3x10^{-3}$/s、$4x10^{-3}$/s、$5x10^{-3}$/s、$6x10^{-3}$/s、$7x10^{-3}$/s、$8x10^{-3}$/s、$9x10^{-3}$/s、$1x10^{-4}$/s、$2x10^{-4}$/s、$3x10^{-4}$/s、$4x10^{-4}$/s、$5x10^{-4}$/s、$6x10^{-4}$/s、$7x10^{-4}$/s或$8x10^{-4}$/s的k_d结合所述肽。在一些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$0.5x10^{-3}$/s、$1x10^{-3}$/s、$1.5x10^{-3}$/s、$2x10^{-3}$/s、$2.5x10^{-3}$/s、$3x10^{-3}$/s、$4x10^{-3}$/s、$5x10^{-3}$/s、$6x10^{-3}$/s、$7x10^{-3}$/s、$8x10^{-3}$/s、$9x10^{-3}$/s、$1x10^{-4}$/s、$2x10^{-4}$/s、$3x10^{-4}$/s、$4x10^{-4}$/s、$5x10^{-4}$/s、$6x10^{-4}$/s、$7x10^{-4}$/s或$8x10^{-4}$/s的k_d结合所述肽。在一些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$0.5x10^{-3}$/s-$8x10^{-4}$/s的k_d结合所述肽。

[0442] 在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以至少$2.5x10^{4}$/s、$3x10^{4}$/s、$3.5x10^{4}$/s、$4x10^{4}$/s、$4.5x10^{4}$/s、$5x10^{4}$/s、$5.5x10^{4}$/s、$6x10^{4}$/s、$6.5x10^{4}$/s、$7x10^{4}$/s、$7.5x10^{4}$/s、$8x10^{4}$/s、$9x10^{4}$/s或$9x10^{5}$/s的k_a结合所述肽。在一些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$2.5x10^{4}$/s、$3x10^{4}$/s、$3.5x10^{4}$/s、$4x10^{4}$/s、$4.5x10^{4}$/s、$5x10^{4}$/s、$5.5x10^{4}$/s、$6x10^{4}$/s、$6.5x10^{4}$/s、$7x10^{4}$/s、$7.5x10^{4}$/s、$8x10^{4}$/s、$9x10^{4}$/s或$9x10^{5}$/s的k_a结合所述肽of。在一些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约$2.5x10^{4}$/s-$9x10^{5}$/s的k_a结合所述肽。

[0443] 在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以低于1000nM、500nM、100nM、50nM、25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.5nM、0.1nM或0.05nM的k_D结合所述肽。在一些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约1000nM、500nM、100nM、50nM、25nM、20nM、15nM、10nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.5nM、0.1nM或0.05nM的k_D结合所述肽。在一些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以约500nM-1000nM的k_D结合所述肽。

[0444] 在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或抗原结合片段不能免疫特异性结合氨基酸序列CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)，其中CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)的4号氨基酸残基(N4)和10号氨基酸残基(N10)不是糖基化的。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段不能免疫特异性结合氨基酸序列CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)，其中CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)的7号氨基酸残基(N7)是糖基化的。在某

些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，不能免疫特异性结合肽混合物，其中所述肽混合物包含(a)第一肽，包含氨基酸序列CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)，其中CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)的4号氨基酸残基(N4)和10号氨基酸残基(N10)是糖基化的；和(b)第二肽，包含氨基酸序列CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)，其中CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)的7号氨基酸残基(N7)是糖基化的。

[0445] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段抑制重组表达一种形式的MUC16的体外基质胶侵袭细胞，该形式的MUC16是糖基化的，且其氨基酸序列是SEQ ID NO:133(MUC16^{c114})。在某些实施方案中，重组表达糖基化的MUC16^{c114}的细胞是SKOV3细胞。在某些实施方案中，糖基化形式的MUC16^{c114}是N-糖基化的。在某些实施方案中，糖基化形式的MUC16^{c114}在氨基酸残基Asn30(对应成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1806)处是N-糖基化的。在某些实施方案中，糖基化形式的MUC16^{c114}在氨基酸残基Asn 24和Asn30(分别对应成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1800和Asn1806)处是N-糖基化的。在某些实施方案中，糖基化形式的MUC16^{c114}在氨基酸残基Asn1，Asn24和Asn30(分别对应成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1777，Asn1800和Asn1806)处是N-糖基化的。在某些实施方案中，糖基化包含N连接的壳二糖。在某些实施方案中，糖基化由N连接的壳二糖组成。在某些实施方案中，与用对照抗体(例如，不靶向MUC16的抗体)或4H11处理的细胞的体外基质胶侵袭相比，基质胶侵袭被抑制至少1.25、1.5、1.75、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍。在某些实施方案中，与用对照抗体(例如，不靶向MUC16的抗体)或4H11处理的细胞的体外基质胶侵袭相比，基质胶侵袭被抑制约1.25、1.5、1.75、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍。

[0446] 测定MUC16糖基化抗体或抗原结合片段介导的基质胶侵袭的抑制的测定法是本领域技术人员已知的。参见例如第6.2节中描述的方法。例如，可以从BD Biosciences，MA购买BD BioCoat^{TM}Matrigel^{TM}侵袭插入物或室(24孔板中，目录#354480)和对照插入物(24孔板中，目录#354578)。基质胶侵袭分析可以按照制造商的方案进行。简言之，允许24孔板(-20℃储存)和对照插入物(4℃储存)的基质胶室达到室温。在24孔板的内部(insert)以及外部孔中将两种插入物用0.5mL无血清培养基在37℃5％CO_2加湿培养箱中再水化2小时。培养的SKOV3细胞被胰蛋白酶化并用培养基洗涤。将一百万个细胞分离至另一离心管并用无血清培养基洗涤3次。稍后调整这些细胞以在0.5mL无血清培养基中得到5,000个细胞。去除再水化插入物中的培养基，并将插入物转移到新的24孔板中，所述24孔板在孔中含有0.75mL的含10％胎牛血清(FBS)培养基，该培养基用作化学引诱剂。立即将0.5mL无血清培养基中的细胞(5,000个细胞)加入到插入物中。要适当注意，没有气泡被困在插入物和外部的孔中。将24孔板在37℃5％CO_2加湿培养箱中孵育48小时。孵育后，通过将棉花尖棉签插入基质胶或对照插入物中并轻轻地施加压力，同时将棉签的尖端移动到膜表面上，通过“擦洗”从膜的上表面去除非侵袭细胞。用浸有培养基的第二个棉签重复擦洗过程。然后将插入物在含有0.5％结晶紫染色剂的0.5mL蒸馏水中的新24孔板中染色30分钟。染色后，将插入物在3个蒸馏水烧瓶中冲洗以除去多余的染色剂。在新的24孔板中将插入物风干。在倒置显微镜下以200倍放大倍率手工计数侵袭细胞。计数三个平行膜的几个领域，并记录在图中。

[0447] 在某些实施方案中，本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段能够在小鼠模型研究中抑制或减少转移，抑制肿瘤生长或诱导肿瘤退化。例如，可以将肿瘤细胞系导入无胸腺裸鼠，并且可以对无胸腺小鼠施用本文所述的MUC16糖基化抗体一次或多次，并且可

以在几周和/或几个月内监测注射的肿瘤细胞的肿瘤进展。在一些情况下，将MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段给予无胸腺裸鼠可以在引入肿瘤细胞系之前进行。在某个实施方案中，表达$MUC16^{c114}$的SKOV3细胞被用于本文所述的小鼠异种移植模型。参见例如第6.2节和第6.3节。

[0448] 在具体的实施方案中，按照本文描述的或本领域技术人员已知的方法进行评价，与模拟物处理的小鼠相比，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段在小鼠模型中抑制肿瘤生长或诱导肿瘤退化至少约5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、98％、99％或100％。在具体的实施方案中，按照本文描述的或本领域技术人员已知的方法进行评价，与模拟物处理的小鼠相比，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段在小鼠模型中抑制肿瘤生长或诱导肿瘤退化至少约25％或35％、可选的约75％。在具体的实施方案中，按照本文描述的或本领域技术人员已知的方法进行评价，与模拟物处理的小鼠相比，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段在小鼠模型中抑制肿瘤生长或诱导肿瘤退化至少约1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。模拟物处理的小鼠可使用磷酸盐缓冲盐水或对照(例如，抗IgG抗体)进行处理。

[0449] 可以例如通过在一段时间内监测肿瘤大小，例如通过可触诊肿瘤的物理测量或其它视觉检测方法来评估确定肿瘤生长抑制或肿瘤退化。例如，可以产生肿瘤细胞系以重组表达例如绿色荧光蛋白(GFP)或荧光素酶等可视化试剂，然后可以通过显微镜进行GFP的体内可视化，以及可以通过向异种移植小鼠施用荧光素酶底物并检测由荧光素酶处理荧光素酶底物引起的发光进行荧光素酶的体内可视化。GFP或荧光素酶的检测程度或水平与异种移植小鼠中肿瘤的大小有关。

[0450] 在某些实施方案中，与模拟物处理的小鼠相比，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段能够增加肿瘤异种移植模型中动物的存活率。在具体的实施方案中，按照本文描述的或本领域技术人员已知的方法进行评价，与模拟物处理的小鼠相比，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段使肿瘤异种移植模型中动物的存活率增加至少约5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、98％或99％。在具体的实施方案中，按照本文描述的或本领域技术人员已知的方法进行评价，与模拟物处理的小鼠相比，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段使肿瘤异种移植模型中动物的存活率增加至少约25％或35％、可选的约75％。在具体的实施方案中，按照本文描述的或本领域技术人员已知的方法进行评价，与模拟物处理的小鼠相比，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段使肿瘤异种移植模型中动物的存活率增加至少约1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。可以通过例如在肿瘤细胞系注射后相对于时间(例如，天数或周数)标绘存活小鼠数量的存活曲线来测定存活率。模拟物处理的小鼠可使用磷酸盐缓冲盐水或对照(例如，抗IgG抗体)进行处理。

[0451] 在某些实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段在细胞与MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段接触时被内化入表达一种形式的MUC16的细胞，所述形

式的MUC16是糖基化的，且其氨基酸序列是SEQ ID NO:133(MUC16^{c114})。当指向一种被细胞内化的分子时，“内化的”或“内化”表示该与细胞膜的胞外表面接触的分子穿过细胞膜到达细胞膜的胞内表面和/或进入细胞质。在某些实施方案中，重组表达糖基化MUC16^{c114}的细胞是SKOV3细胞。在某些实施方案中，糖基化形式的MUC16^{c114}是N-糖基化的。在某些实施方案中，糖基化形式的MUC16^{c114}在氨基酸残基Asn30(对应成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1806)处N-糖基化。在某些实施方案中，糖基化形式的MUC16^{c114}在氨基酸残基Asn 24和Asn30(分别对应成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1800和Asn1806)处N-糖基化。在某些实施方案中，糖基化形式的MUC16^{c114}在氨基酸残基Asn1，Asn24和Asn30(分别对应成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1777，Asn1800和Asn1806)处N-糖基化。在某些实施方案中，糖基化包含N连接的壳二糖。在某些实施方案中，糖基化由N连接的壳二糖组成。

[0452] 确定本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段内化至细胞的测定法，例如，如使用放射性标记抗体是本领域技术人员已知的。参见例如第6.2节中描述的方法。例如，可以在表达MUC16^{c114}的SKOV3细胞上研究^{89}Zr标记的抗体的内化。简言之，将约1×10^5个细胞接种在12孔板中，并在37℃5％CO_2培养箱中温育过夜。向每个孔中加入一体积的放射性标记的蛋白质，并将板在37℃和4℃下孵育1,5,12和24小时。在每个孵育期后，收集培养基，并用1mL磷酸盐缓冲盐水(PBS)冲洗细胞。通过在4℃下用1mL的含100mM甘氨酸(1:1,pH3.5)的100mM乙酸中洗涤细胞来收集表面结合的活性。然后将粘附的细胞用1mL的1M NaOH裂解。收集每次的洗涤液并进行活性计数。使用最终洗涤液的活性与所有洗涤液的总活性的比例来确定内化的％。在某些实施方案中，测定在37℃下进行。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段在至少百分之1、2、3、5、6、7、8、9或10的与MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段一起孵育的细胞中内化。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段在约百分之1、2、3、5、6、7、8、9或10的与MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段一起孵育的细胞中内化。在某些实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段在细胞与MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段接触的1、2、3、4、8、12、16、20或24小时中内化。

[0453] 5.2抗体缀合物

[0454] 在优选的实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第Error!Reference source not found.节)不缀合至任何其它分子，例如有机部分，可检测标记或同位素。在可选实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节Error!Reference source not found.)缀合至一个或多个有机部分。在可选实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段缀合至一个或多个可检测标记。在可选实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段缀合至一个或多个同位素。

[0455] 5.2.1可检测标记和同位素

[0456] 在某些实施方案中，本文提供了MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节Error!Reference source not found.)缀合物，其中所述MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段缀合至一种或多种试剂，例如，显影剂或细胞毒性剂。本文还提供了双特异性抗体缀合物，其中所述双特异性抗体缀合至一种或多种试剂，例如，显影剂或细胞毒性剂。本文还提供了抗体重链缀合物，其中所述抗体重链缀合至一种或多种试剂，例如，显影剂或细胞毒性剂。本文还提供了抗体轻链缀合物，其中所述抗体轻链缀合至一种或多种试剂，例如，显

影剂或细胞毒性剂。本文还提供了融合蛋白缀合物，其中所述融合蛋白缀合一种试剂，例如，显影剂或细胞毒性剂。在某些实施方案中，试剂共价或非共价缀合。

[0457] 在某些实施方案中，成像剂是可检测标记，例如显色剂、酶剂、放射性同位素剂、同位素剂、荧光剂、毒性剂、化学发光剂、核磁共振造影剂或其它标记。

[0458] 合适的显色标记的非限制性实例包括二氨基联苯胺和4-羟基偶氮苯-2-羧酸。

[0459] 合适的酶标记的非限制性实例包括苹果酸脱氢酶、葡萄球菌核酸酶、δ-5-类固醇异构酶、酵母醇脱氢酶、α-甘油磷酸脱氢酶、磷酸丙糖异构酶、过氧化物酶、碱性磷酸酶、天冬酰胺酶、葡萄糖氧化酶、β-半乳糖苷酶、核糖核酸酶、脲酶、过氧化氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、葡糖淀粉酶和乙酰胆碱酯酶。

[0460] 合适的放射性同位素的非限制性实例包括^{3}H、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{32}P、^{35}S、^{14}C、^{51}Cr、^{57}To、^{58}Co、^{59}Fe、^{75}Se、^{152}Eu、^{90}Y、^{67}Cu、^{217}Ci、^{211}At、^{212}Pb、^{47}Sc、^{223}Ra、^{223}Ra、^{89}Zr、^{177}Lu和^{109}Pd。在某些实施方案中，^{111}In是用于体内成像的优选同位素，因为它避免了^{125}I或^{131}I标记的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段在肝脏中脱卤的问题。此外，^{111}In具有更有利的成像伽马发射能(Perkins等人，Eur.J.Nucl.Med.70:296-301(1985)；Carasquillo等，J.Nucl.Med.25:281-287(1987))。例如，与具有1-(P-异硫氰酸苄基)-DPTA的单克隆抗体偶联的^{111}In在非肿瘤组织，特别是肝脏中几乎没有摄取，因此增强了肿瘤定位的特异性(Esteban等，J.Nucl.Med.28:861-870(1987))。

[0461] 合适的非放射性同位素标记的非限制性实例包括^{157}Gd、^{55}Mn、^{162}Dy、^{52}Tr和^{56}Fe。

[0462] 合适的荧光标记的非限制性实例包括^{152}Eu标记、荧光素标记、异硫氰酸酯标记、罗丹明标记、藻红蛋白标记、藻蓝蛋白标记、别藻蓝蛋白标记、绿色荧光蛋白(GFP)标记、邻苯二甲醛标记和荧光胺标记。

[0463] 化学发光标记的非限制性实例包括鲁米诺标记、异亮氨酸标记、芳族吖啶酯标记、咪唑标记、吖啶盐标记、草酸酯标记、萤光素标记、荧光素酶标记和水母发光蛋白标记。

[0464] 核磁共振对比剂的非限制性实例包括重金属核，例如Gd、Mn和铁。

[0465] 本领域普通技术人员已知的用于将上述标记与所述MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体、抗体重链、抗体轻链和融合蛋白缀合的技术描述于例如，Kennedy等，Clin.CMm.Acta 70:1-31(1976)和Schurs等，Clin.CMm.Acta 81:1-40(1977)。后者所述的偶联技术是戊二醛法、高碘酸盐法、二马来酰亚胺法、间马来酰亚胺基苄基-N-羟基-琥珀酰亚胺酯法，所有这些方法均通过引用并入本文。

[0466] 细胞毒性剂的非限制性实例包括细胞抑制剂或杀细胞剂、放射性金属离子、例如α-发射体和毒素、例如假单胞菌外毒素、相思豆毒素、霍乱毒素、蓖麻毒蛋白A和白喉毒素。

[0467] 在某些实施方案中，所述试剂是诊断试剂。诊断试剂是通过定位含有抗原的细胞来诊断或检测疾病的试剂。有用的诊断剂包括但不限于放射性同位素、染料(例如具有生物素-链霉亲和素复合物)、对比剂、荧光化合物或分子以及用于磁共振成像(MRI)的增强剂(例如顺磁离子)。美国专利号6,331,175描述了MRI技术和与MRI增强剂缀合的抗体的制备，并通过引用整体并入本文。优选地，诊断剂选自放射性同位素，用于磁共振成像的增强剂和荧光化合物。为了用放射性金属或顺磁性离子负载MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，可能需要将其与具有长尾巴的试剂反应，后者附着多个螯合基团以结合离子。这样的尾巴可以是聚合物，例如聚赖氨酸，多糖或具有侧基的其它衍生化或可衍生的链，所述侧基可以结

合螯合基团，例如乙二胺四乙酸(EDTA)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、卟啉、聚胺、冠醚、双缩氨基硫脲、聚肟基等已知可用于该目的的基团。螯合剂使用标准化学与抗体偶联。螯合剂通常通过能够与分子形成键的基团与抗体连接，其具有最小的免疫反应性损失和最小聚集和/或内部交联，螯合剂与抗体缀合的其它更为不寻常的方法和试剂公开于1989年4月25日授权的题为“Antibody Conjugates”的Hawthorne的美国专利号4,824,659，其公开内容通过引用整体并入本文。特别有用的金属螯合剂组合包括2-苄基-DTPA及其单甲基和环已基类似物，与用于放射成像的诊断同位素一起使用。当与本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段一起使用时，当与非放射性金属如锰，铁和钆络合时，相同的螯合剂可用于MRI。大环螯合剂如NOTA，DOTA和TETA可分别用于各种金属和放射性金属，尤其是镓，钇和铜的放射性核素。通过将环尺寸调整(tailoring)适合感兴趣的金属，可以使这种金属-螯合剂复合物非常稳定。本文还包括用于稳定结合核素的其它环型螯合剂如大环聚醚如用于RAIT的^{223}Ra。

[0468] 在某些实施方案中，试剂是有机试剂。该有机试剂可以产生具有改善的药代动力学性质(例如体内血清半衰期增加)的缀合物。有机部分可以是亲水性聚合物基团，脂肪酸基团或脂肪酸酯基团。如本文所用，术语“脂肪酸”包括单羧酸和二羧酸。如本文所用，“亲水性聚合物基团”是指在水中比在辛烷中更可溶的有机聚合物，例如聚赖氨酸。适用于改性本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的亲水性聚合物可以是直链或支链的，包括例如聚链烷二醇(例如聚乙二醇、(PEG)、单甲氧基-聚乙二醇和聚丙二醇)、碳水化合物(例如葡聚糖、纤维素、寡糖和多糖)、亲水氨基酸的聚合物(例如聚赖氨酸、聚精氨酸和聚天冬氨酸)、聚烷氧化物(例如聚乙烯氧化物和聚丙烯氧化物)和聚乙烯吡咯烷酮。在某些实施方案中，修饰本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，双特异性抗体，抗体重链，抗体轻链或融合蛋白的亲水性聚合物作为一个单独的分子实体具有约800至约150,000道尔顿的分子量。例如可以使用PEG_{5000}和$PEG_{20,000}$、其中下标是道尔顿中聚合物的平均分子量。亲水性聚合基团可以被一至六个烷基、脂肪酸或脂肪酸酯基团取代。用脂肪酸或脂肪酸酯基取代的亲水性聚合物可以通过采用合适的方法制备。例如，包含胺基的聚合物可以与脂肪酸或脂肪酸酯的羧酸酯偶合，脂肪酸或脂肪酸酯上的活化的羧酸酯(例如，用N,N-羰基二咪唑活化)可以与聚合物上的羟基偶联。

[0469] 适于修饰本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，双特异性抗体，抗体重链，抗体轻链或融合蛋白的脂肪酸和脂肪酸酯可以是饱和的或可以含有一种或更多的不饱和单位。适于修饰本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，双特异性抗体，抗体重链，抗体轻链或融合蛋白的脂肪酸包括例如正十二烷酸盐、正十四烷酸盐、正十六烷酸盐、正二十烷酸盐、正二十烷酸盐、正三酸甘油酸盐、正四十烷酸盐、顺-δ-9-十八烷酸盐、所有顺式-δ-5,8,11,14-二十碳五烯酸酯、辛二酸、十四烷二酸、十八烷二酸、二十二烷二酸等。合适的脂肪酸酯包括含有直链或支链低级烷基的二羧酸单酯。低级烷基可包含1至约12个，优选1至约6个碳原子。

[0470] 本文提供的缀合物可以使用合适的方法制备，例如通过与一种或多种改性剂反应。如本文所用，“活化基团”是化学部分或官能团，其在适当条件下可与第二化学基团反应，从而在改性剂和第二化学基团之间形成共价键。例如，胺反应活化基团包括亲电子基团，例如甲苯磺酸酯、甲磺酸酯、卤素(氯、溴、氟、碘)、N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS)等。可以与

硫醇反应的活化基团包括例如马来酰亚胺、碘乙酰基、丙烯酰基、吡啶基二硫化物、5-硫醇-2-硝基苯甲酸硫醇(TNB-硫醇)等。醛官能团可以与含胺或酰肼的分子偶联,并且叠氮基可以与三价磷基反应形成氨基磷酸酯或磷酰亚胺键。将活化基团引入分子的合适方法是本领域已知的(参见例如Hernanson,G.T.,Bioconjugate Techniques,Academic Press:San Diego,Calif.(1996))。可以将活化基团直接键合到有机基团(例如亲水性聚合物,脂肪酸,脂肪酸酯)上或通过接头部分例如二价C_1-C_{12}基团键合,其中一个或多个碳原子可以被诸如氧,氮或硫的杂原子取代。合适的接头部分包括例如四甘醇,$(CH_2)_3$和NH。包含接头部分的修饰剂可以例如通过在1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳化二亚胺(EDC)的存在下使单Boc-烷基二胺(例如单Boc-乙二胺或单Boc-二氨基己烷)与脂肪酸反应来制备,以形成游离胺和脂肪酸羧酸酯之间的酰胺键。可以通过用三氟乙酸(TFA)处理将Boc保护基从产物中除去,以暴露可以如所述偶联至另一羧酸酯的伯胺,或者可以与马来酸酐反应,并将所得产物环化以产生活化的马来酰亚胺脂肪酸的衍生物。(参见例如Thompson等人,WO 92/16221,其全部教导通过引用并入本文)。

[0471] “改性剂”可以指包含活化基团的合适的有机基团(例如亲水聚合物,脂肪酸和脂肪酸酯)。例如,有机部分可以通过使用胺反应性改性剂,例如PEG的N-羟基琥珀酰亚胺酯,以非位点特异性方式与MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段结合。修饰的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段也可以通过将MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,双特异性抗体,抗体重链,抗体轻链或融合蛋白的二硫键(例如,链内二硫键)还原进行制备。然后可以将还原的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,双特异性抗体,抗体重链,抗体轻链或融合蛋白与硫醇反应性改性剂反应,以产生本文提供的缀合物。包含与本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的特定位点结合的有机部分的缀合物可以使用合适的方法制备,例如反向蛋白水解(Fisch等人,Bioconjugate Chem.,3:147-153(1992);Werlen等人,Bioconjugate Chem.,5:411-417(1994);Kumaran等人,Protein Sci.6(10):2233-2241(1997);Itoh等人,Bioorg.Chem.,24(1):59-68(1996);Capellas等人,Biotechnol.Bioeng.,56(4):456-463(1997))和Hermanson,GT,Bioconjugate Techniques,Academic Press:San Diego,Calif(1996)。

[0472] 5.3抗体生产

[0473] 5.3.1生产和筛选抗体

[0474] 在另一方面,本文提供了生产MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的方法(参见第Error!Reference source not found.节和第5.2节)。

[0475] 本文所述的抗体或其抗原结合片段可以通过本领域已知的用于合成抗体的任何方法来产生,例如通过化学合成或通过重组表达技术。除非另有说明,否则本文所述的方法在分子生物学、微生物学、遗传分析、重组DNA、有机化学、生物化学、PCR、寡核苷酸合成和修饰、核酸杂交和相关领域中均采用本领域的常规技术。这些技术描述于例如本文引用的参考文献中,并在文献中得到充分解释。参见,例如,Maniatis T等,(1982)Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Sambrook J等,(1989),Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Sambrook J等,(2001)Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,Ausubel FM等,

Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons(1987年,每年更新),Current Protocols in Immunology,John Wiley&Sons(1987年,每年更新)Gait(编)(1984)Oligonucleotide Synthesis:A Practical Approach,IRL Press,Eckstein(编)(1991)Oligonucleotides和Analogues:A Practical Approach,IRL Press,Birren B等,(编)(1999)Genome Analysis:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press。

[0476] 在具体实施方案中,本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段是通过任何方式制备,表达,产生或分离的抗体(例如,重组抗体),其涉及创建,例如通过合成,DNA序列遗传工程。在某些实施方案中,此类抗体包含由在动物或哺乳动物(例如人)体内的抗体种系谱中非天然存在的DNA序列编码的序列。在具体实施方案中,本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段通过包括使用糖基化形式的SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130和/或SEQ ID NO:131的方法制备。在具体实施方案中,SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130和/或SEQ ID NO:131的糖基化形式用一个或多个壳二糖进行糖基化。有关如何产生本文所述的抗体的详细描述参见第6.2节、第6.3节和第6.4节。

[0477] 在某一方面,本文提供了包含一个或多个糖基化位点的免疫原性糖肽,其中(i)免疫原性糖肽是10-60个氨基酸残基、10-30个氨基酸残基、15-25个氨基酸残基、15-20个氨基酸残基或15-18个氨基酸残基长和(ii)该一个或多个糖基化位点的至少一个连接碳水化合物。

[0478] 在一些实施方案中,免疫原性糖肽包含1、2或3个糖基化位点。在具体实施方案中,免疫原性糖肽包含一个糖基化位点。在另一具体实施方案中,免疫原性糖肽包含两个糖基化位点。

[0479] 在具体的实施方案中,免疫原性糖肽包含一个连接碳水化合物的糖基化位点。在具体的实施方案中,免疫原性糖肽包含两个分别连接碳水化合物的糖基化位点。

[0480] 与免疫原性糖肽的一个或多个糖基化位点连接的碳水化合物可以是N-连接的碳水化合物,O-连接的碳水化合物或C-连接的碳水化合物。N-连接的碳水化合物与天冬酰胺残基相连,是自然界中最常见的形式。大多数N-连接的碳水化合物与GlcNAc-β-Asn形式的肽连接。O-连接的碳水化合物连接到氨基酸羟基侧链(通常来自丝氨酸或苏氨酸)。大多数O-连接的碳水化合物与GlcNAc-β-Ser/Thr或GlcNAc-α-Ser/Thr形式的肽连接。C-连接的碳水化合物是指与色氨酸残基相连的甘露糖,是自然界中最少见的形式。在一个实施方案中,免疫原性糖肽中的碳水化合物是N-或O-连接的碳水化合物。在具体实施方案中,免疫原性糖肽中的碳水化合物是N-连接的碳水化合物。

[0481] 与免疫原性糖肽的一个或多个糖基化位点连接的碳水化合物可以是单糖、二糖、寡糖(例如三糖、四糖或五糖)或多糖。在某些实施方案中,碳水化合物是单糖、二糖、三糖、四糖或五糖。在具体实施方案中,碳水化合物是二糖。在具体实施方案中,二糖是壳二糖。在另一具体实施方案中,碳水化合物是$Man_3GlcNAc_2$。在具体的实施方案中,免疫原性糖肽的N端是乙酰化的。在具体的实施方案中,免疫原性糖肽的C端是N-甲基甲酰胺衍生物的形式。

[0482] 在某些实施方案中,免疫原性糖肽与免疫原性载体蛋白缀合。在大多数情况下,小抗原(例如短肽或小型半抗原)不足够复杂,不能诱导产生抗体。免疫原性载体蛋白由于其大的尺寸和复杂的结构,可赋予缀合的小抗原免疫原性,导致针对小抗原和免疫原性载体

蛋白上的表位产生抗体。因此，小抗原总是与免疫原性载体蛋白化学偶联，以加强免疫应答从而成功产生抗体。通常使用的免疫原性载体蛋白包括但不限于匙孔血蓝蛋白(KLH)，小脑泡藻血蓝蛋白(CCH)，牛血清白蛋白(BSA)和卵白蛋白(OVA)。在具体实施方案中，免疫原性糖肽与KLH缀合。KLH是属于一组称为血蓝蛋白的非血红蛋白的含铜多肽，它们在节肢动物和软体动物中被发现。KLH分离自锁孔帽贝(Megathura crenulata)。由于其与哺乳动物的进化距离，高分子量，复杂结构以及含有提供伯胺作为缀合目标的数百个赖氨酸基团的大表面，KLH是哺乳动物中具有极大免疫原性的和有效的载体蛋白。

[0483] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽是10-60个氨基酸残基长。在一些实施方案中，免疫原性糖肽是10-30个氨基酸残基长。在一些实施方案中，免疫原性糖肽是15-25个氨基酸残基长。在一些实施方案中，免疫原性糖肽是15-20个氨基酸残基长。在具体的实施方案中，免疫原性糖肽是15-18个氨基酸残基长。在该具体实施方案的一个特定方面，其中免疫原性糖肽是15-18个氨基酸残基长，免疫原性糖肽包含连接壳二糖的糖基化位点。在该具体实施方案的另一特定方面，其中免疫原性糖肽是15-18个氨基酸残基长，免疫原性糖肽包含分别连接壳二糖的两个糖基化位点。在具体实施方案中，免疫原性糖肽是55个氨基酸残基长。在该具体实施方案的一个特定方面，其中免疫原性糖肽是55个氨基酸残基长，免疫原性糖肽包含连接壳二糖的糖基化位点。在具体实施方案中，免疫原性糖肽是18个氨基酸残基长。在该具体实施方案的一个特定方面，其中免疫原性糖肽是18个氨基酸残基长，免疫原性糖肽包含分别连接壳二糖的两个糖基化位点。在另一具体实施方案中，免疫原性糖肽是15个氨基酸残基长。在该具体实施方案的一个特定方面，其中免疫原性糖肽是15个氨基酸残基长，免疫原性糖肽包含连接壳二糖的糖基化位点。

[0484] 在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的至少10个氨基酸部分，且该一个或多个糖基化位点的至少一个免疫原性糖肽位于所述氨基序列部分内。在某些其它实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的至少15、20、25或30个氨基酸部分，且该一个或多个糖基化位点的至少一个免疫原性糖肽位于所述氨基序列部分内。在具体的实施方案中，免疫原性糖肽是15-18个氨基酸残基长。在具体的实施方案中，免疫原性糖肽是55个氨基酸残基长。在具体的实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列。在具体实施方案中，免疫原性糖肽是55个氨基酸残基长并包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列。在具体实施方案中，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的免疫原性糖肽在第30位残基(Asn)包含连接壳二糖的糖基化位点。在另一具体实施方案中，包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的免疫原性糖肽在SEQ ID NO:129第30位残基(Asn)包含连接$Man_3GlcNAc_2$部分的糖基化位点。在具体的实施方案中，免疫原性糖肽是18个氨基酸残基长。在具体的实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列。在具体实施方案中，免疫原性糖肽是18个氨基酸残基长并包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列。在具体实施方案中，包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的免疫原性糖肽在第4位残基(Asn)和第10位残基(Asn)包含两个糖基化位点，其分别连接壳二糖。在具体的实施方案中，免疫原性糖肽是15个氨基酸残基长。在具体的实施方案中，免疫原性糖肽包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列。在具体实施方案中，免疫原性糖肽是15个氨基酸残基长并包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列。在具体实施方案中，包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的免疫原性糖肽在第7位残基(Asn)包含连接壳二糖的糖基化位点。

[0485] 在另一方面，本文提供了产生特异性结合糖蛋白的抗体或其抗原结合片段的方法，包括用包含如上所述一个或多个糖基化位点的免疫原性糖肽来免疫对象。在某些实施方案中，免疫原性糖肽包含糖蛋白氨基酸序列的至少10个氨基酸的部分且免疫原性糖肽的一个或多个糖基化位点的至少一个位于所述氨基酸序列部分之内。在其它某些实施方案中，免疫原性糖肽包含糖蛋白的至少15、20、25或30个氨基酸部分的氨基酸序列，且免疫原性糖肽的一个或多个糖基化位点的至少一个位于所述氨基酸序列部分之内。在具体实施方案中，糖蛋白包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列。在具体实施方案中，抗体或其抗原结合片段不能特异性结合非糖基化形式的糖蛋白。按照本文描述的方法免疫的对象可以是，但不限于，山羊、绵羊、驴、鸡、豚鼠、大鼠、兔或小鼠。在一些实施方案中，按照本文描述的方法免疫的对象是大鼠、兔或小鼠。在具体实施方案中，按照本文描述的方法免疫的对象是小鼠。对对象的免疫可以使用任何本领域已知方法进行，例如，通过对对象给予免疫原性糖肽和佐剂，如实施例2和实施例3所述(参见第6.2节和第6.3节)。

[0486] 在另一方面，本文还提供了制备本文所述的免疫原性糖肽的方法。在某些实施方案中，制备免疫原性糖肽的方法包括将本文所述的免疫原性糖肽的一个或多个糖基化位点与碳水化合物(例如，壳二糖)连接。在某些实施方案中，制备免疫原性糖肽的方法还包括合成肽部分。免疫原性糖肽的肽部分可以通过本领域已知的任何方法合成，例如通过如实施例2中所述的Fmoc固相肽合成(参见第6.2节)。在某些实施方案中，在合成免疫原性糖肽期间，一个或多个糖基化位点处的氨基酸(例如天冬酰胺)被保护基团保护。在一个具体的实施方案中，肽部分的仅一个天冬酰胺残基与碳水化合物(例如壳二糖)连接，天冬酰胺上的保护基是烯丙基。在另一具体实施方案中，肽部分的多于一个(例如两个)天冬酰胺残基各自与碳水化合物(例如，壳二糖)连接，天冬酰胺残基上的保护基是O-2-苯基异丙基酯(O-2-Phi Pr,OPp)。连接步骤可以通过本领域已知的任何方法进行。在优选的实施方案中，碳水化合物部分与肽部分连接，使用如实施例2所述的单烧瓶天冬氨酰化/去保护程序(参见第6.2.2.1节)。

[0487] 产生MUC16糖基化的方法本文所述的抗体或其抗原结合片段是本领域普通技术人员已知的，例如通过化学合成，通过从生物来源纯化，或通过重组表达技术，包括例如，来自哺乳动物细胞或转基因制剂。除非另有说明，否则本文所述的方法在分子生物学、微生物学、遗传分析、重组DNA、有机化学、生物化学、PCR、寡核苷酸合成和修饰、核酸杂交和相关领域中均采用本领域常规技术。这些技术例如在本文引用的参考文献中有描述，并在文献中得到充分解释。参见，例如，Maniatis等(1982)Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Sambrook等(1989),Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Sambrook等(2001)Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,Ausubel等,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons(1987年,每年更新),Current Protocols in Immunology,John Wiley&Sons(1987年,每年更新)Gait(编)(1984)Oligonucleotide Synthesis:A Practical Approach,IRL Press,Eckstein(编)(1991)Oligonucleotides和Analogues:A Practical Approach,IRL Press,Birren等(编)(1999)Genome Analysis:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press。

[0488] 本领域中存在用于产生本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的多种方法(参见第5.1节和第5.2节)。例如,MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可以通过重组DNA方法制备,例如美国专利号4,816,567中描述的方法。编码本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的一种或多种DNA可以容易地用常规方法分离和测序(例如,通过使用能够特异性结合编码鼠抗体的重链和轻链或来自人、人源化或其它来源的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)。一旦分离,可将DNA置于表达载体中,然后将其转化入宿主细胞如NSO细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、酵母细胞、藻类细胞、卵或骨髓瘤细胞中,其不会产生免疫球蛋白,以获得重组宿主细胞中MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的合成。也可以通过将编码所需物种的重链和轻链恒定区的序列替换为同源人序列(美国专利号4,816,567;Morrison等,同上)或通过将免疫球蛋白编码序列共价连接到全部或部分非免疫球蛋白多肽的编码序列来对DNA进行修饰。该非免疫球蛋白多肽可以替换为本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的恒定区。在某些实施方案中,DNA如第5.3.2节所述。

[0489] 还可以使用至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段编码多核苷酸来制备本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,以提供转基因动物或哺乳动物,例如山羊,牛,马,羊等,在其乳汁中产生这样的抗体。可以使用已知方法提供这样的动物。参见,例如,但不限于,美国专利号5,827,690、5,849,992、4,873,316、5,849,992、5,994,616、5,565,362、5,304,489等,其各自全文引入作为参考。

[0490] 在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可另外使用编码本文提供的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的多核苷酸进行制备,所述多核苷酸用于提供转基因植物,培养植物细胞(例如但不限于烟草和玉米),其在植物部分或在其中培养的细胞中产生此类抗体、特定部分或变体。作为非限制性实例,表达重组蛋白的转基因烟草叶已经成功地用于提供大量的重组蛋白,例如使用诱导型启动子。参见,例如,Curr.Top.Microbol.Immunol.240:95-118(1999)及其中引用的参考文献。此外,转基因玉米已被用于以商业生产水平表达哺乳动物蛋白质,其生物活性与其它重组体系中产生的或者从天然来源纯化的生物活性相当。参见例如Hood等,Adv.Exp.Med.Biol.464:127-147(1999)及其中引用的参考文献。抗体还大量产生自包括抗体片段如scFv的转基因植物种子,包括烟草种子和马铃薯块茎。参见,例如,Conrad等,Plant Mol.Biol.38:101-109(1998)及其中引用的参考文献。因此,MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段也可以使用转基因植物根据已知方法产生。另见,例如,Fischer等,Biotechnol.Appl.Biochem.30:99-108(1999年10月),Ma等,Trends Biotechnol.13:522-7(1995),Ma等,Plant Physiol.109:341-6(1995),Whitelam等,Biochem Soc.Trans.22:940-944(1994)及其中引用的参考文献。上述各参考文献全部并入本文作为参考。

[0491] 在某些实施方案中,本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可以使用本文提供的至少一种编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的多核苷酸来制备,以提供产生此类MUC16糖基化抗体或抗原结合片段的细菌。作为非限制性实例,表达重组蛋白的大肠杆菌已经成功地用于提供大量的重组蛋白。参见例如Verma等人,1998,216(1-2):165-181及其中引用的参考文献。

[0492] 制备多特异性(例如,双特异性抗体)的方法已有描述,参见,例如,美国专利号7,951,917、7,183,076、8,227,577、5,837,242、5,989,830、5,869,620、6,132,992和8,586,

713。

[0493] 在某些实施方案中，本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)被用于产生双特异性抗体。可以通过融合两个杂交瘤以产生具有两个结合位点的杂合免疫球蛋白分子来制备双特异性抗体。双特异性抗体不仅将肿瘤移植(handcuff)至T细胞，它们还交联T细胞上的CD3并启动激活级联。这样，基于T细胞受体的细胞毒性被重定向到绕过MHC限制的期望的肿瘤靶标。用抗CD3-抗-MUC16双特异性结合分子装入多克隆活化的T细胞(ATC)，组合了MUC16糖基化抗体的靶向特异性和T细胞的非MHC限制性穿孔素/颗粒酶介导的细胞毒性。双特异性结合分子BsAb或BiTE可以在输注到患者体内之前装备体外扩增的活化的T细胞。这种策略将每个ATC转换成特定的CTL(Thakur和Lum，2010，Curr Opin Mol Ther 12,340-349;Grabert等人，2006，Clin Cancer Res 12,569-576)。

[0494] 双特异性结合分子可以由MUC16糖基化抗体组成，其中MUC16糖基化抗体是免疫球蛋白，其中免疫球蛋白的每个轻链是融合蛋白，其中融合蛋白由免疫球蛋白轻链通过肽接头连接到靶向CD3的scFv。CH2结构域中的N297A突变导致糖基化，导致不存在FcR或Clq结合。

[0495] MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可用于产生CAR。CAR最通常包括单链可变区片段长度抗体(scFv)(例如来源于靶向给定肿瘤相关抗原和/或其变体的单克隆抗体的一种)，跨膜域(例如来源于T细胞表面分子，例如共刺激分子如CD8，CD28，OX-40和4-1BB的跨膜域)，TCR复合物的信号传导部分(例如TCRζ链的胞内结构域和/或附加部分，例如其细胞质信号结构域)。在具体实施方案中，本文所述的单克隆MUC16糖基化抗体的重链和轻链可变区从产生单克隆MUC16糖基化抗体的杂交瘤细胞系中分离。例如，从杂交瘤细胞系提取RNA，通过逆转录PCR从RNA产生cDNA。利用可变区特异性引物通过标准PCR克隆VH和VL链可变区。将得到的VH和VL片段亚克隆到穿梭载体，例如TopoTA PCR 2.1克隆载体(Invitrogen)中并进行测序。随后将VH和VL片段连接到$(Gly_4Ser)_3$间隔区，产生MUC16糖基化抗体scFv并通过重叠PCR与人CD8前导肽(CD8L)(CD8L-MUC16糖基化抗体scFv)融合(参见例如，Maher J等，Nat Biotechnol 2002;20(1):70-5;和Gong MC等人，Neoplasia 1999;1(2):123-7)。将CD8L-MUC16糖基化抗体scFv编码区融合到人CD8铰链和跨膜域，或者可选的与CD28跨膜和细胞质信号结构域融合，与T细胞受体CD3-ζ信号结构域融合(参见例如Maher J等，Nat Biotechnol 2002;20(1):70-5.，Brentjens RJ等，Nat Med 2003;9(3):279-86和Brentjens RJ等，Clin Cancer Res 2007;13(18Pt 1):5426-35)。

[0496] 本文还提供了表达本文所述的CAR的T细胞。用于产生表达CAR的T细胞的方法是本领域已知的。例如，CAR构建体可以亚克隆到经修饰的MMLV逆转录病毒载体SFG(参见，例如，Riviere I等，Proc Natl Acad Sci USA 1995;92(15):6733-7)或其它合适的逆转录病毒载体中。在一些实施方案中，逆转录病毒载体是慢病毒载体，例如基于HIV的载体。来源于转导的gpg29成纤维细胞的VSV-G假型逆转录病毒上清液可用于构建稳定的PG13长臂猿白血病病毒(GaLV)包封假型逆转录病毒产生细胞系(参见例如Gong MC等，Neoplasia 1999;1(2):123-7)。分离的健康供体外周血单核细胞(PBMC)可以以2μg/ml(Sigma，St.Louis，MO)的植物凝集素(PHA)活化，并在纤连蛋白包被的非组织培养板上逆转录病毒转导(Quintas-Cardama A等，Hum Gene Ther 2007;18(12):1253-60)以产生重组表达CAR的T细胞。可以通过FACS评估CAR进入T细胞的基因转移。

[0497] 单域抗体，例如，缺乏轻链的抗体，可以通过本领域熟知的方法产生。参见Riechmann L&Muyldermans S(1999)J Immunol 231:25-38,Nuttall SD等,(2000)Curr Pharm Biotechnol 1(3):253-263,Muyldermans S,(2001)J Biotechnol 74(4):277-302,美国专利号6,005,079和国际公开号WO 94/04678、WO 94/25591和WO 01/44301。

[0498] 在具体实施方案中，本文所述的结合与本文所述的MUC16糖基化抗体相同或重叠的表位的本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段是人MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段。在具体实施方案中，竞争性阻断(例如，以剂量依赖的方式)本文所述的任何一种抗体与MUC16结合的本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段是人MUC16糖基化抗体或抗原其结合片段。可以使用本领域已知的任何方法制备人抗体。例如，可以使用不能表达功能性内源免疫球蛋白，但可以表达人免疫球蛋白基因的转基因小鼠。特别地，可以将人重链和轻链免疫球蛋白基因复合物随机引入或通过同源重组引入小鼠胚胎干细胞。可选的，除人类重链和轻链基因之外，还可以将人可变区，恒定区和多样性区引入小鼠胚胎干细胞。小鼠重链和轻链免疫球蛋白基因可以通过同源重组引入人免疫球蛋白基因座而分开或同时进行非功能化。特别地，J_H区域的纯合缺失可防止内源性抗体产生。将修饰的胚胎干细胞扩增并显微注射到胚泡中以产生嵌合小鼠。然后繁殖嵌合小鼠以产生表达人抗体的纯合后代。转基因小鼠以正常方式用选定的抗原(例如全部或部分抗原)进行免疫。针对抗原的单克隆抗体可以使用常规杂交瘤技术从免疫的转基因小鼠获得。由转基因小鼠携带(harbored)的人类免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重排，随后进行类别转换和体细胞突变。因此，使用这种技术可以产生治疗上有用的IgG、IgA、IgM和IgE抗体。关于用于生产人抗体的该技术的概述，参见例如Lonberg N&Huszar D(1995)Int Rev Immunol 13:65-93。关于用于产生人抗体和人单克隆抗体的该技术的详细讨论和用于产生此类抗体的方案，参见例如国际公开号WO 98/24893、WO 96/34096和WO 96/33735和美国专利号5,413,923、5,625,126、5,633,425、5,569,825、5,661,016、5,545,806、5,814,318和5,939,598。能够产生人抗体的小鼠的实例包括Xenomouse™(Abgenix,Inc.,美国专利号6,075,181和6,150,184)、HuAb-Mouse™(Mederex,Inc./Gen Pharm,美国专利号5,545,806和5,569,825)、Trans Chromo Mouse™(Kirin)和KM Mouse™(Medarex/Kirin)。

[0499] 免疫特异性结合MUC16的人抗体可以通过本领域已知的多种方法制备，包括使用源自人免疫球蛋白序列的抗体文库所述的噬菌体展示方法。另见美国专利号4,444,887、4,716,111和5,885,793和国际公开号WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735和WO 91/10741。

[0500] 在一些实施方案中，可以使用小鼠-人杂交瘤产生人抗体。例如，用Epstein-Barr病毒(EBV)转化的人外周血淋巴细胞可以与小鼠骨髓瘤细胞融合以产生分泌人单克隆抗体的小鼠-人杂交瘤，并且可筛选这些小鼠-人杂交瘤以确定分泌免疫特异性结合靶抗原的人单克隆抗体的那些。这些方法是已知的并且在本领域中描述，参见例如Shinmoto H等,(2004)Cytotechnology 46:19-23;Naganawa Y等,(2005)Human Antibodies 14:27-31。

[0501] 在具体的实施方案中，产生免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段的方法描述于第6.2节，如下所示。

[0502] 在具体的实施方案中，筛选和选择免疫特异性结合MUC16的抗体或其抗原结合片段的方法描述于第6.2节，如下所示。

[0503] 一旦已经产生了本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，则可以通过本领域已知的用于纯化免疫球蛋白分子的任何方法纯化，例如通过色谱法(例如，离子交换，亲和层析，特别是通过蛋白A和尺寸排阻柱色谱法后对特异性抗原的亲和层析)，离心，差异溶解或通过任何其他用于纯化蛋白质的标准技术。此外，本文所述的抗体可以融合到本文所述的或本领域已知的异源多肽序列以促进纯化。

[0504] 在具体的实施方案中，本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段是分离的或纯化的。通常，分离的抗体是基本上不含与所分离的抗体具有不同抗原特异性的其它抗体的抗体。例如，在具体实施方案中，本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的制备基本上不含细胞材料和/或化学前体。“基本上不含细胞材料”的语言包括MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的制剂，其中将抗体与分离或重组产生所述抗体的细胞的细胞组分进行分离。因此，基本上不含细胞材料的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段包括具有小于约30％、20％、10％、5％、2％、1％、0.5％或0.1％(以干重计)的异源蛋白(本文也称为“污染性蛋白质”)和/或MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的变体(例如MUC16糖基化抗体或抗原结合片段的不同翻译后修饰形式或其它不同形式的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(例如，抗体片段))的抗体制剂。当重组产生抗体时，其通常也基本上不含培养基，即培养基代表小于蛋白质制剂体积的约20％、10％、2％、1％、0.5％或0.1％。当通过化学合成制备抗体时，其通常基本上不含化学前体或其它化学物质，即它与参与合成蛋白质的化学前体或其它化学物质分离。因此，抗体的这种制剂具有小于约30％、20％、10％或5％(以干重计)的除感兴趣的抗体之外的化学前体或化合物。在具体实施方案中，本文描述的抗体是分离的或纯化的。

[0505] 5.3.2多核苷酸

[0506] 在某些实施方案中，本文提供了包含编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列的多核苷酸(参见第5.1节和第5.2节)。本文还提供了包含这种多核苷酸的载体(参见第5.3.3节)。本文还提供编码本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的抗原的多核苷酸(参见第5.1节和第5.2节)。本文还提供了在严格或较低严格杂交条件下与编码本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的多核苷酸杂交的多核苷酸。

[0507] 语言“纯化的”包括具有小于约15％、10％、5％、2％、1％、0.5％或0.1％(特别是小于约10％)的其他材料的多核苷酸或核酸分子的制剂，例如细胞材料，培养基，其他核酸分子，化学前体和/或其它化学品。在具体实施方案中，编码本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第Error!Reference source not found.节和第5.2节)的核酸分子是分离的或纯化的。

[0508] 本文提供的核酸分子可以是RNA的形式，例如mRNA，hnRNA，tRNA或任何其它形式，或以DNA的形式，包括但不限于通过克隆或合成生产或其任何组合获得的cDNA和基因组DNA。DNA可以是三链，双链或单链，或其任何组合。DNA或RNA的至少一条链的任何部分可以是编码链，也称为有义链，或者它可以是非编码链，也称为反义链。

[0509] 在某些实施方案中，本文提供了一种多核苷酸，其包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第Error!Reference source not found.节和第5.2节)的核苷酸序列。

[0510] 在特定方面，本文还提供了包含编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第

5.1节和第5.2节)的核苷酸序列的多核苷酸,其免疫特异性结合MUC16,并且包含本文描述的氨基酸序列,以及与该MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段竞争结合MUC16的抗体,或者其与这些抗体结合相同的表位。

[0511] 本文提供的多核苷酸可以通过本领域已知的任何方法获得。例如,如果编码本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(见第5.1节和第5.2节)的核苷酸序列是已知的,则编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的多核苷酸可以由化学合成的寡核苷酸(例如,如Kutmeier等人,BioTechniques 17:242(1994)中所述)进行组装,其简要地涉及包含编码抗体的序列的部分的重叠寡核苷酸的合成,退火和那些寡核苷酸的连接,然后通过PCR扩增连接的寡核苷酸。

[0512] 可选的,编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的多核苷酸(参见第5.1节和第5.2节)可以从合适来源的核酸产生。如果含有编码特定MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核酸的克隆不可得,但MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的序列是已知的,则编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核酸可以通过化学合成获得或从合适的来源获得(例如,表达抗体的任何组织或细胞,例如选择用于表达本文提供的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的杂交瘤细胞,所产生的抗体cDNA文库或cDNA文库,或从表达抗体的任何组织或细胞中分离的核酸,优选的poly A+RNA),其中通过使用与序列的3'和5'末端杂交的合成引物进行PCR扩增或通过使用对特定基因序列特异性的寡核苷酸探针进行克隆,以鉴别例如来自编码抗体的cDNA文库的cDNA克隆。然后可以使用本领域熟知的任何方法将通过PCR产生的扩增的核酸克隆到可复制的克隆载体中(参见例如第5.3.3节)。

[0513] 在这样的实施方案中,编码这种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的多核苷酸可以使用本领域熟知的用于操作核苷酸序列的方法进行操作,例如重组DNA技术,定点诱变,PCR,等等(参见例如Sambrook等人,1990、Molecular Cloning,A Laboratory Manual,第2版,Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,N.Y.和Ausubel等编,1998,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,N.Y.,中描述的技术,其全部内容通过引用并入本文),以产生具有不同氨基酸序列的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,例如,以产生氨基酸取代,缺失和/或插入。例如,可以进行这种操作以使编码的氨基酸被糖基化,或破坏抗体结合C1q、Fc受体或激活补体系统的能力。

[0514] 本文提供的分离的核酸分子可包括包含开放阅读框(ORF)的核酸分子,任选具有一个或多个内含子,例如但不限于至少一个互补决定区(CDR)的至少一个特定部分,作为至少一个重链或轻链的CDR1,CDR2和/或CDR3;包含MUC16糖基化抗体或可变区的编码序列的核酸分子;和包含与上述基本上不同的核苷酸序列,但由于遗传密码的简并性,仍然编码如本文所述的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核酸分子。

[0515] 本文还提供了在选择性杂交条件下与本文公开的多核苷酸杂交的分离的核酸。因此,该实施方案的多核苷酸可用于分离,检测和/或定量包含此类多核苷酸的核酸。例如,本文提供的多核苷酸可用于鉴定,分离或扩增保藏的文库中的部分或全长克隆。在一些实施方案中,所述多核苷酸是与人或哺乳动物核酸文库的cDNA分离或以其它方式互补的基因组或cDNA序列。

[0516] 除了本文提供的多核苷酸之外,核酸可以方便地包括序列。例如,可以将包含一个或多个内切核酸酶限制性位点的多克隆位点插入到核酸中以有助于分离多核苷酸。此外,

可插入可翻译序列以帮助分离本文提供的翻译的多核苷酸。例如,六组氨酸标记序列提供了纯化本文提供的多肽的方便手段。本文提供的核酸(不包括编码序列)任选的用于克隆和/或表达本文提供的多核苷酸的载体,适配子或接头。

[0517] 另外的序列也可以加入到这样的克隆和/或表达序列中以优化它们在克隆和/或表达中的功能,以帮助分离多核苷酸,或改进将多核苷酸引入细胞。克隆载体,表达载体,适配子和接头的使用是本领域公知的。(参见例如Ausubel,同上;或Sambrook,同上)。

[0518] 在具体实施方案中,使用常规的重组DNA技术,本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的一个或多个CDR可以插入已知的框架区域内。框架区可以是天然存在的或共有的框架区,优选人框架区(参见例如Chothia等人,J.Mol.Biol.278:457-479(1998)的人框架区列表)。优选地,通过框架区和CDR的组合产生的多核苷酸编码免疫特异性结合MUC16的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段。可以在框架区内进行一个或多个氨基酸取代,优选地,氨基酸取代改善抗体与其抗原的结合。此外,这些方法可用于进行参与链内二硫键的一个或多个可变区半胱氨酸残基的氨基酸取代或缺失,以产生缺少一个或多个链内二硫键的抗体分子。在本文中并且在本领域的技术范围内提供了对多核苷酸的其它改变。

[0519] 在某些实施方案中,分离或纯化的核酸分子或其片段在与另一个核酸分子连接时可以编码融合蛋白。融合蛋白的产生在本领域的普通技术范围内,并且可以涉及使用限制酶或重组克隆技术(参见例如Gateway.TM..(Invitrogen))。另见美国专利号5,314,995。

[0520] 在某些实施方案中,本文提供的多核苷酸是如第5.3.3节所述的载体(例如,表达载体)的形式。

[0521] 在某些方面,本文提供了包含编码本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段或其抗原结合片段(例如,可变轻链区和/或可变重链区)的核苷酸序列的多核苷酸,其免疫特异性结合MUC16和载体,例如包含这样的多核苷酸的载体,用于在宿主细胞(例如,大肠杆菌和哺乳动物细胞)中有效表达。在一些实施方案中,多核苷酸是分离的或纯化的。

[0522] 如本文所用,“分离的”多核苷酸或核酸分子是与核酸分子的天然来源(例如,在小鼠或人中)存在的其它核酸分子分离的。此外,当通过重组技术产生时,“分离的”核酸分子,例如cDNA分子,可基本上不含其它细胞材料或培养基;或当采用化学合成时,其基本上不含化学前体或其它化学物质。例如,语言“基本上不含”包括具有小于约15%、10%、5%、2%、1%、0.5%或0.1%的其他材料的多核苷酸或核酸分子的制剂,例如细胞材料,培养基,其他核酸分子,化学前体和/或其它化学物质。

[0523] 在特定方面,本文提供了包含编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列的多核苷酸,并且包含本文所述的氨基酸序列,以及与此类抗体竞争结合MUC16的抗体(例如,以剂量依赖的方式),或者结合与该抗体相同或重叠表位的抗体。

[0524] 在某些方面,本文提供了包含编码本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的轻链或重链的核酸序列的多核苷酸。多核苷酸可以包含编码包含本文所述的VH CDR的重链的核苷酸序列(参见例如表1,表3和表5)。多核苷酸可以包含编码包含本文所述VL CDR的轻链的核苷酸序列(参见例如表2、表4和表6)。

[0525] 在具体实施方案中,本文提供了多核苷酸,其包含编码含有3个VH CDR的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,例如,含有如表1、表3或表5中所述的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码10C6、7B12、19C11、16C5和18C6共同序列VH

CDR的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105,或分别为SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111,或SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码10C6的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5,或分别为SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11,或分别为SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:17)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码7B12的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:25,或分别为SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:31,或分别为SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码19C11的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44和SEQ ID NO:45,或分别为SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50和SEQ ID NO:51,或分别为SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码16C5的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:65,或分别为SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:71,或分别为SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:77)。在具体的实施方案中,本文描述18C6的多核苷酸编码的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84和SEQ ID NO:85,或分别为SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90和SEQ ID NO:91,或分别为SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97)。

[0526] 在具体的实施方案中,本文提供了包含编码MUC16糖基化抗体的核苷酸序列的多核苷酸,所述MUC16糖基化抗体包含(a)3个VH CDR,例如,含有如表1、表3或表5中所述的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3和(b)3个VL链CDR,例如,含有如表2、表4或表6所述的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码(a)10C6、7B12、19C11、16C5和18C6共同序列VH CDR的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105,或分别为SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111,或SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117)和(b)10C6、7B12、19C11、16C5和18C6共同序列VL CDR的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3(即,分别为SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108,或分别为SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114,或SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码(a)10C6的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5,或分别为SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11,或分别为SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:17)和(b)10C6的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3(即,分别为SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8,或分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14,或分别为SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码(a)7B12的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:25,或分别为SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:31,或分别为SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37)和(b)7B12的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3(即,分别为SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28,或分别为SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34,或分别为SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39和SEQ ID NO:40)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码(a)19C11的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44和SEQ ID NO:45,或分别为SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50和

SEQ ID NO:51,或分别为SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57)和(b)19C11的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3(即,分别为SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47和SEQ ID NO:48,或分别为SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53和SEQ ID NO:54,或分别为SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码(a)16C5的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:65,或分别为SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:71,或分别为SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:77)和(b)16C5的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3(即,分别为SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67和SEQ ID NO:68,或分别为SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73和SEQ ID NO:74,或分别为SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:80)。在具体的实施方案中,本文描述的多核苷酸编码(a)18C6的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3(即,分别为SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84和SEQ ID NO:85,或分别为SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90和SEQ ID NO:91,或分别为SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97)和(b)18C6的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3(即,分别为SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87和SEQ ID NO:88,或分别为SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93和SEQ ID NO:94,或分别为SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100)。

[0527] 在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含含有本文描述的氨基酸序列的重链可变区(例如,SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:81或SEQ ID NO:101),其中抗体免疫特异性结合MUC16。

[0528] 在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含含有本文描述的氨基酸序列的轻链可变区(例如,SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:82或SEQ ID NO:102),其中抗体免疫特异性结合MUC16。

[0529] 在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列;和轻

链可变区,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体的核苷酸序列,所述MUC16糖基化抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列。

[0530] 在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸编码VH,后者包含SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:146或SEQ ID NO:148的核酸序列。在某些实施方案中,本文描述的多核苷酸编码VL,后者包含SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:147或SEQ ID NO:149的核酸序列。在具体实施方案中,本文描述的多核苷酸编码具有核酸序列SEQ ID NO:140的VH和具有核酸序列SEQ ID NO:141的VL(例如,10C6)。在具体实施方案中,本文描述的多核苷酸编码具有核酸序列SEQ ID NO:142的VH和具有核酸序列SEQ ID NO:143的VL(例如,7B12)。在具体实施方案中,本文描述的多核苷酸编码具有核酸序列SEQ ID NO:144的VH和具有核酸序列SEQ ID NO:145的VL(例如,19C11)。在具体实施方案中,本文描述的多核苷酸编码具有核酸序列SEQ ID NO:146的VH和具有核酸序列SEQ ID NO:147的VL(例如,16C5)。在具体实施方案中,本文描述的多核苷酸编码具有核酸序列SEQ ID NO:148的VH和具有核酸序列SEQ ID NO:149的VL(例如,18C6)。

[0531] 在具体的方面,本文提供了一种多核苷酸,其包含编码包含轻链和重链的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列,例如,单独的轻链和重链。对于重链,在具体实施方案中,本文提供的多核苷酸包含编码γ(例如,γ1,γ2,γ3或γ4)重链的核苷酸序列。在具体实施方案中,本文提供的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列,其中抗体包含重链,且其中重链可变区的氨基酸序列可包含任何SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:81或SEQ ID NO:101的氨基酸序列,且其中重链恒定区是人γ重链恒定区。

[0532] 对于轻链,在具体实施方案中,本文提供的多核苷酸包含编码κ轻链的核苷酸序列。在另一具体实施方案中,本文提供的多核苷酸包含编码λ轻链的核苷酸序列。在又一具体实施方案中,本文提供的多核苷酸包含编码本文描述的包含人κ轻链或人λ轻链的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列。在具体实施方案中,本文提供的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列,其中抗体包含轻链,且其中轻链可变区氨基酸序列可包含任何SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:82或SEQ ID NO:102的氨基酸序列,且其中轻链恒定区是人κ轻链恒定区。在另一具体实施方案中,本文提供的多核苷酸包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列,其中抗体包含轻链,其中轻链可变区氨基酸序列可包含任何SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:82或SEQ ID NO:102的氨基酸序列,且其中轻链恒定区是人λ轻链恒定区。

[0533] 对于产生本文描述的MUC16糖基化抗体的详细实施例,参见第6.2节和第6.3节。

[0534] 5.3.3细胞和载体

[0535] 在某些实施方案中,本文提供了表达(例如,重组表达)一个或多个MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第Error!Reference source not found.节和第5.2节)的细胞(例如,离体细胞)。本文还提供了包含编码本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列(参见,例如,第Error!Reference source not found.节)的载体(例如,表达

载体)，用于在宿主细胞中重组表达，优选在哺乳动物细胞中重组表达。本文还提供了包含该载体或核苷酸序列的细胞(例如，离体细胞)，用于重组表达本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段。本文还提供了用于生产本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的方法，包括从细胞(例如，离体细胞)中表达该MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段。在一个优选实施方案中，细胞是离体细胞。

[0536] 载体(例如，表达载体)是包含在细胞(例如离体细胞)中表达的基因的DNA分子。通常，将基因表达置于某些调节元件的控制下，包括组成型或诱导型启动子，组织特异性调节元件和增强子。将这样的基因称为与调节元件例如启动子“可操作地连接”。重组宿主可以是含有克隆载体或表达载体的任何原核或真核细胞。该术语还包括原核或真核细胞以及转基因动物，其被遗传工程化以在宿主细胞或宿主细胞(例如，离体细胞)的细胞的染色体或基因组中含有克隆的基因。在一个实施方案中，启动子是CMV启动子。

[0537] 在某些实施方案中，本文提供了包含如第5.3.2节所述的一种或多种多核苷酸的载体。在某些实施方案中，可以将第5.3.2节所述的多核苷酸克隆到合适的载体中，并可用于转化或转染任何合适的宿主。用于构建此类载体的载体和方法是本领域普通技术人员已知的，并且在一般技术参考文献中有所描述(参见，一般参见“Recombinant DNA Part D,” Methods in Enzymology,Vol.153,Wu和Grossman编,Academic Press(1987))。在某些实施方案中，载体包含调节序列，例如转录和翻译起始和终止密码子，其特异于待引入载体的宿主(例如细菌，真菌，植物，昆虫或哺乳动物)的类型，酌情考虑载体是DNA还是RNA。在某些实施方案中，载体包含特异于宿主属的调节序列。在某些实施方案中，载体包含特异于宿主种的调节序列。

[0538] 在某些实施方案中，载体包含一个或多个标记基因，其允许选择转化或转染的宿主。标记基因的非限制性实例包括杀生物剂抗性，例如抗生素，重金属等的抗性，营养缺陷型宿主中的互补以提供原养型等。在优选的实施方案中，载体包含氨苄青霉素和潮霉素选择标记。

[0539] 在某些实施方案中，表达载体可以包含与第5.3.2节所述的多核苷酸可操作地连接的天然或规范性启动子。启动子的选择，例如强，弱，可诱导，组织特异性和发育特异性，均在本领域技能范围内。类似地，如上所述的核酸分子或其片段与启动子的组合也在本领域的技能范围内。

[0540] 合适的载体的非限制性实例包括设计用于繁殖和扩增或用于表达或两者的那些。例如，克隆载体可以选自pUC系列，pBluescript系列(Stratagene,LaJolla,Calif.)，pET系列(Novagen,Madison,Wis.)，pGEX系列(Pharmacia Biotech,Uppsala,瑞典)和pEX系列(Clontech,Palo Alto,Calif.)。还可以使用噬菌体载体，如λ-GT10、λ-GT11，λ-ZapII(Stratagene)，λ-EMBL4和λ-NM1149。植物表达载体的非限制性实例包括pBI110、pBI101.2，pBI101.3，pBI121和pBIN19(Clontech)。动物表达载体的非限制性实例包括pEUK-C1，pMAM和pMAMneo(Clontech)。也可以根据制造商的建议使用TOPO克隆系统(Invitrogen，Carlsbad,Calif)。

[0541] 在某些实施方案中，载体是哺乳动物载体。在某些实施方案中，哺乳动物载体含有至少一个启动子元件，其介导mRNA，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的编码序列，以及转录终止和转录多聚腺苷酸化所需的信号的转录起始。在某些实施方案中，哺乳动物载体

包含另外的元件,例如增强子,Kozak序列和两侧为用于RNA剪接的供体和受体位点的插入序列。在某些实施方案中,可以使用例如来自SV40的早期和晚期启动子,来自逆转录病毒的长末端重复序列(LTRS)例如RSV、HTLVI,HIVI和巨细胞病毒(CMV)的早期启动子达到高效转录。然而,也可以使用细胞元件(例如,人肌动蛋白启动子)。哺乳动物表达载体的非限制性实例包括载体,例如pIRESlneo,pRetro-Off,pRetro-On,PLXSN或pLNCX(Clonetech Labs,Palo Alto,Calif.),pcDNA3.1(+/-),pcDNA/Zeo(+/-)或pcDNA3.1/Hygro(+/-)(Invitrogen),PSVL和PMSG(Pharmacia,Uppsala,Sweden),pRSVcat(ATCC37152),pSV2dhfr(ATCC 37146)和pBC12MI(ATCC 67109)。可以与这些哺乳动物载体组合使用的哺乳动物宿主细胞的非限制性实例包括人Hela 293,H9和Jurkat细胞,小鼠NIH3T3和C127细胞,Cos 1,Cos 7和CV 1,鹌鹑QC1-3细胞,小鼠L细胞和中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

[0542] 在某些实施方案中,载体是病毒载体,例如逆转录病毒载体,基于细小病毒的载体,例如基于腺相关病毒(AAV)的载体,AAV-腺病毒嵌合载体和基于腺病毒的载体,和慢病毒载体,例如基于单纯疱疹(HSV)的载体。在某些实施方案中,操纵病毒载体以使病毒复制缺陷。在某些实施方案中,操作病毒载体以消除对宿主的毒性。这些病毒载体可以使用例如Sambrook等人,Molecular Cloning,a Laboratory Manual,第二版,Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harbor,N.Y.(1989);和Ausubel等人,Current Protocols in Molecular Biology,Greene Publishing Associates和John Wiley&Sons,New York,N.Y.(1994)中所述的标准重组DNA技术来制备。

[0543] 在某些实施方案中,本文所述的载体或多核苷酸可以通过常规技术转移至细胞(例如,离体细胞),并且所得细胞可以通过常规技术培养以产生MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段。因此,本文提供的是包含编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,其重链或轻链或其轻链融合多肽的多核苷酸的细胞,其可操作地连接到用于在宿主细胞中表达此类序列的启动子。在某些实施方案中,编码可操作地连接到启动子的重链的载体和编码可操作地连接到启动子的轻链的载体可以在细胞中共表达,用于表达整个MUC16糖基化抗体。在某些实施方案中,编码可操作地连接到启动子的重链的载体和编码可操作地连接到启动子的轻链融合多肽的载体可以在细胞中共表达以表达整个双特异性结合分子。在某些实施方案中,细胞包含载体,其包含编码与启动子可操作地连接的本文所述的MUC16糖基化抗体的重链和轻链多肽的多核苷酸。在某些实施方案中,细胞包含载体,所述载体包含编码与启动子可操作地连接的本文描述的双特异性结合分子的重链和轻链融合多肽的多核苷酸。在某些实施方案中,细胞包含两种不同的载体,包含编码与启动子可操作地连接的重链的多核苷酸的第一载体,和包含编码与启动子可操作地连接的轻链多肽的多核苷酸的第二载体。在某些实施方案中,细胞包含两种不同的载体,包含编码与启动子可操作地连接的重链的多核苷酸的第一载体,和包含编码与启动子可操作地连接的轻链融合多肽的多核苷酸的第二载体。在某些实施方案中,第一细胞包含第一载体,其包含编码本文所述的MUC16糖基化抗体的重链的多核苷酸,第二细胞包含第二载体,其包含编码本文所述的MUC16糖基化抗体的轻链多肽的多核苷酸。在某些实施方案中,本文提供了包含该第一细胞和该第二细胞的细胞混合物。在某些实施方案中,第一细胞包含第一载体,其包含编码本文所述的双特异性结合分子的重链的多核苷酸,第二细胞包含第二载体,其包含编码本文所述的双特异性结合分子的轻链融合多肽的多核苷酸。在某些实施方案中,本文提供了包含该第一细胞和该第

二细胞的细胞混合物。在优选的实施方案中，细胞表达载体或载体，使得寡核苷酸被细胞有效转录和翻译。

[0544] 在实施方案中，细胞表达载体，从而寡核苷酸或其片段被细胞有效转录和翻译。

[0545] 在某些实施方案中，细胞存在于宿主中，宿主可以是动物，例如哺乳动物。细胞的实例包括但不限于人细胞、人细胞系、大肠杆菌(例如大肠杆菌TB-1、TG-2、DH5a、XL-Blue MRF'(Stratagene)、SA2821和Y1090)、枯草芽孢杆菌(B.subtilis)、铜绿假单胞菌(P.aerugenosa)、酿酒酵母(S.cerevisiae)、粗糙脉孢菌(N.crassa)、昆虫细胞(例如Sf9、Ea4)下文所述的其它细胞。在优选的实施方案中，细胞是CHO细胞。在特别优选的实施方案中，细胞是CHO-S细胞。

[0546] 在某些实施方案中，本文所述的多核苷酸可以通过将多核苷酸引入细胞而在包含整合到染色体中的多核苷酸的稳定细胞系中表达。在某些实施方案中，通过例如电穿孔将多核苷酸引入细胞。在某些实施方案中，通过例如将包含多核苷酸的载体转染到细胞中将多核苷酸引入细胞。在某些实施方案中，载体用选择性标记如DHFR，GPT，新霉素或潮霉素共转染，以允许鉴定和分离转染的细胞。在某些实施方案中，也可以扩增所转染的多核苷酸以表达大量的编码的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段。例如，DHFR(二氢叶酸还原酶)标记可用于开发携带数百或甚至数千拷贝目标多核苷酸的细胞系。选择标记的另一个实例是酶谷氨酰胺合成酶(GS)(Murphy等，Biochem.J.227:277-279(1991)，Bebbington等，Bio/Technology10:169-175(1992))。使用这些标记物，细胞在选择性培养基中生长，并选出具有最高抗性的细胞。这些细胞系含有整合到染色体中的扩增基因。中国仓鼠卵巢(CHO)和NSO细胞常用于生产抗体。

[0547] 在一个实施方案中，载体包含(i)编码结合MUC16的免疫球蛋白轻链的第一多核苷酸序列，其可操作地连接到第一启动子和(ii)编码结合MUC16的免疫球蛋白重链的第二多核苷酸，其可操作地连接到第二启动子。在某些实施方案中，载体是病毒载体。

[0548] 在一个实施方案中，载体包含(i)可操作地连接到第一启动子的编码轻链融合多肽的第一多核苷酸序列，其包含通过肽接头与scFv融合的免疫球蛋白轻链，其中轻链结合MUC16，其中scFv结合CD3，和(ii)可操作地连接到第二启动子的编码结合MUC16的免疫球蛋白重链的第二多核苷酸。在某些实施方案中，载体是病毒载体。

[0549] 5.4药物组合物

[0550] 在某些实施方案中，本文提供了包含药学有效量的一种或多种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)的组合物(例如药物组合物)和试剂盒。在某些实施方案中，药物组合物包含免疫细胞，例如T细胞，其重组表达本文所述的抗体、其抗原结合片段和/或CAR。组合物可用于制备单个单一剂量形式。本文提供的组合物可以配制用于胃肠外、皮下、肌内、静脉内、关节内、支气管内、腹内、囊内、软骨内、腔内、体腔内、小脑内、脑室内、Ommaya内、眼内、玻璃体内、结肠内、颈管内、胃内、肝内、心肌内、骨内、骨盆内、心包内、腹膜内、胸膜内、前列腺内、肺内、直肠内、肾内、视网膜内、脊柱内、滑膜内、胸廓内、子宫内、膀胱内、大丸、阴道、直肠、口腔、舌下、鼻内、囊内、脑心室内、脑薄壁组织内或透皮给药。在优选的实施方案中，将组合物配制成肠胃外给药。在特别优选的实施方案中，将组合物配制用于静脉内给药。在优选的实施方案中，将组合物配制用于腹膜内给药。在具体实施方案中，将组合物配制用于腹膜内给药以治疗腹膜转移。在优选的实施方案中，将组合物配制用

于鞘内给药。在具体实施方案中，将组合物配制用于鞘内施用以治疗脑转移。参见例如Kramer等，2010、97:409-418。在优选的实施方案中，将组合物配制用于脑部脑室内给药。在具体实施方案中，将组合物配制用于心室内给药以治疗脑转移。参见例如Kramer等，2010，97:409-418。在优选的实施方案中，将组合物配制成用于脑内实施内给药。在具体实施方案中，将组合物配制用于薄壁组织内施用以治疗脑肿瘤或脑肿瘤转移。参见例如Luther等人，2014，Neuro Oncol，16:800-806和Clinical Trial ID NO NCT01502917。

[0551] 在具体实施方案中，将组合物配制用于腹膜内给药用于腹膜转移。

[0552] 在某些实施方案中，本文提供了包含一种或多种包含编码本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列的多核苷酸的组合物。在某些实施方案中，本文提供了包含细胞的组合物，其中所述细胞包含一种或多种包含编码本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列的多核苷酸。在某些实施方案中，本文提供了包含载体的组合物，其中所述载体包含一种或多种包含编码本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列的多核苷酸。在某些实施方案中，本文提供的是包含细胞的组合物，其中所述细胞包含载体，其中所述载体包含一种或多种包含本文所述的编码MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的核苷酸序列的多核苷酸。

[0553] 在某些实施方案中，本文所述的组合物是稳定或保存的制剂。在某些实施方案中，稳定的制剂包含具有盐水或选择的盐的磷酸盐缓冲液。在某些实施方案中，所描述的组合物是适用于药物或兽医用途的多用途保藏制剂。在某些实施方案中，本文所述的组合物包含防腐剂。本领域普通技术人员已知防腐剂。防腐剂的非限制性实例包括苯酚，间甲酚，对甲酚，邻甲酚，氯甲酚，苄醇，亚硝酸苯汞，苯氧基乙醇，甲醛，氯丁醇，氯化镁(例如六水合物)，对羟基苯甲酸烷基酯(甲基，乙基，丙基，丁基等)，苯扎氯铵，苄索氯铵和脱氢乙酸钠和硫柳汞，或它们在水性稀释剂中的混合物。可以使用本领域已知的任何合适的浓度或混合物，例如0.001-5％或其中的任何范围或值，例如但不限于0.001、0.003、0.005、0.009、0.01、0.02、0.03、0.05、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.3、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9或其中的任何范围或值。非限制性示例包括，无防腐剂、0.1-2％间甲酚(例如0.2、0.3.0.4、0.5、0.9、1.0％)、0.1-3％苯甲醇(例如0.5、0.9、1.1、1.5、1.9、2.0、2.5％)、0.001-0.5％硫柳汞(例如0.005、0.01)、0.001-2.0％苯酚(例如0.05、0.25、0.28、0.5、0.9、1.0％)、0.0005-1.0％对羟基苯甲酸烷基酯(例如0.00075、0.0009、0.001、0.002、0.005、0.0075、0.009、0.01、0.02、0.05、0.075、0.09、0.1、0.2、0.3、0.5、0.75、0.9、1.0％)等。

[0554] 有时可能期望将本文提供的组合物长时间地递送到对象，例如从单次给药递送一周至一年或更长时间。可以使用各种缓释、贮存(depot)或植入剂型。例如，剂型可以含有在体液中具有低溶解度的化合物的药学上可接受的无毒盐，例如(a)与多元酸如磷酸、硫酸、柠檬酸、酒石酸、丹宁酸、双羟萘酸、藻酸、聚谷氨酸、萘单磺酸或二磺酸、聚半乳糖醛酸等的酸加成盐；(b)与多价金属阳离子如锌、钙、铋、钡、镁、铝、铜、钴、镍、镉等的盐，或与有机阳离子例如N,N'-二苄基乙二胺或乙二胺的盐；或(c)(a)和(b)的组合，例如单宁酸锌盐。此外，本文提供的组合物，优选相对不溶性的盐，例如刚刚描述的那些，可以配制成凝胶，例如适用于注射的具有例如芝麻油的单硬脂酸铝凝胶。特别优选的盐是锌盐、单宁酸锌盐、双羟

萘酸盐等。用于注射的另一种类型的缓释贮存制剂将含有分散用于包封在缓慢降解，无毒，非抗原性聚合物如聚乳酸/聚乙醇酸聚合物中的化合物或盐，例如美国专利号3,773,919中描述的。化合物或优选的相对不溶性的盐，如上述那些，也可以配制在胆固醇基质硅橡胶微丸中，特别是用于动物。文献(美国专利号5,770,222和"Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems"，J.R.Robinson编，Marcel Dekker，Inc.，N.Y.，1978)中已知另外的缓释、贮存或植入组合物，例如气体或液体脂质体。

[0555] 本文提供的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段组合物(参见第5.1节和第5.2节)的范围包括在重构时产生的量，如果在湿/干系统中，浓度为约1.0微克/毫升至约1000毫克/毫升，尽管较低和较高的浓度是可操作的并且取决于预期的递送载体，例如，溶液制剂将不同于透皮贴剂、肺、经粘膜或渗透或微泵方法。

[0556] 在某些实施方案中，本文提供的组合物包含任何合适的辅助剂，例如但不限于稀释剂、粘合剂、稳定剂、缓冲剂、盐、亲脂性溶剂、防腐剂、佐剂等中的至少一种。在某些实施方案中，优选药学上可接受的助剂。制备这种无菌溶液的非限制性实例和方法是本领域公知的，例如但不限于，Gennaro编，Remington's Pharmaceutical Sciences，第18版，Mack Publishing Co.(Easton，Pa.)。可以常规选择适合本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的施用方式，溶解度和/或稳定性的药学上可接受的载体。

[0557] 在某些实施方案中，本文提供的组合物含有一种或多种药物赋形剂和/或添加剂。药物赋形剂和添加剂的非限制性实例是蛋白质、肽、氨基酸、脂质和碳水化合物(例如，糖、包括单糖、二、三、四和寡糖；衍生糖如糖醇、醛糖酸、酯化糖等；和多糖或糖聚合物)，其可以单独或组合存在，包含单独或组合的1-99.99％的重量或体积。蛋白质赋形剂的非限制性实例包括血清白蛋白，例如人血清白蛋白(HSA)、重组人白蛋白(rHA)、明胶、酪蛋白等。氨基酸/抗体组分也可以起缓冲作用的非限制性实例包括丙氨酸、甘氨酸、精氨酸、甜菜碱、组氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、阿斯巴甜等。在某些实施方案中，氨基酸是甘氨酸。碳水化合物赋形剂的非限制性实例包括单糖，例如果糖、麦芽糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、山梨糖等；二糖，如乳糖、蔗糖、海藻糖、纤维二糖等；多糖，如棉子糖、松三糖、麦芽糖糊精，葡聚糖、淀粉等；和糖醇，如甘露糖醇、木糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、木糖醇山梨醇(葡萄糖醇)、肌醇等。在某些实施方案中，碳水化合物赋形剂是甘露糖醇、海藻糖或棉子糖。

[0558] 在某些实施方案中，本文提供的组合物包括一种或多种缓冲液或pH调节剂；通常，缓冲液是由有机酸或碱制备的盐。缓冲剂的非限制性实例包括有机酸盐，例如柠檬酸、抗坏血酸、葡萄糖酸、碳酸、酒石酸、琥珀酸、乙酸或邻苯二甲酸的盐；Tris，氨丁三醇盐酸盐或磷酸盐缓冲液。在某些实施方案中，缓冲液是有机酸盐，例如柠檬酸盐。其它赋形剂，例如等渗剂、缓冲剂、抗氧化剂、防腐增强剂，可以任选和优选加入到稀释剂中。通常在已知浓度下使用等渗剂如甘油。优选加入生理上耐受的缓冲液以提供改善的pH控制。组合物可以覆盖宽范围的pH，例如约pH 4至约pH 10、优选范围为约pH 5至约pH 9，最优选范围为约6.0至约8.0。优选地，本文提供的组合物的pH在约6.8和约7.8之间。优选的缓冲液包括磷酸盐缓冲液，最优选磷酸钠，特别是磷酸盐缓冲盐水(PBS)。

[0559] 在某些实施方案中，本文提供的组合物包括一种或多种聚合物赋形剂/添加剂，例如聚乙烯吡咯烷酮、多糖(聚合糖)、糊精(例如环糊精，例如2-羟基丙基-β-环糊精)、聚乙二

醇、调味剂、抗微生物剂、甜味剂、抗氧化剂、抗静电剂、表面活性剂(例如聚山梨酸酯如“TWEEN 20”和“TWEEN 80”)、脂质(例如磷脂、脂肪酸)、类固醇、胆固醇)和/或螯合剂(例如EDTA)。

[0560] 其它添加剂,例如药学上可接受的助溶剂如吐温20(聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单月桂酸酯)、吐温40(聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单棕榈酸酯)、吐温80(聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单油酸酯)、Pluronic F68(聚氧乙烯聚氧丙烯嵌段共聚物)和PEG(聚乙二醇)或非离子表面活性剂如聚山梨醇酯20或80或泊洛沙姆184或188、Pluronic.RTM.聚醚,其它嵌段共聚物和螯合剂如EDTA和EGTA可以任选加入到组合物中以减少聚集。如果使用泵或塑料容器来施用组合物,这些添加剂是特别有用的。药学上可接受的表面活性剂的存在减轻了蛋白质聚集的倾向。

[0561] 适用于本文提供的组合物的另外的药物赋形剂和/或添加剂是本领域技术人员已知的,并且参考例如“Remington:The Science&Practice of Pharmacy”,第19版,Williams&Williams,(1995)和“Physician's Desk Reference”,第52版,Medical Economics,Montvale,N.J.(1998),其全部内容通过引用并入本文。在某些优选实施方案中,载体或赋形剂材料是碳水化合物(例如糖和糖醇)和缓冲液(例如柠檬酸盐)或聚合物。

[0562] 优选地,水性稀释剂任选地还包含药学上可接受的防腐剂。优选的防腐剂包括选自苯酚、间甲酚、对甲酚、邻甲酚、氯甲酚、苄醇、对羟基苯甲酸烷基酯(甲基、乙基、丙基、丁基等)、苯扎氯铵、苄索氯铵、脱水乙酸酯和硫柳汞、或其混合物的那些。组合物中使用的防腐剂的浓度是足以产生抗微生物作用的浓度。这样的浓度取决于所选择的防腐剂,并且是本领域技术人员容易确定的。

[0563] 本文提供的组合物可以通过包括在水性稀释剂中混合本文所述的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)和选自以下的防腐剂的方法制备:苯酚、间甲酚、对甲酚、邻甲酚、氯甲酚、苄醇、对羟基苯甲酸烷基酯(甲基、乙基、丙基、丁基等)、苯扎氯铵、苄索氯铵、脱氢乙酸钠和硫柳汞或其混合物。使用常规的溶解和混合程序将本文所述的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段与水性稀释剂中的防腐剂混合。为了制备合适的组合物,例如,将缓冲溶液中实测量的至少一种本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段与缓冲溶液中的所需防腐剂组合,其量足以提供本文所述的MUC16糖基化抗体或抗原结合片段和所需浓度的防腐剂。本文提供的组合物可以通过包括混合本文所述的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段和选择的缓冲液,优选含有盐水或选择的盐的磷酸盐缓冲液的方法来制备。使用常规溶解和混合程序将本文所述的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段与水性稀释液中的缓冲液混合。为了制备合适的组合物,例如将在水或缓冲液中实测量的至少一种本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段与所需的缓冲剂水溶液合并,其量足以提供蛋白质和缓冲液所需浓度。这些方法的变化将由本领域普通技术人员认识到。例如,添加组分的顺序,是否使用其他添加剂,制备组合物的温度和pH都是可以针对所用浓度和给药方式进行优化的因素。

[0564] 5.4.1肠胃外剂型

[0565] 在某些实施方案中,本文提供的组合物被配制用于肠胃外可注射给药。如本文所用,术语“肠胃外”包括静脉内、血管内、肌内、皮内、皮下和眼内。对于肠胃外给药,组合物可以配制成溶液、悬浮液、乳剂或冻干粉末,其与药学上可接受的肠胃外载体联合或者单独提

供。这种载体的非限制性实例是水、盐水、林格氏溶液、葡萄糖溶液、甘油、乙醇和1-10％人血清白蛋白。还可以使用脂质体和非水性载体如固定油。载体或冻干粉末可以含有保持等渗性(例如氯化钠、甘露醇)和化学稳定性(例如缓冲剂和防腐剂)的添加剂。制剂通过已知或合适的技术灭菌。

[0566] 在本领域的标准参考文献的最新版本的Remington's Pharmaceutical Sciences,A.Osol中描述了合适的药物载体。

[0567] 用于肠胃外给药的制剂可以含有作为常规赋形剂的无菌水或盐水、聚亚烷基二醇如聚乙二醇、植物来源的油、氢化萘等。用于注射的水性或油性悬浮液可以根据已知方法使用合适的乳化剂或润湿剂和悬浮剂来制备。注射剂可以是无毒的,非口服给药的稀释剂,例如水溶液或溶剂中的无菌注射溶液或悬浮液。作为可用的载体或溶剂,允许使用水,林格氏溶液,等渗盐水等;作为普通溶剂或悬浮溶剂,可以使用无菌非挥发性油。为了这些目的,可以使用任何种类的非挥发油和脂肪酸,包括天然或合成或半合成脂肪油或脂肪酸;天然的或合成的或半合成的甘油单酯或甘油三酯。亲本(Parental)施用是本领域已知的,并且包括但不限于常规的注射方法、美国专利号5,851,198中所述的气压无针注射装置和美国专利号5,839,446所述的激光穿孔装置,其通过引用整体并入本文。

[0568] 5.4.2肺部剂型

[0569] 在某些实施方案中,包含本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的组合物(参见第5.1节和第5.2节)被配制用于肺部给药。对于肺部给药,组合物以有效用于到达肺或窦的下呼吸道的粒径递送。用于肺部给药的组合物可以通过本领域已知的各种吸入或鼻部装置通过吸入施用治疗剂来递送。能够在患者鼻腔或肺泡中沉积雾化制剂的这些装置包括计量吸入器、雾化器、干粉发生器、喷雾器等。适用于引导本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的肺或鼻施用的其它装置也是本领域已知的。所有这些装置都使用适合于在气溶胶中分配本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的施用的制剂。这种气溶胶可以由溶液(水溶液和非水溶液)或固体颗粒组成。计量吸入器,如Ventolin®计量吸入器,通常使用推进气体,并且在吸气期间需要驱动(参见例如WO 94/16970、WO 98/35888)。干粉吸入器,如Turbuhaler™(Astra),Rotahaler®。(Glaxo),Diskus®(Glaxo),由Inhale Therapeutics销售的装置,仅举几例,使用混合粉末的呼吸驱动(美国专利号4,668,218Astra,EP 237507Astra,WO 97/25086Glaxo,WO 94/08552Dura,美国专利号5,458,135Inhale,WO 94/06498Fisons,通过引用完全并入本文)。雾化器如Ultravent®雾化器(Mallinckrodt)和AcornII®雾化器(Marquest Medical Products)(美国专利号5,404,871Aradigm,WO 97/22376),以上参考文献全部并入本文作为参考,从溶液中产生气溶胶,而计量吸入器,干粉吸入器等产生小颗粒气溶胶。商业上可获得的吸入装置的这些实例是非限制性实施例,并不意在限制范围。

[0570] 在某些实施方案中,可以通过使得至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的悬浮液或溶液在压力下穿过喷嘴来制备包含本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)的喷雾剂。可以选择喷嘴的尺寸和构型,施加的压力和液体进料速率来实现所需的输出和粒度。电喷雾可以例如通过与毛细管或喷嘴进料结合的电场来产生。有利地,由喷雾器递送的包含至少一种本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合

片段的组合物的颗粒具有小于约10μm的粒度，优选在约1μm至约5μm的范围内，并且最多优选约2μm至约3μm。

[0571] 适合与喷雾器一起使用的本文所述的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(见第5.1节和第5.2节)的组合物的制剂通常包括至少一种MUC16糖基化抗体或抗原水溶液，其浓度为约0.1mg至约100mg/ml溶液或mg/gm，或其中的任何范围或值，例如但不限于0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、45、50、60、70、80、90或100mg/ml或mg/gm。制剂可以包括诸如赋形剂、缓冲剂、等渗剂、防腐剂、表面活性剂、和优选锌的试剂。制剂还可以包括用于稳定MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段组合物的赋形剂或试剂，如缓冲剂、还原剂、散装(bulk)蛋白质或碳水化合物。用于配制这种组合物的散装蛋白包括白蛋白、鱼精蛋白等。用于配制抗体组合物蛋白质的典型碳水化合物包括蔗糖、甘露糖醇、乳糖、海藻糖、葡萄糖等。组合物还可以包括表面活性剂，其可以减少或防止由形成气溶胶时的溶液雾化引起的组合物的表面诱导聚集。可以使用各种常规的表面活性剂，例如聚氧乙烯脂肪酸酯和醇，以及聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯。其用量通常为制剂重量的0.001至14％。优选的表面活性剂是聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯，聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20等。

[0572] 在某些实施方案中，组合物通过雾化器，例如喷射雾化器或超声雾化器施用。通常，在喷射雾化器中，压缩空气源被用于通过孔口产生高速空气射流。当气体扩张超过喷嘴时，产生低压区域，其通过连接到液体储存器的毛细管吸引抗体组合物蛋白质的溶液。来自毛细管的液体流在离开管时被剪切成不稳定的细丝和液滴，产生气溶胶。可以使用一系列配置，流速和挡板类型来实现来自给定喷射雾化器的所需性能特征。在超声波雾化器中，高频电能被用于产生振动、机械能，通常采用压电换能器。该能量直接或通过偶联流体传递给抗体组合物蛋白质的制剂，产生包含抗体组合物蛋白质的气溶胶。有利地，由雾化器递送的抗体组合物蛋白颗粒具有小于约10μm的粒度，优选在约1μm至约5μm的范围内，最优选约2μm至约3μm。

[0573] 在某些实施方案中，组合物经由计量吸入器(MDI)施用，其中推进剂，至少一种本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)，和任意赋形剂或其它添加剂作为包括液化压缩气体的混合物盛放于罐中。计量阀的致动将混合物(die mixture)释放为气溶胶，优选含有尺寸范围小于约10μm，优选约1μm至约5μm，最优选约2μm至约3μm的颗粒。可以通过使用包括喷射研磨，喷雾干燥，临界点冷凝等本领域技术人员已知的各种方法产生的抗体组合物蛋白质的制剂，来获得所需的气溶胶粒度。优选的计量吸入器包括由3M或Glaxo制造并使用氢氟烃推进剂的那些。

[0574] 用于计量吸入器装置的本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)的制剂通常包括细碎粉末，其含有至少一种抗-IL-6抗体作为非水介质中的悬浮液，例如借助表面活性剂悬浮在推进剂中。推进剂可以是用于此目的的任何常规材料，例如氯氟烃、氢氯氟烃、氢氟烃或烃、包括三氯氟甲烷、二氯二氟甲烷、二氯四氟乙醇和1,1,1,2-四氟乙烷、HFA-134a(氢氟烷烃-134a)、HFA-227(氢氟烷-227)等。优选地，推进剂是氢氟烃。可以选择表面活性剂以将本文所述的至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段稳定化为推进剂中的悬浮液，以保护活性剂免于化学降解等。合适的表面活性剂包括脱水山梨醇三油酸酯、大豆卵磷脂、油酸等。在某些情况下，优选使用溶剂如乙醇制备溶液

气溶胶。本领域已知的用于制备蛋白质的其它试剂也可以包括在制剂中。

[0575] 5.4.3口服剂型

[0576] 在某些实施方案中，本文提供的组合物被配制用于口服给药。在某些实施方案中，对于口服给药，施用至少一种本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的组合物和方法依赖于佐剂的共同给药，例如间苯二酚和非离子表面活性剂如聚氧乙烯油基醚和正十六烷基聚乙烯醚，以人工增加肠壁的渗透性，以及共同给药酶抑制剂，例如胰蛋白酶抑制剂，二异丙基氟磷酸盐(DFF)和特斯乐，以抑制酶降解。用于口服给药的固体型剂型的活性构成化合物可以与至少一种添加剂混合，所述添加剂包括蔗糖、乳糖、纤维素、甘露糖醇、海藻糖、棉子糖、麦芽糖醇、葡聚糖、淀粉、琼脂、精氨酸、壳多糖、壳聚糖、果胶、黄蓍胶、阿拉伯树胶、明胶、胶原蛋白、酪蛋白、白蛋白、合成或半合成聚合物和甘油酯。这些剂型还可以含有其它类型的添加剂，例如无活性稀释剂；润滑剂如硬脂酸镁、对羟基苯甲酸酯；防腐剂如山梨酸、抗坏血酸、α-生育酚；抗氧化剂如半胱氨酸；崩解剂；粘合剂；增稠剂；缓冲剂；甜味剂；调味剂；芳香剂等。

[0577] 在某些实施方案中，用于口服给药的片剂和丸剂可以进一步加工成肠溶衣制剂。在某些实施方案中，用于口服给药的液体制剂包括例如可用于医疗用途的乳剂、糖浆、酏剂、悬浮液和溶液制剂。这些制剂可以含有通常用于所述领域的无活性稀释剂，例如水。脂质体制剂可用于口服给药制剂，例如，如用于胰岛素和肝素所述(美国专利号4,239,754)。此外，混合氨基酸(类蛋白质)的人造聚合物的微球可以用于药物的口服给药，例如，如美国专利号4,925,673所述。此外，载体化合物，例如美国专利号5,879,681和美国专利号5,871,753所述的，被用于口服给药生物活性剂。

[0578] 5.4.4粘膜剂型

[0579] 在某些实施方案中，本文提供的组合物被配制用于通过粘膜表面吸收。在某些实施方案中，为了通过粘膜表面进行吸收，施用本文所述至少一种MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)的组合物和方法包括含有多个亚微米颗粒，粘膜粘附性大分子，生物活性肽和水性连续相的乳剂，其通过实现乳剂颗粒的粘膜粘附而促进通过粘膜表面的吸收(美国专利号5,514,670)。适用于本文提供的乳剂的粘膜表面可包括例如角膜、结膜、颊、舌下、鼻、阴道、肺、胃、肠和直肠给药途径。用于阴道或直肠给药的制剂，例如栓剂，可以含有赋形剂，例如聚亚烷基二醇、凡士林、可可脂等。用于鼻内给药的制剂可以是固体的并且含有赋形剂，例如乳糖、或者可以是含水或油性的滴鼻溶液。对于口腔含化给药，赋形剂包括例如糖、硬脂酸钙、硬脂酸镁、预凝胶淀粉等(美国专利号5,849,695)。

[0580] 5.4.5透皮剂型

[0581] 在某些实施方案中，本文提供的组合物被配制用于透皮给药。在某些实施方案中，为了透皮给药，包含至少一种MUC16糖基化抗体或本文所述的其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)的组合物被包封在递送装置中，例如脂质体或聚合物纳米颗粒，微粒，微胶囊或微球(除非另有说明，否则统称为微粒)。已知多种合适的透皮给药装置，包括由合成聚合物如聚乳酸、聚乙醇酸及其共聚物等多羟基酸、聚原酸酯、聚酐和聚磷腈等合成聚合物，以及天然聚合物如胶原、聚氨基酸、白蛋白和其他蛋白质、藻酸盐和其他多糖、及其组合制成的微粒(美国专利号5,814,599)。

[0582] 5.4.6试剂盒

[0583] 本文还提供了包含本文所述的一种或多种抗体或其抗原结合片段或其缀合物的试剂盒。在具体实施方案中，本文提供了药物包装或试剂盒，其包含一个或多个填充有本文所述药物组合物的一种或多种成分的容器，例如本文所述的一种或多种抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，试剂盒含有本文所述的药物组合物和预防或治疗剂。

[0584] 任选地与这种容器相关联的可以是由管理药物或生物制品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的通知，剂型和/或使用说明书。在某些实施方案中，试剂盒中包含的说明书提供关于用于药物组合物给药的剂量和/或给药方案的指导。

[0585] 药物包装材料的实例包括但不限于泡罩包装、瓶子、小包、小药囊、管、吸入器、泵、袋、小瓶、容器、注射器以及适用于选择的药物组合物和期望的给药和治疗方式的任何包装材料。

[0586] 本文提供的试剂盒可进一步包括用于施用活性成分的装置。这种装置的实例包括但不限于注射器、无针注射器、滴灌袋、贴剂和吸入器。

[0587] 本文提供的试剂盒可以进一步包括可用于施用成分的药学上可接受的载体。例如，如果成分以固体形式提供，必须重新配制用于肠胃外给药，试剂盒可以包含合适载体的密封容器，其中可以将成分溶解以形成无颗粒的无菌溶液，其适用于肠胃外给药或可以重构为口服给药的悬浮液。药学上可接受的载体的实例包括但不限于：水性载体，包括但不限于注射用水USP、氯化钠注射液、林格注射液、葡萄糖注射液、葡萄糖和氯化钠注射液以及乳酸林格注射液；水混溶性载体，包括但不限于乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇；和非水性载体，包括但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

[0588] 5.5用途和方法

[0589] 5.5.1治疗用途和方法

[0590] 在某些实施方案中，本文提供了用于治疗对象的癌症，特别是对象中MUC16阳性癌症的方法，其包括向有需要的对象施用治疗有效量的MUC16糖基化抗体或抗原其结合片段(参见第5.1节和第5.2节)。在具体实施方案中，对象是如第5.5.5节所述的对象。在具体实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段以5.5.3节所述的剂量施用。在具体实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段根据5.5节所述的方法给药。在具体实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段与一种或多种另外的药物活性剂组合施用，如第5.5.4节所述。

[0591] 为了在特定物种的对象中使用MUC16糖基化抗体或其片段，使用与该特定物种的MUC16结合的MUC16糖基化抗体或其片段。例如，为了治疗人，使用与人MUC16结合的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段。在具体实施方案中，MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段是免疫球蛋白。

[0592] 此外，为了在特定物种的对象中使用MUC16糖基化抗体或其片段，MUC16糖基化抗体，优选MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的恒定区源自该特定物种。例如，为了治疗人，MUC16糖基化抗体或其片段可以包含作为免疫球蛋白的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其中所述免疫球蛋白包含人恒定区。在具体实施方案中，对象是人。

[0593] 在具体实施方案中，MUC16-阳性癌症是卵巢癌、肺癌、胰腺癌、乳腺癌、输卵管癌、子宫(例如，子宫内膜)癌、原发性腹膜癌或表达MUC16受体的任何其他组织的癌症。

[0594] 在具体实施方案中，治疗可以是实现有益或期望的临床结果，包括但不限于症状

的减轻，疾病程度的减小，疾病状态的稳定(即不恶化)，延迟或减缓疾病进展，改善或缓解疾病状态，以及缓解(无论是部分还是全部)，无论是可检测的还是不可检测的。在具体实施方案中，与不接受治疗的预期生存期相比，“治疗”还可以延长生存期。在一个具体实施方案中，将本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段或本文所述的药物组合物施用于患有癌症的对象(例如，卵巢癌，肺癌，胰腺癌，乳腺癌，输卵管癌，子宫(例如，子宫内膜)癌或原发性腹膜癌，或表达MUC16受体的任何其他组织的癌症)达到以下效果中的至少一种，两种，三种，四种或更多种：(i)减少或改善一种或多种癌症症状的严重程度；(ii)减少与癌症相关的一种或多种症状的持续时间；(iii)预防与癌症相关的症状复发；(iv)对象的住院治疗减少；(v)减少住院时间；(vi)对象生存期增加；(vii)增强或改善另一疗法的治疗效果；(viii)抑制与癌症相关的一种或多种症状的发展或发作；(ix)与癌症相关的症状数量减少；(x)通过本领域熟知的方法评估的生活质量的改善；(x)抑制肿瘤的复发；(xi)肿瘤和/或与之相关的一种或多种症状的消退；(xii)抑制肿瘤和/或与之相关的一种或多种症状的进展；(xiii)肿瘤生长减少；(xiv)肿瘤大小的减小(例如体积或直径)；(xv)新形成的肿瘤的形成减少；(xvi)预防，根除，清除或控制原发性，局部性和/或转移性肿瘤；(xvii)转移的数量或大小减少；(xviii)降低死亡率；(xix)无复发生存率的增加；(xx)维持肿瘤的大小，并且肿瘤的大小不增加或增加的量小于在给予标准治疗之后的肿瘤的增加，所述大小如本领域技术人员可获得的常规方法进行测量，例如磁共振成像(MRI)、动态对比增强MRI(DCE-MRI)、X射线和计算机断层(CT)扫描或正电子发射断层(PET)扫描；和/或(xxi)患者缓解长度增加。治疗可以实现前述的一个或多个。

[0595] 5.5.2诊断用途

[0596] 在某些实施方案中，本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)可用于诊断目的以检测，诊断或监测本文所述的病症(例如，涉及MUC16阳性癌细胞的病症)。在某些实施方案中，用于诊断目的的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段如第5.2节所述进行标记。

[0597] 在某些实施方案中，本文提供了用于检测本文描述的病症的方法，其包括(a)使用一种或多种本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段来测定对象的细胞或组织样品中MUC16或其片段的表达；和(b)将MUC16或其片段的表达水平与对照水平进行比较，例如，在正常组织样品中的水平(例如，来自不具有本文所述病症的对象或来自相同患者的病症发作前)，由此与MUC16或其片段表达的对照水平相比，MUC16的测定水平或其片段表达的增加或减少是本文所述的病症的指标。

[0598] 本文所述的抗体可用于使用本文所述的或本领域技术人员已知的常规免疫组织学方法来测定生物样品中MUC16或其片段的水平(例如参见Jalkanen等，1985，J.Cell.Biol.101:976-985和Jalkanen等，1987，J.Cell.Biol.105:3087-3096)。用于检测蛋白质基因表达的其他基于抗体的方法包括免疫测定，例如酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA)。合适的抗体测定标记是本领域已知的，并且包括酶标记，例如葡萄糖氧化酶；放射性同位素，如碘(^{125}I、^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^{3}H)、铟(^{121}In)和锝(^{99}Tc)；发光标签，如鲁米诺；和荧光标记，如荧光素和罗丹明，以及生物素。

[0599] 在某些实施方案中，通过在初次诊断后一段时间重复诊断的方法来进行本文所述的病症(例如，MUC16阳性癌症)的监测。

[0600] 可以使用本领域已知的用于体内扫描的方法在对象中检测标记分子的存在。技术人员将能够确定检测特定标签的适当方法。可用于本发明的诊断方法的方法和装置包括但不限于计算机断层扫描(CT),全身扫描如位置发射断层扫描(PET),磁共振成像(MRI)和超声检查。

[0601] 5.5.3剂量和给药方案

[0602] 本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)或组合物(参见第5.4节)或表达抗体或其抗原结合片段的细胞可以通过各种途径递送给对象。这些包括但不限于胃肠外、鼻内、气管内、口服、皮内、局部、肌肉内、腹膜内、透皮、静脉内、肿瘤内、结膜和皮下途径。也可以使用肺部给药,例如通过使用吸入器或雾化器,以及用作为喷雾剂的雾化剂的制剂。在一个实施方案中,将本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段或组合物肠胃外施用于对象(例如,如第5.5.5节所述的对象)。在一个具体实施方案中,所述肠胃外给药是静脉内,肌内或皮下。

[0603] MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段或其在治疗和/或预防病症中有效的组合物的量将取决于疾病的性质,并且可以通过标准临床技术来确定。

[0604] 在组合物中使用的精确剂量还将取决于施用途径和癌症的类型,并且应根据从业者的判断和每个对象的情况来决定。例如,有效剂量还可以根据给药方式、目标部位、患者的生理状态(包括年龄、体重和健康状况)、患者是人类还是动物、其他药物施用、或治疗是预防性的还是治疗性的来发生变化。治疗剂量被最佳滴定以优化安全性和功效。

[0605] 在某些实施方案中,使用体外测定来帮助鉴定最佳剂量范围。可以从源自体外或动物模型测试系统的剂量反应曲线推断有效剂量。

[0606] 对于MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段,剂量可以为约0.0001至100mg/kg的患者体重,更通常为0.01至15mg/kg。例如,剂量可以是1mg/kg体重,10mg/kg体重或1-10mg/kg的范围,或换句话说,针对70kg的患者,分别为70mg或700mg或在70-700mg范围内。通常,由于对外来多肽的免疫应答,人抗体在人体内的半衰期比其他物种的抗体更长。因此,较低剂量的人抗体和较不频繁的施用通常是可能的。

[0607] 在某些实施方案中,例如在施用表达抗体或其抗原结合片段或CAR的工程细胞时,将对象在约百万至约1000亿个细胞的范围内施用于对象,例如,如100万至500亿细胞(例如约500万细胞、约2500万细胞、约5亿细胞、约10亿细胞、约50亿细胞、约200亿细胞、约300亿细胞、约4百亿细胞或由任意前述两个值定义的范围),例如约1千万至约1千亿细胞(例如,约2千万细胞、约3千万细胞、约4千万细胞、约6千万细胞、约7千万细胞、约8千万细胞、约9千万细胞、约1百亿细胞、约250亿细胞、约5百亿细胞、约750亿细胞、约9百亿细胞或由任意前述两个值定义的范围)和在一些情况下约1亿细胞至约5百亿细胞(例如,约1.2亿细胞、约2.5亿细胞、约3.5亿细胞、约4.5亿细胞、约6.5亿细胞、约8亿细胞、约9亿细胞、约30亿细胞、约3百亿细胞、约450亿细胞)或这些范围之间的任何值。在一些实施方案中,总细胞的剂量和/或个体的亚群细胞的剂量在约10^4至约10^9细胞/千克(kg)体重范围内,例如10^5至10^6细胞/kg体重,例如,约$1x10^5$细胞/kg、$1.5x10^5$细胞/kg、$2x10^5$细胞/kg或$1x10^6$细胞/kg、$2x10^6$细胞/kg、$5x10^6$细胞/kg或$10x10^6$细胞/kg体重。例如,在一些实施方案中,施用细胞的剂量在误差为约10^4至约10^9个T细胞/千克(kg)体重,例如10^5至10^7个T细胞/kg体重的某个范围内。

[0608] MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可以多次施用。单剂量之间的间隔可以是1

周、2周、3周、4周、1个月、2个月、3个月、6个月、1年或2年。

[0609] 5.5.4联合治疗

[0610] 在一个具体实施方案中，本文提供的用于治疗对象的癌症(例如，卵巢癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、输卵管癌、子宫(例如子宫内膜)癌或原发性腹膜癌)的方法包括向有需要的对象施用包含本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段的药物组合物(参见第5.1节和第5.2节)，还包括向对象施用一种或多种另外的治疗剂。在一个具体实施方案中，另外的治疗剂用于治疗对象的癌症(例如卵巢癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、输卵管癌、子宫(例如子宫内膜)癌和原发性腹膜癌)。在一个具体实施方案中，另外的治疗剂用于治疗用本文所述的MUC16糖基化抗体或抗原结合片段治疗的任何副作用(参见第5.1节和第5.2节)。

[0611] 在一个实施方案中，施用第一MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其识别MUC16中的表位，所述表位包含N-糖基化的Asn1806但不包含N-糖基化的Asn1800(即，其结合MUC16需要N-糖基化的Asn1806，而非N-糖基化的Asn1800)，并联合第二MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其识别MUC16中的表位，所述表位包含N-糖基化的Asn1806，也包含N-糖基化的Asn1800(即，两个N-糖基化位点均为MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段所识别的表位的一部分)。该第一MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可通过下述进行鉴定：(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力，其第一形式的MUC16是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞，该第三形式是糖基化的，且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；和(iii)其免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞的能力，其第四形式是糖基化的，且其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152，其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同细胞类型。该第二MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可通过下述进行鉴定：(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133和(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第五形式的MUC16的细胞，其第五形式是糖基化的，且其中第五形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:172，其中重组表达第一形式的MUC16的细胞与重组表达第五形式的MUC16的细胞是相同细胞类型。由SEQ ID NO:172的氨基酸序列编码的蛋白在本文中也称为$MUC16^{c114\text{-}N23}$。$MUC16^{c114\text{-}N23}$由成熟MUC16的C端114个氨基酸残基(SEQ ID NO:150为成熟MUC16的序列)组成，除了氨基酸位点24和30的天冬酰胺(对应于SEQ ID NO:150的氨基酸位点Asn1800和Asn1806)被突变为丙氨酸。从而，$MUC16^{c114\text{-}N23}$不能在SEQ ID NO:172氨基酸位点24和30(对应于SEQ ID NO:150的氨基酸位点Asn1800和Asn1806)被N-糖基化。

[0612] 在一个实施方案中，施用第一MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段，其识别MUC16中的表位，所述表位包含N-糖基化的Asn1806但不包含N-糖基化的Asn1800(即，其结合MUC16需要N-糖基化的Asn1806，而非N-糖基化的Asn1800)，并联合第二抗体或其抗原结合片段，其识别MUC16中的表位，所述表位包含N-糖基化的Asn1800但不包含N-糖基化的Asn1806(即，其结合MUC16需要N-糖基化的Asn1800、而非N-糖基化的Asn1806)。该第一MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段可通过下述进行鉴定：(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力，其第一形式的MUC16是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)其不能免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞，

该第三形式是糖基化的，且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；和(iii)其免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞的能力，其第四形式是糖基化的，且其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152，其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同细胞类型。该第二抗体或其抗原结合片段可通过下述进行鉴定：(i)其免疫特异性结合重组表达第一形式的MUC16的细胞的能力，其第一形式是糖基化的，且其中第一形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:133；(ii)其免疫特异性结合重组表达第三形式的MUC16的细胞的能力，该第三形式是糖基化的，且其中第三形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:139；和(iii)其不能免疫特异性结合重组表达第四形式的MUC16的细胞，其第四形式是糖基化的，其中第四形式的氨基酸序列是SEQ ID NO:152，其中重组表达第一形式的MUC16的细胞、重组表达第三形式的MUC16的细胞和重组表达第四形式的MUC16的细胞是相同类型的细胞。

[0613] 在具体的实施方案中，另外的试剂是用于治疗卵巢癌的试剂。在具体的实施方案中，另外的试剂是用于治疗胰腺癌的试剂。在具体的实施方案中，另外的试剂是用于治疗肺癌的试剂。在具体的实施方案中，另外的试剂是用于治疗乳腺癌的试剂。在具体的实施方案中，另外的试剂是用于治疗输卵管癌的试剂。在具体的实施方案中，另外的试剂是用于治疗子宫(例如，子宫内膜)癌的试剂。在具体的实施方案中，另外的试剂是用于治疗原发性腹膜癌的试剂。

[0614] 本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)可以同时或顺序(之前和/或之后)与另外的治疗剂一起施用。抗体或其抗原结合片段和另外的治疗剂可以以相同或不同的组合物和相同或不同的施用途径施用。针对患有癌症的对象(例如，卵巢癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、输卵管癌、子宫(例如子宫内膜)癌和原发性腹膜癌)，可以在施用第二次治疗(本文所述的MUC16糖基化抗体或抗原结合片段(参见本文所述的第5.1节和第5.2节)或其他治疗剂)之前(例如，5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之前)、同时或之后(例如，5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之后)施用第一疗法(其是本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)或另外的治疗剂)。在某些实施方案中，与本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(见第5.1节和第5.2节)组合给予对象的另外的治疗剂以相同的组合物(药物组合物)给药。在其它实施方案中，与本文所述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第5.1节和第5.2节)组合施用的另外的治疗剂以与本文描述的MUC16糖基化抗体或其抗原结合片段(参见第Error!Reference source not found.节和第5.2节)不同的组合物对对象施用(例如，使用两种或更多种药物组合物)。

[0615] 5.5.5患者群

[0616] 根据本文提供的方法治疗的对象可以是任何哺乳动物，例如啮齿动物、猫、犬、马、牛、猪、猴、灵长类动物或人等。在优选的实施方案中，对象是人。在另一优选实施方案中，对象是犬。如本文所使用的，术语“对象”和“患者”可互换使用。

[0617] 在某些实施方案中，根据本文提供的方法治疗的对象已被诊断患有MUC16阳性癌症，包括但不限于卵巢癌、肺癌、胰腺癌、乳腺癌、子宫癌、输卵管癌或原发性腹膜癌、或表达

MUC16的任何其他组织的癌症。

[0618] 通过说明而非限制的方式提供以下实施例。

6.实施例

[0619] 6.1实施例1:MUC16/CA125羧末端部分的表达诱导转化和肿瘤侵袭

[0620] 6.1.1介绍

[0621] 自20世纪80年代初以来,血清CA125抗原(MUC16的抗原性片段)一直是卵巢癌评估和管理的支柱,但其对卵巢癌表现的生物学和贡献了解甚少(参见参考文献1-3,如下文第6.1.5节所述)。2001年实现的CA125的克隆首先将MUC16鉴定为具有小胞内域、跨膜域、靠近推测的切割位点的胞外域、以及各自为156个氨基酸长的12-20个串联重复的大的重度糖基化区域的拴粘蛋白(图1A)(参见下文第6.1.5节所述的参考文献4-6)。卵巢、输卵管和子宫的浆液性癌症通常表达大量的MUC16,异常的MUC16表达可以在其他几种恶性肿瘤中发现,包括肺癌、胰腺癌和乳腺癌。其他拴粘蛋白的表达是上皮器官的常见特征,并且它们通常在恶性肿瘤中过度表达。两个突出的例子是在许多乳腺和卵巢癌中过度表达的MUC1和在胰腺和胃肠癌中特征性的丰富的MUC4(参见下文第6.1.5节所述的参考文献7)。这两种粘蛋白都被鉴定为具有转化性质(参见下文第6.1.5节所述的参考文献8和9)。转化机制不同,不完全清楚。MUC1具有β-连环蛋白同源性区域,已显示其转位至细胞核并作为转录因子(参见下文第6.1.5节所述的参考文献10和11)。相比之下,MUC4在其跨膜域内具有HER结合域,并且至少部分地通过HER家族激酶起作用(参见下文第6.1.5节中所述的参考文献12和13)。MUC16与这些域中的任一个缺乏同源区,并且似乎已经独立进化(参见下文第6.1.5节所述的参考文献12)。与MUC1和MUC4两者相比,MUC16的表达受到更多的限制,通常几乎专一性地表达于苗勒带(Müllerian tract)和眼上皮(参见下文第6.1.5节所述的参考文献14-16)。MUC16分子的串联重复区似乎作为与间皮素和其他基质蛋白的关键相互作用蛋白起作用(参见下文第6.1.5节所述的参考文献17)。这些相互作用可能是卵巢癌的浆膜传播的经典模式的原因。在临床环境中,来自编码CA125抗原的MUC16的高水平循环元素与不良临床结果相关,与阶段、等级和其他传统临床因素无关(参见如下第6.1.5节所述的参考文献18)。其他人已鉴定得到MUC16的C末端在侵袭和生长中是重要的,但是负责转化的近端MUC16序列的特定区域尚未被描述(参见例如,Therialt等,Gynecol Oncol 2011,121(3):434-443和Giannakouros等Int.J.Oncol.2015,41(1):91-98)。已经在癌症基因组图谱(TCGA)卵巢癌项目中观察到在卵巢癌DNA中编码MUC16的基因组区域的扩增和MUC16 mRNA的过度表达,并且与更差的结果相关(参见如下第6.1.5节所述参考文献19)。小鼠中MUC16的缺失与不同的表型不相关,但持续或异常的MUC16表达的作用是未知的(参见下文第6.1.5节所述的参考文献20)。本实施例中的数据显示MUC16的114个C-末端氨基酸残基(MUC16^{c114},SEQ ID NO:133)的表达,以及特别的,MUC16^{c114}的残基Asn30(对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:NO:150)的Asn1806)的糖基化,与信号转导、基因表达和侵袭性生物学行为的特异性改变相关。

[0622] 6.1.2材料和方法

[0623] 6.1.2.1MUC16羧端(MUC16^{c114})和MUC16-CA125域(MUC16^{c344})DNA构建体和糖基化的融合蛋白的合成

[0624] 产生了编码截短形式的MUC16(命名为MUC16^{c344},MUC16^{c114},MUC16^{c80}和MUC16^{c86},图

1B和图1C)的DNA构建体。使用phrGFP II-C载体(phrGFP)(Stratagene,LaJolla,CA)的EcoRV和NotI多克隆位点引入MUC16^{c114},MUC16^{c80}、MUC16^{c86}和MUC16^{c344}DNA以产生GFP融合构建体,其中在截短的MUC16融合蛋白羧端上存在GFP蛋白。使用pBK-CMV-MUC16-B53DNA作为模板产生MUC16片段(MUC16^{c344},MUC16^{c114},MUC16^{c80}和MUC16^{c86})的PCR产物(Yin BWT等人,2002,98(5):737-740),PCR产物在1%琼脂糖凝胶中纯化,测序,并插入到phrGFP II-C载体(phrGFP)的EcoRV和NotI多克隆位点。pFUSE-hIgG1-Fc2载体购自InvivoGen(San Diego,CA)。针对胞外域MUC16$^{c57-114}$(SEQ ID NO:150的位点1777至1834)设计聚合酶链反应(PCR)引物,或合成$^{117-244}$LGALS3DNA序列的糖结合域(Sigma-Genosys,The Woodlands,TX),使用限制性内切酶位点EcoRV作为正向引物,限制性内切酶位点NcoI作为反向引物。使用pBK-CMV-MUC16-B53DNA作为模板产生MUC16$^{c57-114}$片段的PCR产物,使用来自ATCC(Manassas,VA)的LGALS3cDNA克隆(MGC:2058 IMAGE:3050135GenBank:AAH01120.1;DBSource登录号BC001120.2)作为DNA模板合成LGALS3PCR产物的糖结合域。PCR产物在1%琼脂糖凝胶中纯化,测序,并插入pFUSE-hIgG1-Fc2载体中。

[0625] 6.1.2.2引物和PCR

[0626] MUC16-胞浆区(MUC16^{c114},羧端114aa)正向和反向引物(5'-CCATGCGATATCGCCACCATGGTGAACTTCTCGCCACTGGCT-3'和5'-TACGGCGGCCGCTTGCAGATCCTCCAGGTCTAGG-3',SEQ ID NO:121和SEQ ID NO:122)。MUC16^{c344}(一个仅具有一个半胱氨酸环的串联重复,344aa)(5'-CCATGCGATATCGCCACCATGGTGACAGGCCCTGGGCTGGACAG A-3'和5'-TACGGCGGCCGCTTGCAGATCCTCCAGGTCTAGG-3',SEQ ID NO:123和SEQ ID NO:124)在正向引物中具有EcoRV和KOZAK,在反向引物中具有NotI。使用MUC16^{c114}-GFP DNA构建体通过快变(quick change)引物产生MUC16^{c80}和MUC16^{c86}构建体。MUC16$^{c57-114}$pFUSE-hIgG1-Fc2载体的正向和反向引物(5'-CCATGCGATATCAAACTTCTCGCCACTGGCT-3'和5'-AGATCTAACCATGGGAAGGTCAGAATTCCCAGT-3',SEQ ID NO:125和SEQ ID NO:126),pFUSE-hIgG1-Fc2载体$^{117-244}$LGALS3的糖结合域的正向和反向引物(5'-CATGCGATATCACCTTATAACCTGCCTTTG-3'和5'-AGATCTAACCATGGTATATGAAGCACTGGT-3',SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:128),在正向引物中具有EcoRV,在反向引物中具有NcoI。所有上述引物由Sigma Genosys,The Woodlands,TX合成。

[0627] 通过以下方法实现PCR条件:将DNA在95℃下解链5分钟以实现变性。进行30个重复循环的97℃加热30秒、60℃退火1分钟、72℃延伸1分钟。随后将生成的PCR产物链在72℃延伸5分钟,然后在4℃下冷却过夜。

[0628] phrGFP II-C载体DNA,MUC16^{c114}、MUC16^{c80}、MUC16^{c86}、MUC16^{c344}和MUC16^{c678}凝胶纯化的DNA用EcoRV和NotI(New England Biolabs,Beverly,MA)限制性内切酶在37℃水浴中分别消化过夜。pFUSE-hIgG1-Fc2载体DNA,MUC16$^{c57-114}$和$^{117-244}$GALS3凝胶纯化的DNA用EcoRV和NcoI(New England Biolabs,Beverly,MA)限制性内切酶在37℃的水浴中分别消化过夜。对MUC16^{c114}和phrGFP,MUC16^{c344}和phrGFP或MUC16^{c678}和phrGFP限制性消化的DNA进行凝胶纯化,并使用T4连接酶(Roche Diagnostics Corporation,Indianapolis,IN)连接过夜。类似地,对MUC16$^{c57-114}$和pFUSE-hIgG1-Fc2,$^{117-244}$LGALS3和pFUSE-hIgG1-Fc2限制性消化的DNA进行凝胶纯化,并使用T4连接酶(Roche Diagnostics Corporation,Indianapolis,IN)连接过夜。根据制造商的方案将连接的DNA转化到XL-1Blue超感受态细胞(Stratagene,La

Jolla,CA)中,并将它们铺在含有卡那霉素(50μg/mL,Sigma Chemical Co.,St.Louis,MO)的LB培养基的琼脂平板上(对于phrGFP载体)或含有25μg/ml Zeocin(Invitrogen,CA)的LB培养基的琼脂平板上。在第二天选择克隆,并使用Wizard Plus Miniprep DNA纯化系统(Promega Corporation,Madison,WI)提取Miniprep DNA。对选择的克隆DNA在MSKCC DNA测序核心实验室上使用MUC16和phrGFP的正向和反向引物进行测序,以证实序列中存在MUC16和phrGFP作为融合构建体或$MUC16^{c57-114}$和pFUSE-hIgG1-Fc2或$^{117-244}$LGALS3和pFUSE-hIgG1-Fc2。通过使用Wizard Plus Megaprep DNA纯化系统(Promega Corporation,Madison,WI)制备来自该克隆的Megaprep DNA,其也被证实在其序列中存在MUC16和phrGFP或$MUC16^{c57-114}$和pFUSE-hIgG1-Fc2或$^{117-244}$LGALS3和pFUSE-hIgG1-Fc2作为融合构建体。

[0629] 6.1.2.3荧光活化细胞分选(FACS)

[0630] 将转染的细胞进行胰蛋白酶消化,洗涤并通过血细胞计数器计数。将细胞分散在多个eppendorf管中,至少$0.5\text{-}1\times10^{6}$/管。用含有1%FCS和0.025%叠氮化钠(FACS缓冲液)的PBS洗涤细胞。对于表面FACS染色,将细胞在不含(用于第二抗体对照)或含有1μg/管的MUC16-羧基末端单克隆(4H11.2.5)的生物反应性上清液、小鼠抗人OC125(M3519)(DakoCytomation,Dako North A-merica Inc.,Carpinteria,CA)中在冰上孵育30分钟。eppendorf管中的细胞还用1μg/管的非特异性同种型匹配的对照小鼠抗体(IgG1为13C4,IgG2b单克隆为4E11,从MSKCC单克隆核心实验室获得)进行表面染色(数据未显示),并在冰上孵育30分钟。所有细胞用FACS缓冲液洗涤3次。将细胞与1μg/管的第二抗体山羊抗小鼠IgG1-PE或IgG2b-PE在冰上孵育30分钟,然后用FACS缓冲液洗涤3次。细胞用FACS Calibur分析。

[0631] 6.1.2.4细胞培养

[0632] 从美国典型培养物保藏中心(ATCC,Manassas,VA)获得NIH/3T3(3T3)细胞(成纤维细胞),A2780细胞是人卵巢癌细胞系(参见下文第6.1.5节中所述的参考文献28)。根据公布的条件维持两种细胞系。通过转染MUC16表达载体(phrGFP-$MUC16^{c344}$、phrGFP-$MUC16^{c114}$、phrGFP-$MUC16^{c80}$和phrGFP-$MUC16^{c86}$)并在其各自培养物中使用遗传霉素(G418,Invitrogen,Grand Island,NY)进行选择,并基于绿色荧光蛋白(GFP)的表达进行分离,产生稳定的MUC16阳性细胞系。$MUC16^{c114}$转染子具有从推定的切割位点到羧基末端(SEQ ID NO:150的氨基酸1777至1890)的MUC16蛋白的细胞表面表达(参见下文第6.1.5节中所述的参考文献5)。以类似的方式制备具有较长MUC16片段的细胞系,包括具有$MUC16^{c344}$-GFP载体表达的细胞系,其具有作为延伸至MUC16羧基端的344个氨基酸片段(氨基酸1547至1890)的MUC16蛋白的细胞表面表达(参见下文第6.1.5节所述的参考文献5)。

[0633] 6.1.2.5转染

[0634] 使用制造商的方案,使用DOTAP(Roche Diagnostics,Indianapolis Corporation,IN)将所有构建体引入NIH/3T3(3T3)和A2780细胞。在各自的培养基中用400μg/mL的G418选择3T3和A2780细胞的稳定转染子。在MSKCC流式细胞计数核心实验室(FCCF)上对细胞进行两次GFP表达的细胞分选,选择的细胞作为细胞系生长至多达15代。通过FACS分析进行常规监测,以确认这些细胞系的GFP阳性。使用抗hrGFP(Stratagene,La Jolla,CA)和抗-MUC16-羧基末端单克隆抗体通过Western印迹分析这些细胞系的蛋白质提取物(参见下文第6.1.5节中所述的参考文献5和14)。

[0635] 6.1.2.6生长曲线

[0636] 将1000稳定转染的细胞/孔接种在200μL培养基/孔中的多个96孔平底板中，并在37℃和5％CO_2下孵育5天。每天用25μL/孔的Alamar Blue(ABD Serotec Co.UK)发展三个平行的培养板，并在37℃和5％CO_2下孵育4小时。在PerSeptive Biosystems CytoFluor Multiwell荧光板读数器型号#4000上读取板，530nM激发和620nM发射。记录4天以上的生长曲线，并相应地绘制三个平行平板的平均值。

[0637] 6.1.2.7软琼脂分析

[0638] 将稳定转染的细胞置于琼脂糖悬浮液中并铺在薄的琼脂糖层上，并分析其形成不依赖贴壁的集落的能力。每块板铺10mL培养基-琼脂糖悬浮液1-5百万个细胞，并在37℃和5％CO_2下孵育。监测板上的集落形成。每4-5天覆盖额外的培养基。培养11-14天后，计算了集落数并对集落进行拍照。

[0639] 6.1.2.8转染至真核表达载体

[0640] 分别将$MUC16^{c57-114}$-pFUSE-hIgG1-Fc2和$^{117-244}$LGALS3-pFUSE-hIgG1-Fc2构建体转染到人胚胎肾(HEK)FreeStyle293F细胞(Invitrogen,CA)中，其表达并分泌融合蛋白到血清培养基中。用5μg/道的来自携带pFUSE-hIgG1-Fc2对照空载体、$MUC16^{c57-114}$-pFUSE-hIgG1-Fc2载体和LGALS3-pFUSE-hIgG1-Fc2载体的瞬时转染的HEK 293F细胞的融合蛋白上清液进行3个10％SDS-PAGE凝胶。根据制造商的方案，一个凝胶用Gelcode试剂直接染色。将来自两个凝胶的蛋白质转移到两个硝酸纤维素膜上，所述两个硝酸纤维素膜在室温下的振荡器上用含有0.1％Tween-20(PBST)的5％无脂奶-磷酸盐缓冲盐水封闭1小时。用5％无脂奶PBST中以1:5000稀释的抗人IgG1-Fc-HRP(γ1链特异性)(Southern Biotech Inc.,CA)、5％无脂奶PBST中以1:2000稀释的4H11-HRP mAb(参见下文第6.1.5节所述的参考文献14)和5％无脂奶PBST中以1:200稀释的抗人GAL3mAb(Santa Cruz Biotechnology,CA)在振荡器上4℃标记(probe)膜过夜。将GAL3膜用PBST洗涤三次，并用抗小鼠IgG-HRP第二抗体以1:3,000稀释度在5％的无脂奶PBST中室温下振荡器上标记1小时。膜用PBST洗涤三次，然后用ECL试剂(Perkin El-mer,NY)化学发光底物处理5分钟，并将照射的信号捕获在X射线胶片上。

[0641] 6.1.2.9侵袭

[0642] 在基质胶侵袭室(BD Biosciences,Bedford,MA)中测定基底膜侵袭。在48孔时测量三个平行孔中的基质胶迁移，与phrGFP载体对照进行比较，并表达为％phrGFP对照基质胶侵袭。测定了0.1μg/mL的衣霉素(Sigma-Aldrich,St.Louis MO cat#T7765)或5μg/mL的$MUC16^{c57-c114}$-pFUSE-hIgG1-Fc2或5μg/mL的$^{117-244}$LGALS3 pFUSE-hIgG1-Fc2融合蛋白处理的稳定细胞系的48小时后基质胶迁移并表达为％phrGFP对照基质胶侵袭。

[0643] BD BioCoat™Matrigel™侵袭插入物或室(24孔板中的目录#354480)和对照插入物(24孔板中的目录#354578)购自BD Biosciences,MA。按照制造商的方案进行基质胶侵袭测定。简言之，将24孔板(储存在-20℃)和对照插入物(储存在4℃)中的基质胶体室进入室温。将两种插入物用插入物以及24孔板的外孔中的0.5mL无血清培养基在37℃5％CO_2加湿培养箱中再水合2小时。将培养的3T3或A2780细胞进行胰蛋白酶化，并用培养基洗涤。将一百万个细胞分离至另一离心管中并用无血清培养基洗涤3次。随后调节这些细胞，以在0.5mL无血清培养基中得到10,000个细胞。除去再水合的插入物中的培养基，并将插入物转

移到含有0.75mL含10％胎牛血清(FBS)的培养基的新24孔板中，该培养基用作化学引诱剂。立即将0.5mL无血清培养基中的细胞(10,000个细胞)加入到插入物中。适当注意插入物和外孔中没有困住气泡。将24孔板在37℃5％CO_2加湿培养箱中孵育48小时。孵育后，通过将棉花尖棉签插入基质胶或对照插入物中并轻轻地施加压力，同时将棉签的尖端移动到膜表面上，通过“擦洗”从膜的上表面去除非侵袭细胞。用浸有培养基的第二个棉签重复擦洗过程。然后将插入物在含有0.5％结晶紫染色剂的0.5mL蒸馏水中的新24孔板中染色30分钟。染色后，将插入物在3个蒸馏水烧瓶中冲洗以除去多余的染色剂。在新的24孔板中将插入物风干。在倒置显微镜下以200倍放大倍率手工计数侵袭细胞。计数三个平行膜的几个领域，并记录在图中。

[0644] 6.1.2.10实时聚合酶链反应

[0645] 通过遵循RiboPure试剂盒(Ambion,Austin,TX)方案制备RNA分离物。如前所述(参见下文第6.1.5节所述的参考文献29)，使用RT2 Profiler PCR Array系统(Super Array,Frederick,MD)进行一组转移和胞外区域(extracellular domain)基质蛋白基因的RT PCR。

[0646] 6.1.2.11无胸腺裸鼠中的肿瘤生长

[0647] 将转染的细胞系和适当的对照细胞系引入无胸腺裸鼠的侧腹或腹膜腔，并且由MSKCC抗肿瘤评估核心实验室提供常规动物护理。对于肿瘤生长评估实验，将来自每个肿瘤细胞系的2百万个细胞分别植入5-15个无胸腺裸鼠中。每周进行两次肿瘤测量，根据MSKCC RARC指南，肿瘤生长记录为最大尺寸1500mm^3。

[0648] 6.1.2.12 Western印迹分析

[0649] 将稳定的细胞系在其各自培养基中的10cm培养皿中培养，并在37℃和5％CO_2下孵育3天。然后将它们用冰冷的PBS洗涤两次，并用1-2mL冰冷的PBS刮洗并离心。将沉淀的细胞用0.2mL改良的Ripa裂解缓冲液(20mM Tris-HCL,pH 7.4;150mM NaCl;1％NP-40;1mM Na3VO4;1mM PMSF;1mM DTT;具有蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物(来自Roche Diagnostics,IN的cat#11836170001))在冰上裂解30分钟，并在4℃离心10分钟。使用Bio-Rad蛋白测定(BioRaD Laboratories,Hercules,CA)测量上清液的蛋白浓度。通过SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离等量的蛋白，并在4℃下使用BioRad转移装置转移到PVDF膜。用3％牛血清白蛋白(BSA)或5％非脂乳在含有0.1％Tween-20(PBST)的PBS中4℃将膜封闭过夜。用多种一抗(Cell Signaling,MA:Akt cat#9272,Phospho-Akt(Ser473)(193H12)cat#4058,p44/43MAPK(Erk1/2)cat#9102,Phospho-p44/43MAPK(Erk1/2)(Thr202/Tyr204)cat#9101),(Sigma-Aldrich,Inc.,St.Louis,MO:β-肌动蛋白cat#A5441),(Southern BioTech,Birmingham,AL:抗人-Fc-IgG1-HRP cat#9054-05和Abgent,San Diego,CA:多克隆LGALS3抗体cat#AP11938b)在4℃使膜显影过夜。将膜用PBST洗涤三次，并用HRP缀合的抗小鼠或抗兔抗体(GE Healthcare,UK)(1:5000稀释)在室温下显影1小时。然后将膜用PBS-T洗涤三次，并在室温下用Western Lightning Chemiluminescence试剂(ECL,Perkin El-mer)显影1-5分钟，并将信号在HyBlot CL膜(Denville Scientific Inc.Metuchen,NJ)上显影。

[0650] 6.1.2.13 MUC16的TCGA表达分析

[0651] 作为TCGA项目(tcga.cancer.gov)的一部分，可获得316个浆液性卵巢癌样品的综合基因组数据。基因水平的DNA拷贝数呼叫(calls)是使用GISTIC从CBS分段的Agilent 1M

微阵列数据得到的。使用三种不同的平台(Agilent 244K全基因组表达阵列,Affymetrix HT-HG-U133A和Affymetrix Exon 1.0阵列)测量MUC16 mRNA表达,并且如先前所述导出基因表达值(参见如下文第6.1.5节的参考文献30)。确定了MUC16的体细胞突变,全部外显子组捕获,然后进行下一代测序(SOLiD或Illumina)。所有TCGA数据均从cBio癌症基因组学门户网站(www.cbioportal.org)下载。然后将mRNA表达值与相应的DNA拷贝数类别(纯合缺失、半合子缺失、二倍体、增益、高水平扩增)进行关联,并将体细胞突变覆盖所有样品,并使用统计框架R(www.R-project.org)绘制箱形图,如前所述(参见下文第6.1.5节所述的参考文献31)。临床数据来自TCGA数据门户(tcga-data.nci.nih.gov/tcga/)。

[0652] 6.1.2.14 MUC16^{c354}转基因小鼠

[0653] 使用载体phrGFP II-C(Stratagene,La Jolla,CA)制备条件羧基末端354氨基酸(MUC16^{c354})转基因构建体,并用来自载体pCAG-CreERT2(Addgene,Cambridge,MA)的CAG启动子替代CMV启动子。通过PCR从Yin BW等人制备的构建体B53扩增MUC16^{c354}片段(参见下文第6.1.5节中所述的参考文献5和6)。MUC16^{c354}条件构建体包含以下单元:pCAG,5'loxP,hrGFP,BGHpA,3'loxP,MUC16^{c354},HA和SV40pA。

[0654] 使用上述MUC16^{c354}条件转基因构建体,MSKCC小鼠遗传学核心实验室在B6CBAF1/J小鼠上进行显微注射程序。通过Southern印迹从99只小鼠中鉴定出12只MUC16^{c354}条件转基因小鼠。所有12只前-建立者(pro-founder)均与B6.FVB-Tg(EIIa-cre)C5379Lmgd/J小鼠(The Jackson Laboratory,Bar Harbor,MI)交配,以除去位于两个loxP之间的hrGFP。解剖每个建立者的MUC16^{c354}PCR阳性雌性小鼠。将来自这些解剖的小鼠的器官(脑,结肠,心脏,肾脏,肝脏,肺,卵巢和脾脏)切碎并匀浆化。通过Western印迹分析蛋白样品,以鉴定高表达MUC16^{c354}的建立者。将得到的转基因小鼠保持在混合背景上。

[0655] 将转基因MUC16^{c354}小鼠的两只建立者与p53杂合小鼠(B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J)(The Jackson Laboratory,Bar Harbor,MI)杂交以产生双转基因MUC16^{c354}:p53+/-。将得到的转基因小鼠保持在混合背景上。使用提取的脚趾或尾DNA通过PCR对所有小鼠进行基因分型。所有实验动物均按照MSKCC制度化动物保护和使用委员会和研究动物资源中心(MSKCC Institutional Animal Care and Use Committee and Research Animal Resource Center)以及NIH"实验动物护理和使用指南"批准的指南进行维护。

[0656] 6.1.2.15组织学分析

[0657] 处死12个月龄的小鼠并进行尸检。经肉眼检查,将解剖组织样品在10%中性缓冲福尔马林中固定24小时,然后在醇和二甲苯中处理,包埋在石蜡中,切片厚度5μm,用苏木精和伊红(H&E)染色。组织由兽医病理学家(SM)检查,根据公布的啮齿动物病理学命名指南诊断肿瘤和非肿瘤性病变。

[0658] 6.1.2.16统计分析

[0659] 使用学生双侧配对t检验比较体外生长、侵袭和软琼脂生长潜力的研究组。根据提供的软件(SuperArray),使用卡方检验分析RT-PCR数据的显著性。使用每个动物随着时间的总肿瘤体积曲线下面积评估进行肿瘤体积的比较。基于两组中所有动物均存活的最后一天进行肿瘤体积评估。使用级别的无参数检验(Wilcoxon双样本测试)来测试组之间的分布差异。在动物生存研究中,进行时间对事件的分析,事件定义为肿瘤体积超过1,500mm^{3}或溃烂的时间。对肿瘤体积小于1,500mm^{3}的动物跟踪多达60天,然后进行检查。使用Kaplan-

Meier方法估计存活分布(参见下文第6.1.5节所述的参考文献32)。

[0660] 6.1.3结果

[0661] 在MUC16蛋白的串联重复区的明显切割和释放之后,蛋白质的羧基末端的大约114个氨基酸(c114)被认为保留在细胞表面上,并且该分子部分的潜在功能是未知的。分析了MUC16蛋白最接近部分在3T3成纤维细胞和卵巢癌细胞系恶性转化和行为中的作用。为了测试接近切割位点的残留c114氨基酸元件的作用,设计了两个载体:(1)$MUC16^{c114}$-GFP载体,和(2)截短的$MUC16^{c344}$-GFP载体(图1)和这些载体和phrGFP对照载体,独立转染入3T3成纤维细胞。选择表达$MUC16^{c114}$-和$MUC16^{c344}$的细胞系,并用G418维持,使用识别MUC16羧基末端的独特氨基酸序列的单克隆抗体通过FACS分析证实$MUC16^{c114}$和$MUC16^{c344}$的稳定表达(参见下文6.1.5节引用的参考文献14)。表达来自MUC16(SEQ ID NO:132)蛋白的344个氨基酸的细胞系($MUC16^{c344}$-GFP细胞系)具有典型的CA125表位,其通过FACS分析在细胞表面上被OC125抗体识别,CA125被释放到细胞培养上清液中。OC125不识别$MUC16^{c114}$-GFP细胞。然而,所有转染的细胞系都是$MUC16^{c114}$胞外序列(SEQ ID NO:133)细胞表面阳性的,所述序列靠近推测的切割位点并被MUC16胞外域特异性4H11抗体识别(参见下文6.1.5节引用的参考文献14,图1)。

[0662] 6.1.3.1 3T3细胞

[0663] 为了研究由MUC16的残留的切割后元件赋予的转化特性,分析了3T3$MUC16^{c114}$-GFP和3T3$MUC16^{c344}$-GFP细胞系的特征,并将这两个最小的MUC16元件的效果与载体对照进行比较。MUC16序列的最接近的114个氨基酸($MUC16^{c114}$)或近端344个氨基酸($MUC16^{c344}$)的表达对于任何转染细胞系的体外生长速率相对于亲本细胞系图2A的表达而言没有显著影响。然而,MUC16蛋白相同元件的表达在软琼脂克隆中显著改变了3T3的贴壁依赖性生长。与仅载体对照相比,最小c114片段和c344片段都显著增加了软琼脂菌落的数量(图3A)。与用phrGFP载体对照转染的3T3细胞相比,MUC16蛋白表达的近端部分还增强了经典基质胶侵袭测定中的MUC16+3T3细胞迁移($p<0.0001$)(图3B)。在检测表达各种MUC16蛋白片段的3T3细胞表达所选择的转移和侵袭基因转录物时,存在多种侵袭基因上调,包括趋化因子配体12(CXCL12)、钙粘蛋白11(CDH11)和基质金属蛋白酶MMP2和MMP9(图3C)。包括纤连蛋白(FN1)和神经纤维蛋白(NF2)在内的其他转录物一直在减少。MUC16可能以类似于MUC1和MUC4的作用的方式通过规范信号通路起作用,因为MUC16改变体内肿瘤生长并增加携带MUC16蛋白的细胞的侵袭性质。之前已经将相互作用的ERK和AKT途径鉴定为卵巢癌和肿瘤细胞侵袭调节因子中的重要信号机制(参见下文第6.1.5节所述的参考文献21和22)。如图3D所示,存在由pAKT(S473)和pERK(T202/Y204)的增加证明的两种途径的活化。

[0664] 致癌转化的最明确的标志是促进免疫缺陷小鼠生长的能力。为了测量MUC16对肿瘤生长速度的影响,采用侧腹部肿瘤模型来促进常规肿瘤测量。如图3E所示,当将表达MUC16的3T3细胞系(载体phrGFP、$MUC16^{c114}$-GFP和$MUC16^{c344}$-GFP)植入无胸腺裸鼠的侧腹时,与仅载体对照相比,$MUC16^{c114}$-GFP和$MUC16^{c344}$-GFP都在4周时形成更大的肿瘤。表达$MUC16^{c114}$-GFP和$MUC16^{c344}$-GFP蛋白的细胞系(图3E)之间没有统计学差异,表明MUC16表达的致癌作用与分子的最近端部分相关。在肿瘤的整个生长期间都观察到该肿瘤生长速度的增加,并且与高水平的MUC16表达(作为血清CA125)和较差的存活率之间的临床联系一致(参见下文第6.1.5节所述的参考文献18)。

[0665] 6.1.3.2 A2780人卵巢癌细胞

[0666] 虽然3T3细胞中MUC16蛋白的表达与转化的标志明显相关，但是当培养时，一些完全转化的卵巢癌细胞系缺乏MUC16表达。为了探索MUC16对人卵巢癌细胞行为的贡献，用$MUC16^{c114}$-GFP或$MUC16^{c344}$-GFP转染A2780细胞(不表达MUC16的人卵巢癌细胞系)。通过G418选择表达MUC16的细胞，并进行FACS用于MUC16和GFP表达。由于这些细胞在没有MUC16表达的情况下在软琼脂中生长良好，因此分析了$MUC16^{c344}$和$MUC16^{c114}$对基质胶侵袭的影响。如图4A所示，$MUC16^{c344}$和$MUC16^{c114}$表达明显促进了A2780细胞中的基质胶侵袭。同样，$MUC16^{c344}$和$MUC16^{c114}$对ERK和AKT途径的激活的作用与3T3细胞中的相似，增加pAKT(S473)和pERK(T202/Y204)的基础水平(图4B)。因此，即使在恶性卵巢细胞系中，MUC16羧基末端元件的表达增加也与增加的侵袭和癌基因激活有关。此外，分析了$MUC16^{c114}$和$MUC16^{c344}$转染的A2780系的体内肿瘤生长(图4C)。在两种背景下，$MUC16^{c114}$细胞系和$MUC16^{c344}$细胞系比仅载体对照生长更快。在这种人癌症模型中，载体对照确实以足够的速度生长，最终杀死动物。

[0667] 6.1.3.3糖基化研究

[0668] 为了确定负责转化的$MUC16^{c114}$的特定部分，构建了两个另外的MUC16片段：(1)$MUC16^{c80}$，其中缺失了来自$MUC16^{c114}$的胞外域的34个氨基酸序列(如原始出版中编号的1798至1831位)(图1D;SEQ ID NO:135)(参见下文第6.1.5节所述的参考文献5)；(2)$MUC16^{c86}$，其中$MUC16^{c114}$构建体保留了MUC16的整个胞外域，但从细胞质域的推定的Ezrin域，潜在的酪氨酸磷酸化位点和SH2域(位点1857到1884)去除了28个氨基酸的序列(图1D;SEQ ID NO:134)。将这些构建体引入3T3细胞中，并通过FACS选择剩余的$MUC16^{c80}$和MUC^{c86}序列的细胞表面表达。然后检查这两个额外的细胞群体$MUC16^{c80}$和MUC^{c86}的依赖性变化。$MUC16^{c86}$构建体(具有完整的胞外域的构建体)与$MUC16^{c80}$构建体(具有完整的胞质域的构建体)(图5A)相比，保留了更大的软琼脂集落形成能力。基质胶侵袭的能力也是如此(图5B)。表达$MUC16^{c80}$的3T3细胞具有与phrGFP载体对照组无统计学差异的侵袭率。相比之下，表达$MUC16^{c86}$的3T3细胞保留了更为侵袭性的表型，与完整的$MUC16^{c114}$和$MUC16^{c344}$细胞相似。当检测AKT和ERK途径的激活时，结果与软琼脂菌落和基质胶侵袭研究一致(图5C)。$MUC16^{c80}$片段(没有全部的完整胞外域)的表达没有激活ERK和AKT，与phrGFP载体对照相似；相比之下，表达$MUC16^{c86}$(具有完整的胞外域)的3T3细胞与表达完整$MUC16^{c114}$的3T3细胞在激活ERK和AKT方面相似。最后，在异种移植肿瘤模型中证实了完整胞外域的重要性。

[0669] 与$MUC16^{c114}$对照相比，完整MUC16胞外域的丧失(3T3$MUC16^{c80}$)导致$MUC16^{c114}$依赖性3T3生长增强的丧失，而表达$MUC16^{c86}$的3T3细胞具有适度的生长延迟，但与表达$MUC16^{c114}$的3T3细胞具有相似的总效果(图5D)。因此，$MUC16^{c114}$片段的细胞外部分负责MUC16在3T3细胞中的转化效应。为了进一步研究$MUC16^{c114}$胞外片段的作用，使用一组MUC16靶向抗体用表达$MUC16^{c114}$的3T3细胞进行共沉淀研究(参见下文第6.1.5节所述的参考文献14)。通过银染法鉴定没有共同沉淀的单条带，EGFR、整合素和HER3的特异性Western印迹为阴性。然而，$MUC16^{c114}$序列的分析表明，胞外域中的三个潜在的N-糖基化位点(Asn1777、Asn1800和Asn1806(图6,SEQ ID NO:132和SEQ ID NO:133))可能起作用。分析了这些N-糖基化位点的作用。使用位点特异性点突变，将所有三个天冬酰胺改为丙氨酸。将该修饰的$MUC16^{c114}$构建体(命名为$MUC16^{c114\text{-}N123}$)导入3T3细胞，通过FACS和4H11胞外域抗体分离表达$MUC16^{c114\text{-}N123}$的细胞。如图7A所示，这些天冬酰胺向丙氨酸的突变完全消除了对3T3细胞中亲本$MUC16^{c114}$

表达载体观察到的MUC16^{c114}诱导的基质胶侵袭增强。为了证实N-糖基化的作用，用糖基化抑制剂衣霉素(0.1μg/mL)处理3T3细胞，并注意到基质胶侵袭的显著降低。还测试了两种合成蛋白抑制剂，以进一步探索MUC16^{c114}胞外序列的作用。将MUC16外部序列(如下文第6.1.5节所述的参考文献5中所编号的位点1777至1834)连接到人Fc骨架pFUSE(MUC16$^{c57-c114}$pFUSE)上以提供“虚拟”受体。将该构建体与MUC16^{c114}侵袭和pFUSE载体对照进行比较。如图7B所示，“虚拟”受体构建体降低了MUC16^{c114}表达载体对基质胶侵袭的总体作用(图7)。推测凝集素与糖基化的MUC16^{c114}蛋白的作用相关，将LGALS3的糖结合域(氨基酸117至244;图7和图8)(参见6.1.5节引用的参考文献23)连接到相同pFUSE骨架($^{117-244}$LGALS3pFUSE)构建了第二抑制剂。与衣霉素相同，这两种蛋白质抑制剂都会干扰MUC16^{c114}与其他细胞表面蛋白质的相互作用，而单独的pFUSE载体没有作用(图7B)。与其他干预相同，当去除N-糖基化位点时，对pAKT表达和pERK的作用减少，其平行于基质胶侵袭的丧失，如图7C所示。然而，MUC16$^{c114-N123}$构建体具有高水平的MUC16$^{c114-N123}$蛋白的表达，如4H11(MUC16胞外域特异性)结合所证明的。在nu/nu小鼠中转染的3T3细胞的生长减少同样证实了N-糖基化损失的影响，如图7D所示。

[0670] 6.1.3.4转基因小鼠

[0671] 研究了羧基末端MUC16元件在转基因小鼠中表达的作用和自发肿瘤形成速率。产生了表达MUC16^{c354}(完整的c114序列和最近的携带CA125的串联重复)的条件转基因小鼠。使用CMV早期增强子加鸡β肌动蛋白启动子(CAG)来强制所有鼠组织中的大量MUC16^{c354}表达。选择这种策略是因为人类卵巢的生理学与鼠生殖系统非常不同，组织特异性卵巢启动子在转基因系统中一直很弱，相对难于使用。这些小鼠的策略如图9A所示。

[0672] 通过Southern印迹法选择条件转基因动物，如图9B所示，并与EIIa-Cre小鼠交叉产生MUC16^{c354}转基因建立者(founder)。如图9C所示，选择了两个建立者，并产生了MUC16^{c354}转基因小鼠的集落(colony)。两个建立者在许多器官中高度表达MUC16^{c354}，例如脑，结肠，心脏，肾脏，肝脏，肺，卵巢和脾脏。这些小鼠对MUC16^{c354}的广泛异位表达没有影响，具有正常雄性:雌性后代比例，正常生育率和表观正常寿命，超过2年。对来自对照群体的两只表观健康的动物(一只雄性和一只雌性)和MUC16^{c354}转基因小鼠在3个月间隔至1年进行尸检仅在较老的雌性小鼠的轻度/中度子宫内膜增生中显著，但发病率和严重程度与野生型对照无显著性差异。选定的组织如图10所示。在超过100只动物观察2年或以上的集落中，仅观察到一个自发的软组织肿瘤(肉瘤)。

[0673] 基于该结果，我们猜测潜在地需要“第二次命中(second hit)”。值得注意的是，BRCA1突变的鼠模型也需要第二次命中，p53的缺失显著增加了肿瘤的发生频率。将MUC16^{c354}小鼠与The Jackson Laboratory的p53+/-小鼠杂交。早期效果有限。然而，大约6个月后，具有p53+/-的MUC16^{c354}小鼠以比正常对照动物高的速度开始发展软组织和淋巴瘤的自发性肉瘤样肿瘤。选定的肿瘤显示在图9D的面板插图中。这些小鼠的Kaplan-Meier存活率示于图9E。MUC16^{c354}:p53+/-小鼠由于自发性肿瘤发展而显示出显著差的总生存期($p<0.014$)。每组观察到的肿瘤总数为:p53+/-小鼠，20/107只小鼠;MUC16^{c354}和p53+/-小鼠，34/91只小鼠;MUC16^{c354}小鼠，1/72只小鼠;野生型小鼠，0/91只小鼠。当检测8个收集的肿瘤的p53基因组测序时，所有自发性肿瘤均缺失了p53正常等位基因，表明MUC16依赖性肿瘤发生也需要丧失正常的p53功能。

[0674] 6.1.3.5卵巢TCGA

[0675] 基于在实验模型中的MUC16片段的转化和肿瘤侵袭性，检查了MUC16的遗传改变与卵巢癌的结果之间的联系。TCGA卵巢癌项目是一项经过充分研究的收集，包含316例浆液性卵巢癌，具有完整数据，包括临床结果数据。由于MUC16蛋白表达是癌症行为的重要推动因素，分析了MUC16拷贝数对MUC16 mRNA表达的影响。MUC16转录本表达通常与MUC16基因拷贝数相关，尽管在所有检查组中MUC16转录本表达存在广泛的变化(当然，MUC16的稀有纯合缺失除外)。在大多数情况下，MUC16mRNA表达聚集在比包括作为对照的正常输卵管样品更高的转录本数量。基因拷贝数是可能改变MUC16蛋白表达的几个变量之一，但很明显，浆液性卵巢癌中MUC16 mRNA表达(当然也是MUC16蛋白)通常增加。还研究了MUC16过表达或突变对TCGA数据集中临床结果的综合影响。当TCGA数据集分为MUC16表达五分位数时，20％的MUC16表达最高的患者的生存期明显低于MUC16表达较低的患者(p＝0.02969)。如图11A所示，当MUC16突变的18例患者被包括在高MUC16表达组(p＝0.02117)时，这一关系进一步加强。总之，这一分析表明MUC16表达对卵巢癌患者的生存有不利影响，并证实了我们临床前模型中鉴定的MUC16表达的负面生物学效应。

[0676] 卵巢癌常常表现出PI3K途径的激活。这些激活主要通过扩增和过表达而不是点突变事件发生，因为卵巢癌通常以拷贝数的改变为特征。基于PI3K/AKT通路在我们的细胞系模型中的激活，检测了MUC16与PI3K通路中其他激活基因改变的关系。如图11B所示，与MUC16相关的过表达和突变事件通常与其他途径事件互补(如PTEN缺失，AKT1、AKT2或PI3KCA的扩增)。这种MUC16驱动的AKT激活的机制仍然是未知的。此外，检查了ERK激活的作用，但没有确定MUC16表达和ERK通路突变之间的联系。

[0677] 6.1.4讨论

[0678] 编码CA125抗原的MUC16在许多卵巢癌患者的血浆中循环(参见下文第6.1.5节所述的参考文献1)。MUC16因其在苗勒组织之外的有限表达在拴粘蛋白中是独一无二的(参见下文第6.1.5节中所述的参考文献2和14)。虽然越来越多地被视为不依赖于肿瘤体积的不利预后因素，但是其负面影响的生物学机制尚未得到充分的了解(参见下文第6.1.5节所述的参考文献18)。该分子的NH_2部分含有编码CA125抗原的多个串联重复，并且似乎用作间皮素和某些半乳糖凝集素的重要粘附伴侣(图1A)(参见如下文第6.1.5节所述参考文献5、17和24-26)。虽然这些粘附功能已经被认为在MUC16相关的不良结局中至关重要，但是这些研究并没有解释卵巢癌细胞行为的所有观察到的变化。MUC16糖蛋白的克隆提供了关于MUC16基因产物的基本结构信息(参见下文第6.1.5节所述的参考文献4和5)。在该实施例中呈现的数据是第一份数据，显示MUC16可以介导从环境进入癌细胞的信号传导，特别的，本实施例中呈现的数据表明糖基化的MUC16胞外域对于MUC16癌细胞行为的改变至关重要。

[0679] 该实施例证明，来自MUC16的羧基末端的114个氨基酸足以转化NIH/3T3(3T3)细胞，支持增加的软琼脂生长和增加的基质胶侵袭。虽然其他人已经将MUC16的膜最近端C末端部分确定为MUC16诱导的行为的关键因素，但是我们将这些行为与保留的MUC16胞外域中的N-糖基化位点相关联。这些变化与MMP2、MMP9、CXCL12和CDH11等关键的侵袭基因的改变的基因表达谱和增加的表达有关。虽然较长的元件可以诱导更强的行为，但是即使靠近推定切割位点的残留114个氨基酸在3T3细胞中足以诱导侵袭基因表达的相同变化。此外，$MUC16^{c114}$的Asn30(对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1806)的糖基化对于$MUC16^{c114}$致

癌性质是必需的,不受任何特定理论的束缚,这些发现与通过蛋白最近端部分(包括跟随跨膜域和胞质尾区的残余胞外区域(extracellular domain))的“外向内”信号转导最相符。不同于Theriault(Therialt等,Gynecol Oncol 2011,121(3):434-443)和Giannakouros(Giannakouros等,Int.J.Oncol.2015,41(1):91-98),细胞内胞质域缺失比糖基化胞外域缺失的影响小,这些差异可能反映出选择的具体突变和方法学减少表达。“内向外”信号似乎激活了在软琼脂和裸鼠中促进表达MUC16的细胞的植入和生长的基因程序的转录。当检测转染的细胞对常见的致瘤途径的激活时,AKT和ERK通路似乎都被MUC16的组成型表达激活。MUC16增加AKT/ERK磷酸化的机制尚不清楚,需要进一步研究。共沉淀受体的缺失表明也可能涉及其他机制。虽然MUC16序列是非常不同的,但是其他拴粘蛋白(包括MUC1和MUC4)已被证明在3T3细胞和大鼠成纤维细胞中起到信号-产生癌基因的作用(参见下文第6.1.5节所述的参考文献8和9)。粘蛋白对癌细胞表面的作用可能通过仍待定义的机制起重要作用。

[0680] 基于3T3细胞中的发现,MUC16转基因小鼠实验的结果是高度支持性的。本身,相同的MUC16近端354序列可以容易地在几乎所有的鼠组织中表达,在转基因小鼠中没有不利影响。这些小鼠自发性肿瘤形成率非常低,生殖功能似乎没有受到影响。然而,像其他鼠卵巢癌模型一样,p53功能的丧失似乎在MUC16依赖性肿瘤形成中起着很强的许可性作用(参见下文第6.1.5节所述的参考文献27)。这些结果当然与均一的p53失活一致,其表征TCGA数据集中的卵巢癌。

[0681] 这些发现描述了细胞行为和基因转录中的MUC16相关变化。体外和体内模型与浆液性卵巢癌MUC16表达水平的不良反应一致,促进了对于MUC16作为卵巢癌行为的致病因子的理解。增加CA125表达的不利影响与MUC16(+)3T3转染子的增加的体内肿瘤生长和致死率一致(参见下文第6.1.5节所述的参考文献18)。

[0682] 6.1.5实施例1引用的参考文献

[0683] 1.Bast RC Jr,Klug TL,St John E,Jenison E,Niloff JM等,(1983)A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer.N Engl J Med 309:883-887.

[0684] 2.Kabawat SE,Bast RC Jr,Bhan AK,Welch WR,Knapp RC等,(1983)Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC125.Int J Gynecol Pathol 2:275-285.

[0685] 3.Bast RC Jr,Badgwell D,Lu Z,Marquez R,Rosen D等,(2005)New tumor markers:CA125 and beyond.Int J Gynecol Cancer 15 Suppl 3:274-281.

[0686] 4.O’Brien TJ,Beard JB,Underwood LJ,Dennis RA,Santin AD等,(2001)The CA 125 gene:an extracellular superstructure dominated by repeat sequences.Tumour Biol 22:348-366.

[0687] 5.Yin BW,Lloyd KO(2001)Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen:identification as a new mucin,MUC16.J Biol Chem 276:27371-27375.

[0688] 6.Yin BW,Dnistrian A,Lloyd KO(2002)Ovarian cancer antigen CA125 is encoded by the MUC16 mucin gene.Int J Cancer 98:737-740.

[0689] 7.Hollingsworth MA,Swanson BJ(2004)Mucins in cancer:protection and control of the cell surface.Nat Rev Cancer 4:45-60.

[0690] 8.Li Y,Liu D,Chen D,Kharbanda S,Kufe D(2003)Human DF3/MUC1 carcinoma-associated protein functions as an oncogene.Oncogene 22:6107-6110.

[0691] 9.Bafna S,Singh AP,Moniaux N,Eudy JD,Meza JL等,(2008)MUC4,a multifunctional transmembrane glycoprotein,induces oncogenic transformation of NIH3T3 mouse fibroblast cells.Cancer Res 68:9231-9238.

[0692] 10.Huang L,Chen D,Liu D,Yin L,Kharbanda S等,(2005)MUC1 oncoprotein blocks glycogen synthase kinase 3beta-mediated phosphorylation and degradation of beta-catenin.Cancer Res 65:10413-10422.

[0693] 11.Li Q,Ren J,Kufe D(2004)Interaction of human MUC1 and beta-catenin is regulated by Lck and ZAP-70 in activated Jurkat T cells.Biochem Biophys Res Commun 315:471-476.

[0694] 12.Duraisamy S,Ramasamy S,Kharbanda S,Kufe D(2006)Distinct evolution of the human carcinoma-associated transmembrane mucins,MUC1,MUC4 AND MUC16.Gene 373:28-34.

[0695] 13.Ramsauer VP,Carraway CA,Salas PJ,Carraway KL(2003)Muc4/sialomucin complex,the intramembrane ErbB2 ligand,translocates ErbB2 to the apical surface in polarized epithelial cells.J Biol Chem 278:30142-30147.

[0696] 14.Dharma Rao T,Park KJ,Smith-Jones P,Iasonos A,Linkov I等,(2010)Novel Monoclonal Antibodies Against the Proximal(Carboxy-Terminal)Portions of MUC16.Appl Immunohistochem Mol Morphol 18:462-72.

[0697] 15.Corrales RM,Galarreta D,Herreras JM,Saez V,Arranz I等,(2009)Conjunctival mucin mRNA expression in contact lens wear.Optom Vis Sci 86:1051-1058.

[0698] 16.Govindarajan B,Gipson IK(2010)Membrane-tethered mucins have multiple functions on the ocular surface.Exp Eye Res 90:655-663.

[0699] 17.Kaneko O,Gong L,Zhang J,Hansen JK,Hassan R等,(2009)A binding domain on mesothelin for CA125/MUC16.J Biol Chem 284:3739-3749.

[0700] 18.Zorn KK,Tian C,McGuire WP,Hoskins WJ,Markman M等,(2009)The prognostic value of pretreatment CA 125 in patients with advanced ovarian carcinoma:a Gynecologic Oncology Group study.Cancer 115:1028-1035.

[0701] 19.The Cancer Genome Atlas.Available from:http://cancergenome.nih.gov/.

[0702] 20.Cheon DJ,Wang Y,Deng JM,Lu Z,Xiao L等,(2009)CA125/MUC16 is dispensable for mouse development and reproduction.PLoS One 4:e4675.

[0703] 21.Mazzoletti M,Broggini M(2010)PI3K/AKT/mTOR Inhibitors In Ovarian Cancer.Curr Med Chem 17:4433-4447.

[0704] 22.Ventura AP,Radhakrishnan S,Green A,Rajaram SK,Allen AN等,(2010)Activation of the MEK-S6 pathway in high-grade ovarian cancers.Appl Immunohistochem Mol Morphol 18:499-508.

[0705] 23.Strausberg RL,Feingold EA,Grouse LH,Derge JG,Klausner RD等,(2002)Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences.Proc Natl Acad Sci USA 99:16899-16903.

[0706] 24.Seelenmeyer C,Wegehingel S,Lechner J,Nickel W(2003)The cancer antigen CA125 represents a novel counter receptor for galectin-1.J Cell Sci.116(Pt 7):1305-1318.

[0707] 25.Lloyd KO,Yin BW(2001)Synthesis and secretion of the ovarian cancer antigen CA 125 by the human cancer cell line NIH:OVCAR-3.Tumour Biol 22:77-82.

[0708] 26.Liu J,Yang G,Thompson-Lanza JA,Glassman A,Hayes K等,(2004)A genetically defined model for human ovarian cancer.Cancer Res 64:1655-1663.

[0709] 27.Xing D,Orsulic S(2006)A mouse model for the molecular characterization of brca1-associated ovarian carcinoma.Cancer Res 66:8949-8953.

[0710] 28.Rao TD,Rosales N,Spriggs DR(2011)Dual-fluorescence isogenic high-content screening for MUC16/CA125 selective agents.Mol Cancer Ther 10:1939-1948.

[0711] 29.Shinoda Y,Ogata N,Higashikawa A,Manabe I,Shindo T等,(2008)Kruppel-like factor 5 causes cartilage degradation through transactivation of matrix metalloproteinase 9.J Biol Chem 283:24682-24689.

[0712] 30.TCGA(2008)Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways.Nature 455:1061-1068.

[0713] 31.Taylor BS,Schultz N,Hieronymus H,Gopalan A,Xiao Y等,(2010)Integrative genomic profiling of human prostate cancer.Cancer Cell 18:11-22.

[0714] 32.Heller G,Vendatraman E(1996)Resampling procedures to compare two survival distributions in the presence of right censored data.Biometrics 52:1204-1213.

[0715] 6.2实施例2:MUC16糖基化抗体

[0716] 6.2.1介绍

[0717] 被OC125抗体识别的CA125抗原(参见下文第6.2.5节所述的参考文献1)是在来自MUC16糖蛋白的胞外部分的串联重复结构域中表达的重度糖基化抗原(参见参考文献2和3,如下文第6.2.5节所述)。这种循环抗原主要来源于良性或恶性苗勒组织,并被FDA批准作为人类卵巢癌的肿瘤标志物,但其在致癌过程中的功能和作用尚不清楚(参见如下第6.2.5节所述的参考文献4-6)。MUC16属于复杂的拴粘蛋白家族,其由大的重度糖基化的胞外区域、膜与推测的切割位点之间的小的胞外域、疏水性跨膜域和胞内短尾组成(见图1)(参见如下文第6.2.5节所述参考文献7和8)。大多数MUC16蛋白在切割后释放到周围空间,胞外域保留在细胞表面。OC125和大多数其他MUC16反应性单克隆抗体(mAb)与仅存在于分子切割部分的串联重复区中的抗原反应。由于这些表位可能在循环中发现,所以现有的mAb不能用于追踪剩余的MUC16蛋白片段的命运,并且可能不能准确地反映MUC16表达的真实分布(参见下

文第6.2.5节中所述的参考文献9)。其他人已经显示,糖基化表面蛋白质可以通过基于半乳糖凝集素3与酪氨酸激酶受体(如EGFR,PDGFR等)的N-糖基化位点的相互作用来调节细胞增殖和分化(KS Lau Cell 129:123,2007)。如实施例1(参见第6.1节)所示,MUC16的近端部分(少至114个氨基酸)可以转化永生化的3T3细胞,并且这种作用看起来被衣霉素消除。

[0718] 本实施例显示了介导这些作用的精确糖基化位点和半乳糖凝集素3在MUC16依赖性转化中的强制作用。因此,开发了能够以糖基化特异性方式结合近端肽序列(例如,$MUC16^{c114}$)的抗体以抑制关键的MUC16介导的癌症功能,例如粘附和侵袭。通过使用定义的合成N-糖肽抗原作为关键表位模拟物,产生了针对MUC16胞外域内关键N-糖基化位点的单克隆抗体。这些抗体通过降低MUC16驱动的基质胶侵袭、癌基因激活和肿瘤生长来抑制MUC16的致癌生物学,这与其他非糖基化蛋白质导向的mAb相反,后者没有效果。这些抗体证明了粘蛋白转化的机制,并为MUC16阳性肿瘤的诊断和治疗应用提供了有用的工具。

[0719] 6.2.2材料和方法

[0720] 6.2.2.1糖肽的合成

[0721] 使用合成的糖肽作为关键表位模拟物产生了针对MUC16的55个氨基酸序列($MUC16^{c55}$:NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNS(SEQ ID NO:129)的第三糖基化位点(Asn30,类似于MUC16的Asn1806)的特异性抗体,所述模拟物在$MUC16^{c55}$(SEQ ID NO:129,图13)的Asn30上引入定义明确的壳二糖($GlcNAc_2$)。均质的N-糖肽的合成是高度收敛的,涉及部分保护的全长肽($MUC16^{c55}$、SEQ ID NO:129)与壳二糖胺在Lansbury天冬氨酰化条件下的偶联(参见下文第6.2.5节所述的参考文献11)。$MUC16^{c55}$(SEQ ID NO:129)获得自微波辅助的Fmoc固相肽合成(SPPS),然后进行树脂上N-乙酰化(Ac2O,DIEA),Asp^{30}($Pd(PPh_3)_4$,$PhSiH_3$)去烯丙基化(deallyation)和随后的树脂裂解(1-2%TFA/CH2Cl2)。使用单烧瓶(one-flask)天冬氨酰化/去保护流程(如下文第6.2.5节引用的参考文献12所述),将Asn30位置的游离羧酸侧链与壳二糖胺偶联(如下文第6.2.5节引用的参考文献13所述),随后用TFA处理(混合物R:90%TFA,5%硫代苯甲醚,3%乙二硫醇,2%茴香醚),以提供糖肽$GlcNAc_2$-55-mer。伪脯氨酸基序的存在有助于减轻天冬氨酰化期间不希望的天冬酰胺酰亚胺形成。

[0722] 此外,含有$Man_3GlcNAc_2$的肽以类似的单烧瓶顺序制备。

[0723] 制备了包含$MUC16^{c55}$(SEQ ID NO:129)的Asn30和Asn24(分别类似于MUC16的Asn1800和Asn1806)的较短的糖肽(1)18-mer:CTRNGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:130)和(2)15-mer:CGTQLQNFTLDRSSV(SEQ ID NO:131)。将18-mer和15-mer糖肽与血红素血蓝蛋白(KLH)缀合。15-mer(SEQ ID NO:131)在Asn7(类似于MUC16的Asn1806)引入壳二糖。以类似于55-mer糖肽合成的方式合成了15-mer糖肽。

[0724] 18-mer(SEQ ID NO:130)在Asn4和Asn10(分别类似于MUC16的Asn1800和Asn1806)引入壳二糖。18-mer的Asn4和Asn10(类似于MUC16的Asn1800和Asn1806)的烯丙基保护导致显著的天冬酰胺酰亚胺形成。因此,在SPPS中使用较受阻碍的O-2-苯基异丙基酯(O-2-PhiPr,OPp)以在N-乙酰化和同时进行的树脂切割/OPp去除(1-2%TFA/CH2Cl2)后提供具有18-mer的游离Asn4和Asn10侧链(分别类似于MUC16的Asn1800和Asn1806)的部分保护的肽。通过双重Lansbury天冬氨酰化,然后进行全局的酸脱保护,进行了两个壳二糖单元的高度收敛的安装(installation)以产生双糖基化的18-mer肽(HPLC纯化后27%)。

[0725] 18-mer和15-mer糖肽的N-末端半胱氨酸残基与马来酰亚胺衍生的载体蛋白的最终偶联提供了用于小鼠免疫的KLH缀合的构建体。

[0726] 6.2.2.2小鼠免疫方案

[0727] 在用于免疫小鼠的25μL的Titermax佐剂存在下，每三周三次用55-mer糖肽(见6.2.2.1节)免疫5只BALB/c和5只Swiss Webster小鼠。三周后，用单糖基化的15-mer(SEQ ID NO:131)和双糖基化的18-mer(SEQ ID NO:130)KLH缀合的构建体的混合物免疫小鼠。分析血清对55-mer $GlcNAc_2$-糖基化和不缀合KLH的较短的糖肽的反应性。将未糖基化的55-mer、15-mer和18-mer肽与两个MUC16无关的含壳二糖的肽一起用作筛选的阴性对照。进一步每三周用15-mer和18-mer KLH缀合物另外两次免疫小鼠，每次免疫后通过ELISA分析反应。

[0728] 6.2.2.3侵袭

[0729] 参见6.1.2.9节。对于shRNA实验，从BD Biosciences，MA购买BD BioCoat™ Matrigel™侵袭插入物或室(24孔板中的目录#354480)和对照插入物(24孔板中的目录#354578)。按照制造商的方案进行基质胶侵袭测定。简言之，允许24孔板(-20℃储存)和对照插入物(4℃储存)的基质胶室达到室温。在24孔板的内部(insert)以及外部孔中将两种插入物用0.5mL无血清培养基在37℃5％CO_2加湿培养箱中再水化2小时。培养的SKOV3细胞被胰蛋白酶化并用培养基洗涤。将一百万个细胞分离至另一离心管并用无血清培养基洗涤3次。稍后调整这些细胞以在0.5mL无血清培养基中得到5,000个细胞。去除再水化插入物中的培养基，并将插入物转移到新的24孔板中，所述24孔板在孔中含有0.75mL的含10％胎牛血清(FBS)培养基，该培养基用作化学引诱剂。立即将0.5mL无血清培养基中的细胞(5,000个细胞)加入到插入物中。要适当注意，没有气泡被困在插入物和外部的孔中。将24孔板在37℃5％CO_2加湿培养箱中孵育48小时。孵育后，通过将棉花尖棉签插入基质胶或对照插入物中并轻轻地施加压力，同时将棉签的尖端移动到膜表面上，通过“擦洗”从膜的上表面去除非侵袭细胞。用浸有培养基的第二个棉签重复擦洗过程。然后将插入物在含有0.5％结晶紫染色剂的0.5mL蒸馏水中的新24孔板中染色30分钟。染色后，将插入物在3个蒸馏水烧瓶中冲洗以除去多余的染色剂。在新的24孔板中将插入物风干。在倒置显微镜下以200倍放大倍率手工计数侵袭细胞。计数三个平行膜的几个领域，并记录在图中。

[0730] 6.2.2.4无胸腺裸鼠中的肿瘤生长

[0731] 参见第6.1.2.11节6.1.2.11。

[0732] 6.2.2.5生物素化糖肽的结合分析

[0733] 使用ForeBio Octet QK测定结合亲和力。将5μg/mL生物素化的壳二糖缀合的18-mer糖肽加载到链霉亲和素生物传感器上。洗去过量抗原后，分别用10μg/mL的小鼠抗体进行结合和解离步骤的检测。使用1:1结合位点模型计算结合参数，部分拟合。

[0734] 6.2.2.6组织微阵列的免疫组织化学

[0735] 预先存在的石蜡包埋组织的核心针活检从所谓的供体块获得，然后通过使用Kononen等人的技术被重新定位到受体石蜡排列的“主”块中。(参见Kononen J等，Nat Med 1998;4(7):8447)，随后通过Hedvat等人修饰(参见Hedvat CV等人Hum Pathol 2002;33(10):968-74)。使用来自Beecher Instruments Inc.(Sun Prairie,WI)的手动组织阵列MTA-1用于产生直径为0.6至1.0mm的样品圆形斑点(芯)。芯彼此间隔0.3至0.4毫米进行排

列。策略性地将一层对照组织置于实际组织微阵列周围，以避免边界效应。下面描述了每种组织微阵列的具体组成。通过从福尔马林固定的石蜡包埋组织切割4um切片来制备用于卵巢癌或对照组织的组织微阵列的玻片。

[0736] 在组织微阵列标准OC125(Ventana，Tuscon，AZ)、4H11(参见Rao等Appl.Immunohistochem Mol Morphol，2010，18(5):462-72)和19C11单克隆抗体上进行免疫组织化学。将组织微阵列的切片切成4微米，置于Superfrost/Plus显微镜载玻片(Fisher品牌)上，并在60°烘箱中烘烤至少60分钟。然后将载玻片脱蜡并水合至蒸馏水，在pH 6.00的柠檬酸盐缓冲液中于97℃浸泡30分钟，在流水中洗涤2-5分钟，在蒸馏水中稀释的3％过氧化氢中孵育5分钟。将载玻片在蒸馏水中洗涤1分钟，转移到pH7.2的磷酸盐缓冲盐水(PBS)浴中，进行两次变化，每次5分钟，并置于用PBS稀释的0.05％BSA中至少1分钟。在围绕组织切片干燥后，以1:20稀释度在2％BSA/PBS中施用正常血清，并在室温下在湿度室中孵育至少10分钟。然后吸出血清，而不允许切片干燥，将约150λ的新抗体以1:1000稀释度置于组织上。将载玻片在4℃在湿度室中孵育过夜(约15-18小时)。使用三个变化的PBS洗涤一抗，每次10分钟。在1％BSA/PBS中以1:500的稀释度施用来自Vector实验室(Burlingame，Ca)的二抗，生物素化的α小鼠，并在室温下在湿度室中温育45-60分钟。如上所述再次使用三个变化的PBS洗脱抗体。然后将玻片转移到二氨基联苯胺(DAB)浴中，在PBS中稀释5-15分钟。然后将玻片在自来水中洗涤1分钟，使用Harris修饰的苏木精(Fisher)对染色，用1％酸性醇和氨水中的蓝(blue)脱色，用95％乙醇，100％乙醇和二甲苯的3个变化各脱水2分钟，盖上永久封固剂。

[0737] 6.2.2.7内化分析

[0738] 在表达$MUC16^{c114}$的SKOV3细胞上研究^{89}Zr-19C11的内化。将大约1×10^5个细胞接种在12孔板中，并在37℃5％CO_2培养箱中温育过夜。将一体积的放射性标记蛋白加入各孔中，将板在37℃和4℃下孵育1、5、12和24小时。在每个孵育期后，收集培养基，并用1mL磷酸盐缓冲盐水(PBS)冲洗细胞。通过在4℃下用含100mM甘氨酸(1:1，pH3.5)的1mL的100mM乙酸中洗涤细胞来收集表面结合的活性。然后将粘附的细胞用1mL的1M NaOH裂解。收集每次洗涤并计数活性。使用最终洗涤的活性与所有洗涤物的总活性的比率来确定内化的百分比。

[0739] 6.2.3结果

[0740] 6.2.3.1 MUC16病理生物学依赖于MUC16胞外域C端的N-糖基化。

[0741] 实施例1(参见第6.1节)表明$MUC16^{c114}$的表达导致3T3小鼠成纤维细胞的体外/体内行为更具侵袭性，导致$MUC16^{c114}$驱动的基质胶侵袭显著增加，并且更迅速的体内肿瘤生长。因此，检测了SKOV-3细胞系(MUC16表达缺失的人类卵巢细胞系)的$MUC16^{c114}$依赖性质的影响。$MUC16^{c114}$表达导致细胞表面表达，并且基质胶侵袭增加近3倍(图12A的泳道1和2)。侵袭的这种增加取决于$MUC16^{c114}$的氨基酸位点1(Asn1)、24(Asn24)和30(Asn 30)(分别对应成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1777、Asn1800和Asn1806;$MUC16^{c114\text{-}N123}$)的天冬酰胺的N-糖基化，因为Asn30突变为丙氨酸($MUC16^{c114\text{-}N3}$，图12A，泳道3)，Asn1和Asn24突变为丙氨酸($MUC16^{c114\text{-}N12}$，图12A，泳道4)和Asn1、Asn24和Asn30突变为丙氨酸($MUC16^{c114\text{-}N123}$，图12A，泳道4)，去除了基质胶侵袭。还参见图12B。此外，$MUC16^{c114}$诱导的增加的基质胶侵袭依赖于MGAT5(涉及N-糖基化反应的第一个酶)和/或LGALS3(在许多高级浆液性癌症中扩增的酶)，因为降低的MGAT5或LGALS3表达的敲低shRNA实验具有与N-糖基化位点处的$MUC16^{c114}$突变

相似的作用，并且将侵袭降低到接近基础水平(图12A，泳道6-10)。

[0742] 致癌转化的最明确的标志是促进免疫缺陷小鼠生长的能力。为了测量MUC16N-糖基化、MGAT5和LGALS2对肿瘤生长速度的影响，采用了侧腹部肿瘤模型来便于常规肿瘤测量。如图12C所示，当将表达载体(phrGFP)、$MUC16^{c114}$、$MUC16^{c114-N123}$、$MUC16^{c114}$和抗MGAT5shRNA($MUC16^{c114}$-shMGAT5)或$MUC16^{c114}$和抗LGALS3shRNA($MUC16^{c114}$-shLGALS3)的3T3细胞系植入到无胸腺裸鼠侧腹时，与仅载体对照组相比，只有$MUC16^{c114}$ 3T3细胞在24天形成较大的肿瘤。这些数据证实了体外分析，表明MUC16N-糖基化、MGAT5和LGALS3是肿瘤生长所必需的。

[0743] 6.2.3.2作为mAb开发的关键表位模拟物的均匀N-糖肽的合成

[0744] 由于$MUC16^{c114}$的Asn30位点(对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn 1806；$MUC16^{c114-N3}$))的N-糖基化被确定为MUC16致癌作用的中心要求，因此进行了SKOV3细胞中表达的$MUC16^{c114-N12}$的聚糖谱分析，因为$MUC16^{c114-N12}$保留在Asn30(对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1806)被N-糖基化的能力。该糖组分析显示该C末端MUC16片段具有高度多样化的N-糖基化模式，其中关键的壳二糖($GlcNAc_2$)干作为附着各种甘露糖部分的最小重复单元(图13A)。

[0745] 因此，产生糖基化导向的mAb以努力抑制MUC16对转移和侵袭的糖基化依赖性作用。将这些抗体设计成靶向在MUC16胞外域($MUC16^{C55}$；SEQ ID NO:129)中较短的55个氨基酸序列上含有至关重要的第三糖基化位点($MUC16^{c114}$的Asn30)的N-糖肽表位。关于用作免疫原的糖肽的合成的描述参见第6.2.2.1节和图13B，13C，13D。有关免疫过程的描述参见第6.2.2.2节。

[0746] 使用在对应于$MUC16^{c114}$的Asn24和/或Asn30的氨基酸残基(分别对应成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1800和Asn1806)处包含壳二糖的短(55-mer，18-mer和15-mer)MUC16糖肽通过免疫产生抗体。除了作为较大N聚糖共有的最小基序之外，壳二糖还可以使潜在的MUC16衍生肽更好地暴露以诱导抗体，所述抗体不仅显示出对聚糖的依赖性，而且还显示肽特异性。与正常细胞相比，这种低糖基化是肿瘤细胞表面粘糖蛋白的一个常见的区别性特征。

[0747] 6.2.3.3用合成糖肽/糖缀合物进行小鼠免疫接种及血清学分析

[0748] 根据6.2.2.2节中描述的方案进行小鼠免疫接种和血清采集。在用$GlcNAc_2$-55-mer进行三次免疫后(图13B)，用KLH缀合的构建体的混合物(单糖基化的15-mer(SEQ ID NO:131；图13C)和双糖基化的18-mer(SEQ ID NO:130；图13D))进一步免疫小鼠，10只小鼠中的2只显示了针对两种55-mer(具有和不具有$GlcNAc_2$)的阳性ELISA信号，但是反应通常较弱，表明小鼠未完全被55-mer免疫接种致敏。使用KLH缀合物($GlcNAc_2$-15-mer(图13C)；和$(GlcNAc_2)_2$-18-mer(图13D))进行两次额外免疫，导致针对较短的15-mer和18-mer糖肽的IgG免疫应答增强，特别是在两只老鼠(小鼠7和小鼠8)中。然而，通过ELISA测定，这些抗体没有显示与55-mer-glyco-肽的任何可检测的反应性，这表明在该特定分析中，该大片段中的表位是不可接近的或构象上不同的。响应两种55-mer(含壳二糖的和/或非糖基化的肽)的小鼠5对$Man_3GlcNAc_2$衍生的55-mer是阴性的。毫不奇怪，针对非糖基化肽骨架的4H11mAb(Rao等Appl.Immunohistochem Mol Morphol，2010，18(5):462-72)没有显示出与未缀合的15/18-mer糖肽的结合，表明可获得表位可能存在一些差异。参见图14。

[0749] 6.2.3.4糖基化依赖性单克隆抗体的开发和体外生物测定——MUC16驱动的基质胶侵袭

[0750] 选择10只小鼠中的一只(小鼠7),其血清与非糖基化糖肽相比显示与短糖肽的最高的反应性比例,因此显示出对糖的存在的一些偏好。收获小鼠7的脾脏,标准杂交瘤培养技术提供了产生IgG的杂交瘤细胞系。脾细胞与杂交瘤融合伴侣融合,得到非常高的融合效率(平均>5.5个菌落/孔,>30,000个杂交瘤)。选择上清液并通过ELISA筛选针对各个糖肽的反应性。针对15-mer-壳二糖肽和18-mer-壳二糖肽(在同一个孔中组合)的融合试验板的初步ELISA分析显示一些阳性信号,其指示存在抗肽抗体,尽管在此刻其糖基化依赖性不能被充分评估。参见图14。然而,与非糖基化的相比,观察到更高比例的具有有利阳性的抗体,因此对于壳二糖糖基化的抗原具有更高特异性。在培养稀释后,获得在每个孔中生长的单个克隆(1:1比例以上),初步筛选显示由这些杂交瘤产生的抗体不识别接近非糖基化的15-/18-mer的4H11表位。参见图14。在更高稀释度下完成单克隆抗体筛选之后,获得了表现出糖肽表位优先的抗体。因此,该方法提供了36种壳二糖依赖性原代mAb,其被测试对MUC16的反应性。在这些中,通过用SKOV3-MUC16^{c114}转染子的基质胶测定法评估了15个mAb(与4H11平行)对侵袭的作用(图15A)。MUC16糖基化抗体1B5、10C6、13A7、18C6、19C11、16C5、6H10、21F8、7B12显示抑制基质胶侵袭,而4H11对该特性没有影响,表明针对MUC16^{c114}的Asn30(对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1806)的抗体抑制MUC16的生物学。MUC16糖基化抗体随后被亚克隆并纯化。确定某些MUC16糖基化抗体的结合参数(参见表9)。

[0751] 表9.MUC16糖基化抗体的结合参数

[0752]

抗体	k_d(1/s)	k_d的误差(1/s)	k_a(1/s)	K_D(nM)
10C6.E4	*	-	**	>1000
19C11.H6	$2.42x10^{-3}$	$2.35x10^{-4}$	$3.80x10^{4}$	63.7
13A7.C8	*	-	**	>1000
16C5.C1	$1.72x10^{-3}$	$1.20x10^{-4}$	$6.68x10^{4}$	25.7
7B12.B3	$1.04x10^{-3}$	$1.09x10^{-4}$	$7.50x10^{4}$	13.8
18C6.D12	$6.78x10^{-4}$	$1.83x10^{-4}$	$6.14x10^{4}$	11.1
1B5.A7	$1.49x10^{-3}$	$1.12x10^{-4}$	$7.35x10^{4}$	20.2
4H11	-	-	-	-

[0753] *=低计算置信度;未拟合解离率

[0754] **=ka对于关联率测定而言过低

[0755] 最后,与4H11或OC125进行的免疫组织化学(图16E)相比,用MUC16糖基化抗体10C6进行的人卵巢组织样品的免疫组织化学显示改善的MUC16检测。

[0756] 6.2.3.5 MUC16糖基化抗体对MUC16糖基化具有特异性。

[0757] 为了研究MUC16糖基化抗体的特异性,对(i)表达天然(成熟)MUC16的细胞(OVCA-433细胞);(ii)缺失MUC16表达,表达对照载体(SKOV3 phrGFP细胞)的SKOV3细胞;(iii)表达MUC16^{c114}的SKOV3细胞(SKOV3 MUC16^{c114});(iv)表达MUC16$^{c114\text{-}N1}$的SKOV3细胞(SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N1}$),(v)表达MUC16$^{c114\text{-}N3}$的SKOV3细胞(SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N3}$),或(vi)在存在或不存在MUC16糖基化抗体(18C6、19C11、10C、1B5或13A7)或单克隆抗MUC16抗体4H11(表10)的情况下表达SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N123}$的SKOV3细胞(SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N123}$)进行FAC分析。抗体4H11、

18C6、19C11、10C6、1B5和13A7显示与OVCA-433细胞的结合(表10;比较ID NO:3-8和阴性对照,ID NO:1和2)。相比之下,如基于研究的设计和抗体的产生所预期的,抗体4H11、18C6、19C11、10C6、1B5和13A7均未结合SKOV3phrGFP细胞(表10,ID NO:11-16,与阴性对照ID NO:9和10相比)。抗体4H11,18C6,19C11,10C6,1B5和13A7结合SKOV3 $MUC16^{c114}$(表10,ID NO:19-24,与阴性对照ID NO:17和18相比)。$MUC16^{c114}$的Asn1(对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1777)的突变不抑制抗体与SKOV3 $MUC16^{c114-N1}$细胞的结合(表10,ID NO:27-32,与阴性对照ID NO:25和26相比)。然而,$MUC16^{c114}$的Asn30(对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1806)的突变消除MUC16糖基化抗体18C6,19C11,10C6,1B5和13A7的结合(表10,ID NO:36-40,与阴性对照ID NO:33和34相比)。此外,$MUC16^{c114}$(对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1806)的Asn30的突变没有消除抗体4H11的结合,后者不是MUC16糖基化抗体(表10,ID NO:35,与阴性对照ID NOs:33和34相比)。此外,Asn1、Asn24和Asn30(分别对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1777、Asn1800和Asn1806)上的天冬酰胺至丙氨酸突变消除了MUC16糖基化抗体18C6,19C11,10C6和1B5的结合(表10、ID NOs:44-47,与阴性对照ID NOs:41和42相比),而4H11的结合没有被消除。注意,13A7维持与SKOV3 $MUC16^{c114-N123}$细胞的结合。这些数据表明MUC16糖基化抗体以糖基化依赖的方式结合$MUC16^{c114}$。

[0758] 表10.用OVCA-433或SKOV3转染细胞进行MUC16糖基化抗体的FAC分析

[0759]

ID NO	MUC16 糖基化抗体	平均%PE
1	OVCA-433 细胞	0.12*
2	OVCA-433 + G 抗 M IgG PE	5.01*
3	OVCA-433 + 4H11 + G 抗 M IgG PE	82.4
4	OVCA-433 + 18C6 + G 抗 M IgG PE	91.4
5	OVCA-433 + 19C11 + G 抗 M IgG PE	93.7
6	OVCA-433 + 10C6 + G 抗 M IgG PE	84.5
7	OVCA-433 + 1B5 + G 抗 M IgG PE	94.6
8	OVCA-433 + 13A7 + G 抗 M IgG PE	92.8

[0760]

ID NO	MUC16 糖基化抗体	平均%PE
9	SKOV3 phrGFP 细胞	1.01*
10	SKOV3 phrGFP + G 抗 M IgG PE	1.2*
11	SKOV3 phrGFP + 4H11 + G 抗 M IgG PE	3.39*
12	SKOV3 phrGFP + 18C6 + G 抗 M IgG PE	2.09*
13	SKOV3 phrGFP + 19C11 + G 抗 M IgG PE	1.69*
14	SKOV3 phrGFP + 10C6 + G 抗 M IgG PE	1.84*
15	SKOV3 phrGFP + 1B5 + G 抗 M IgG PE	1.5*
16	SKOV3 phrGFP + 13A7 + G 抗 M IgG PE	2.66*
17	SKOV3 MUC16^{cl14} 细胞	0.218*
18	SKOV3 MUC16^{cl14} + G 抗 M IgG PE	2.42*
19	SKOV3 MUC16^{cl14} + 4H11 + G 抗 M IgG PE	85.7
20	SKOV3 MUC16^{cl14} + 18C6 + G 抗 M IgG PE	73.1
21	SKOV3 MUC16^{cl14} + 19C11 + G 抗 M IgG PE	69.3
22	SKOV3 MUC16^{cl14} + 10C6 + G 抗 M IgG PE	72.9
23	SKOV3 MUC16^{cl14} + 1B5 + G 抗 M IgG PE	73.2
24	SKOV3 MUC16^{cl14} + 13A7 + G 抗 M IgG PE	68.4
25	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N1}$ 细胞	0.139*
26	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N1}$ + G 抗 M IgG PE	2.84*
27	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N1}$ + 4H11 + G 抗 M IgG PE	91.5
28	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N1}$ + 18C6 + G 抗 M IgG PE	83
29	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N1}$ + 19C11 + G 抗 M IgG PE	81.7
30	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N1}$ + 10C6 + G 抗 M IgG PE	83
31	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N1}$ + 1B5 + G 抗 M IgG PE	85.4
32	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N1}$ + 13A7 + G 抗 M IgG PE	84.5
33	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N3}$ 细胞	0.0202*
34	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N3}$ + G 抗 M IgG PE	0.856*
35	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N3}$ + 4H11 + G 抗 M IgG PE	15.6
36	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N3}$ + 18C6 + G 抗 M IgG PE	1.48*
37	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N3}$ + 19C11 + G 抗 M IgG PE	1.25*
38	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N3}$ + 10C6 + G 抗 M IgG PE	1.4*
39	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N3}$ + 1B5 + G 抗 M IgG PE	1.06*
40	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N3}$ + 13A7 + G 抗 M IgG PE	2.39*
41	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N123}$ 细胞	0.274*
42	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N123}$ + G 抗 M IgG PE	7.02*
43	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N123}$ + 4H11 + G 抗 M IgG PE	32.3
44	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N123}$ + 18C6 + G 抗 M IgG PE	11.6*
45	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N123}$ + 19C11 + G 抗 M IgG PE	5.25*
46	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N123}$ + 10C6 + G 抗 M IgG PE	5.84*
47	SKOV3 MUC16$^{cl14\text{-}N123}$ + 1B5 + G 抗 M IgG PE	7.39*

[0761]

ID NO	MUC16 糖基化抗体	平均%PE
48	SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N123}$ + 13A7 + G 抗 M IgG PE	28.7

[0762] *表示没有观察到结合。

[0763] 6.2.3.6 MUC16糖基化抗体抑制基质胶侵袭。

[0764] 鉴于MUC16糖基化抗体的糖基化特异性(表9),评估了MUC16糖基化抗体生物反应性上清液以糖基化特异性方式抑制基质胶侵袭的能力。因此,在存在(图15A,泳道3-18)或不存在(图15A,泳道1和2)MUC16糖基化抗体生物反应性上清液的情况下,用表达phrGFP(图15A,泳道1)或phr-GFP-MUC16^{c114}(MUC16^{c114};图15A,泳道2-18)的SKOV3卵巢癌稳定细胞系进行基质胶侵袭测定。MUC16单克隆抗体4H11(图15A,泳道3)被用作MUC16糖基化抗体生物活性上清液的对照(图15A,泳道4-18),以评估基质胶侵袭中的糖基化依赖性。单独存在或在4H11存在下(图15A,泳道2和3)MUC16^{c114}的表达导致基质胶侵袭活性的增加。相比之下,与MUC16糖基化抗体(图15A,泳道4-18)的温育降低了表达MUC16^{c114}的卵巢癌细胞的基质胶侵袭。

[0765] 接下来,评估了纯化的MUC16糖基化抗体抑制基质胶侵袭的能力。为此,将表达MUC16^{c114}的SKOV3细胞在存在和不存在MUC16抗体4H11或纯化的MUC16糖基化抗体(图15B)下孵育。MUC16糖基化抗体7B12、19C11、18C6和10C6抑制MUC16^{c114}诱导的基质胶侵袭(图15B,比较泳道3-6和阴性对照,泳道2)。相比之下,单克隆抗MUC16抗体4H11不抑制MUC16^{c114}诱导的基质胶侵袭(图15B,比较泳道2和阴性对照,泳道1)。这些数据表明,与单克隆抗体4H11相反,MUC16糖基化抗体(例如7B12、19C11、18C6和10C6)阻断基质胶侵袭。

[0766] 在MUC16^{c114}N-糖基化突变体的背景中测定了MUC16糖基化抗体抑制基质胶侵袭的能力(图16A)。为此,对SKOV3phrGFP细胞,SKOV3MUC16^{c114}细胞,SKOV3MUC16$^{c114\text{-}N1}$细胞,SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N2}$细胞或SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N3}$细胞(图16A,分别为泳道1-5)进行基质胶侵袭测定,其中存在:(i)对照抗体;(ii)4H11抗体;或(iii)MUC16糖基化抗体10C6。MUC16^{c114}诱导的基质胶侵袭在SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N3}$细胞中被抑制,因为MUC16^{c114}的Asn30对MUC16^{c114}基质胶侵袭是必需的。此外,在存在和不存在MUC16单克隆抗体4H11的情况下,在SKOV3 MUC16^{c114}细胞,SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N1}$细胞和SKOV3 MUC16$^{c114\text{-}N2}$细胞中诱导基质胶侵袭。相比之下,这些细胞与MUC16糖基化抗体10C6的温育消除了基质胶侵袭(图16A)。这些数据也在图16B和表达MUC16^{c344}突变体的3T3细胞(图16C)中得到证实。

[0767] 总之,这些数据表明,与单克隆抗MUC16抗体4H11相反,MUC16糖基化抗体能够以糖基化依赖性方式抑制基质胶侵袭。

[0768] 6.2.3.7 MUC16糖基化抗体19C11被内化。

[0769] 最后,评价了靶向MUC16^{c114}的Asn30的MUC16糖基化抗体被内化的能力。将表达MUC16^{c114}的SKOV3细胞与^{89}Zr-DFO-标记的19C11抗体一起孵育并通过放射性示踪剂测定内化(图17)。这些数据表明,早在用抗体处理1小时后,当在37℃孵育下与表达MUC16^{c114}的SKOV3细胞一起孵育时,标记的19C11抗体被内化。标记抗体的细胞摄取在4℃下降低。

[0770] 6.2.4讨论

[0771] MUC16/CA125抗原——与MUC1具有实质同源性的粘蛋白家族成员——长期以来与妇科恶性肿瘤关联(参见下文第6.2.5节所述的参考文献4)。尽管作为一般筛选工具没有足

够的敏感性或特异性,CA125测量经常用于通过基于抗体的检测方法监测卵巢癌患者。绝大多数的MUC16反应性抗体,例如OC125,是针对分子切割部分中发现的糖基化依赖性表位,并且不能用作检测切割后的MUC16的近端部分的筛选工具。因此,缺乏对剩余的MUC16蛋白片段的生物学研究。实施例1(第6.1节)中的数据证明近端MUC16区域的114个氨基酸序列($MUC16^{C114}$)足以增加几个卵巢癌细胞系的侵袭和肿瘤生长。本文中惊人的发现,该C末端胞外域的N-糖基化,特别是在第三Asn位点(Asn30,对应于成熟MUC16(SEQ ID NO:150)的Asn1806)),对于MUC16致癌作用至关重要,这表明MUC16新的作用,其可以被认为不仅是疾病的被动标志物,而且还被认为是病原分子。基于这一前提,针对这些MUC16保留部分的单克隆抗体的开发似乎是探索这种粘蛋白的病理生物学和创造MUC16靶向治疗药物的有力工具。

[0772] 以前的研究确定了针对MUC16的非切割的C-末端区域的mAb,尽管与现有抗体相反,它们被引导至非糖基化肽骨架而不是复合糖蛋白表位。特别地,4H11表现出与MUC16胞外域的高亲和力结合,并且由于表位的邻近位置而比OC125更有效地被卵巢癌细胞内化。该发现表明,糖蛋白的近端区域具有远离推测切割位点的MUC16的脱落部分的独立生物学。然而,由于4H11不识别MUC16致病作用所必需的胞外域内的关键糖基化位点,因此其在靶向治疗中未来研究的潜力是有限的。

[0773] 通过使用KLH缀合的合成糖肽模拟物与杂交瘤技术结合,开发了针对MUC16胞外域中关键糖肽表位的一组糖基化依赖性单克隆抗体。该方法优于多克隆抗体产生,因为在多克隆阶段,糖肽特异性不完全,并且还检测到与非糖基化MUC16肽片段的一些结合。为了获得MUC16糖基化抗体,单克隆抗体产生的主要选择是基于与糖存在的某种程度的偏好相关的多克隆培养物中糖基化依赖性的较高比例。已经通过研究它们对MUC16驱动的基质胶侵袭的影响来证明新的单克隆抗体的功能及其对糖肽表位的更高的特异性。这些MUC16糖基化抗体能够抑制基质胶体测定中的侵袭,而针对非糖基化的4H11则不能。基于发现在Asn30N糖基化对于MUC16作用是必需的,这些结果证实新产生的抗体特异性靶向MUC16胞外域的关键糖肽表位,这导致MUC16病理生物学的抑制。重要的是,MUC16糖基化抗体10C6在植入表达$MUC16^{c114}$的卵巢癌细胞的无胸腺裸鼠模型中显著延迟MUC16阳性肿瘤生长,证明这些单克隆抗体作为优化临床应用中有希望的治疗工具的潜力。

[0774] 6.2.5引用的参考文献

[0775] 1.Bast,R.C.Jr.等,Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.J.Clin.Invest.68,1331-1337(1981).

[0776] 2.Yin,B.W.&Lloyd,K.O.Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen:identification as a new mucin,MUC16.J.Biol.Chem.276,27371-27375(2001).

[0777] 3.O'Brien,T.J.等,The CA 125 gene:an extracellular superstructure dominated by repeat sequences.Tumor Biol.22,348-366(2001).

[0778] 4.Bast,R.C.Jr.等,CA125:the past and the future.Int.J.Biol.Markers 13,179 187(1998).

[0779] 5.Rustin,G.J.S.Use of CA-125 in clinical trial evaluation of new therapeutic drugs for ovarian cancer.Clin.Cancer Res.10,3919-3926(2004).

[0780] 6.Scholler,N.&Urban,N.CA125 in ovarian cancer.Biomark.Med.1,513-523(2007).

[0781] 7.Yin,B.W.,Dnistrian,A.&Lloyd,K.O.Ovarian cancer antigen CA125 is encoded by the MUC16 mucin gene.Int.J.Cancer 2002,98,737-740.

[0782] 8.O'Brien,T.J.,Beard,J.B.,Underwood,L.J.&Shigemasa,K.The CA 125 gene:a newly discovered extension of the glycosylated N-terminal domain doubles the size of this extracellular superstructure.Tumor Biol.23,154-169(2002).

[0783] 9.Nap,M.等,Immunohistochemical characterization of 22 monoclonal antibodies against the CA125 antigen:2nd report from the ISOBM TD-1 workshop.Tumor Biol.17,325-331(1996).

[0784] 10.Rao,T.D.等,Novel monoclonal antibodies against the proximal(carboxy-terminal)portions of MUC16.Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol.18,462-472(2010).

[0785] 11.Cohen-Anisfeld,S.T.,Lansbury,P.T.A practical,convergent method for glycopeptide synthesis.J.Am.Chem.Soc.115,10531-10537(1993).

[0786] 12.Wang,P.,Aussedat,B.,Vohra,Y.&Danishefsky,S.J.An advance in the chemical synthesis of homogeneous N-linked glycopolypeptides by convergent a spartylation.Angew.Chem.Int.Ed.51,11571-11575(2012).

[0787] 13.Likhosherstov,L.M.,Novikova,O.S.,Derevitskaja,V.&Kochetkov,N.K.A new simple synthesis of amino sugarβ-d-glycosylamines.Carbohydr.Res.146,C1-C5(1986).

[0788] 14.Nakada,H.等,Epitopic structure of Tn glycophorin A for an anti-Tn antibody(MLS 128).Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90,2495-2499(1993).

[0789] 15.Osinaga,E.等,Analysis of the fine specificity of Tn-binding proteins using synthetic glycopeptide epitopes and a biosensor based on surface plasmon resonance spectroscopy.FEBS Lett.469,24-28(2000).

[0790] 16.Mazal,D.等,Monoclonal antibodies toward different Tn-amino acid backbones display distinct recognition patterns on human cancer cells.Implications for effective immuno-targeting of cancer.Cancer Immunol.Immunother.62,1107-1122(2013).

[0791] 17.Rosen,D.G.等,Potential markers that complement expression of CA125in epithelial ovarian cancer.Gynecol Oncol.99,267-277(2005).

[0792] 18.Moore,R.G.,Maclaughlan,S.&Bast,R.C.Jr.Current state of biomarker development for clinical application in epithelial ovarian cancer.Gynecol Oncol.116,240-245(2010).

[0793] 6.3实施例3:MUC16的肿瘤促进作用需要与半乳糖凝集素-3和细胞表面受体的相互作用

[0794] 该实施例提供(a)实施例2(第6.2节)中描述的某些实验的更详细的描述;和(b)与实施例2(第6.2节)相比的另外的实验。

[0795] 6.3.1介绍

[0796] MUC16/CA125的过度表达在浆液性卵巢癌中是常见的,并且升高的血清CA125水平与存活率降低相关。OC125抗体识别的CA125抗原是来自MUC16糖蛋白胞外部分的串联重复结构域内表达的重度糖基化抗原(参见下文第6.3.13节中的参考文献3和22)。该抗原主要由良性或恶性的苗勒组织表达,但其在癌发生中的功能和作用目前尚未完全了解(参见下文第6.3.13节中的参考文献4)。MUC16是一种高度复杂的拴粘蛋白,其由大的非均匀糖基化胞外区域、细胞膜与推测切割位点之间的58个氨基酸的胞外域、疏水性跨膜区和细胞内短尾组成(见下文第6.3.13节参考文献21)。OC125和大多数其他MUC16反应性单克隆抗体(mAb)识别分子切割部分中存在的免疫原性156个氨基酸串联重复区。更新的胞外域特异性抗体(例如4H11和4A5)识别MUC16的切割后保留部分中的肽表位(参见下文第6.3.13节中的参考文献6)。已经证明MUC16的C-末端部分($MUC16^{c114}$)能够通过转化永生化的3T3细胞,如通过增加的锚定非依赖生长、AKT和ERK途径的激活、增加的基质胶侵袭和增强的裸鼠异种移植物的生长测量得到的(参见第6.1节和下文第6.3.13节中的参考文献19)。这些效应依赖于MUC16的胞外域,而31个氨基酸的胞质尾巴的缺失对这些性质影响不大。胞外域促进致癌行为的机制尚未完全了解(参见下文第6.3.13节中的参考文献19)。虽然不存在共有的蛋白质结合结构域,但MUC16胞外域的58个氨基酸序列包括三个N-糖基化位点,其代表MUC16与其它细胞表面分子的潜在相互作用/调节位点。

[0797] 酪氨酸激酶受体如表皮生长因子受体(EGFR)、血小板衍生生长因子受体(PDGFR)及其它等的N-糖基化位点似乎与细胞凝集素如半乳糖凝集素-3相互作用以调节表面驻留、信号强度和细胞行为(见下文第6.3.13节参考文献12)。N-糖基化的影响取决于生长增强受体上N-糖基化位点的数量和半乳糖凝集素-3对复合N-糖基化种类的亲和力。来自细胞表面分子如转化生长因子-β(TGF-β)受体的反补体抑制信号的N-糖基化位点较少。这些受体对生长因子相关的高营养通量敏感,并在正常情况下提供抑制功能。然而,癌症相关糖蛋白与经典受体酪氨酸激酶相互作用的机制尚不清楚。MUC1、MUC4和MUC16都是重度糖基化的拴糖蛋白,其特征在于跨膜域的存在并在上皮癌中过表达(参见下文第6.3.13节中的参考文献10)。

[0798] 该实施例(第6.3节)表明,MUC16的糖基化通过介导复合细胞表面相互作用在粘蛋白相关转化中起关键作用。

[0799] MUC16的C末端部分促进癌基因激活、基质胶侵袭和肿瘤生长。这些作用依赖于保留58个氨基酸的MUC16胞外域中两个近端N糖基化位点的MGAT5依赖性糖基化。更远端的MUC16串联重复区域中的N-和O-糖基化位点都不能在功能上替代这两个位点。MUC16糖基化的模式是多种多样的,但是壳二糖干表征了所有N-糖基化种类的基础。抗近端含壳二糖的MUC16糖肽的抗体阻断半乳糖凝集素3介导的与细胞表面信号受体的结合并抑制MUC16的肿瘤促进作用。

[0800] 使用了MUC16糖肽的系统性改变以直接考察聚糖结构与MUC16表达所起肿瘤促进作用之间的关系。这些作用,包括共定位、癌基因激活、基质胶原侵袭和肿瘤异种生物生长,都由半乳糖凝集素-3介导的MUC16的保留的、非循环的部分上的N-糖基化序列和细胞表面分子如表皮生长因子受体(EGFR)和整合素β1的结合所表现。细胞外的、粘蛋白驱动的肿瘤促进是由本文提出的发现和数据所支持的机制,其可以被N-糖基化位点定向抗体成功靶

向。

[0801] 如本实施例所示：(1)MUC16的细胞外糖基化状态驱动卵巢浆液性癌症行为；(2)侵袭和MUC16+异种移植物生长取决于具体的MUC16N-糖基化位点；(3)MUC16与半乳糖凝集素-3和EGFR或整合素β1形成异三聚体复合物；和(4)抗糖基化位点抗体阻断胞外MUC16对肿瘤的促进。

[0802] 6.3.2材料和方法

[0803] 6.3.2.1 MUC16羧基末端(MUC16^{c114})、MUC16-CA125域(MUC16^{c344})和糖基化融合蛋白DNA构建体的合成

[0804] 关于MUC16C-末端构建体的描述，参见第6.1.2和6.2.2节和下述第6.3.13节中的参考文献19。pFUSE-huMan IgG1-Fc2载体(pFUSE)购自InvivoGen(San Diego，CA)，嵌合蛋白MUC16$^{c57-114}$-pFUSE和$^{117-244}$LGALS3-pFUSE的构建也描述于6.1.2节和6.2.2节和下文第6.3.13节中的参考文献19。

[0805] 6.3.2.2细胞培养，转染和细胞系表征

[0806] 如第6.1.2节和第6.2.2节和下文第6.3.13节的参考文献19所述获得和维持SKOV3、CAOV3和OVCAR3细胞系。详见6.3.6节。

[0807] 6.3.2.3糖肽的合成

[0808] 关于MUC16糖肽合成的详细描述，参见第6.4节。

[0809] 6.3.2.4基质胶侵袭

[0810] 在基质胶侵袭室(BD Biosciences，Bedford，MA)中测定基底膜侵袭。用5μg/mL衣霉素(Sigma-Aldrich，St.Louis MO cat#T7765)或5μg/mL MUC16$^{c57-c114}$-pFUSE或5μg/mL $^{117-244}$LGALS3-pFUSE融合蛋白(5μg/mL)处理稳定的细胞系；然后在一式三份的孔中测量48小时后的基质胶迁移，并与phrGFP载体对照和MUC16^{c114}转染子进行比较。另见第6.1.2和6.2.2节以及下文第6.3.13节中的参考文献19。

[0811] 6.3.2.5无胸腺裸鼠的肿瘤生长

[0812] 将转染的细胞系和适当的对照细胞系引入无胸腺雌性裸鼠的侧腹，并由纪念斯隆凯特琳癌症中心抗肿瘤评估核心实验室提供常规的动物护理。每周进行两次肿瘤测量，按照纪念斯隆凯特琳癌症中心研究动物资源中心指南，肿瘤生长记录至最大尺寸为1，500mm^3。另见第6.1.2和6.2.2节以及下文第6.3.13节中的参考文献19。

[0813] 6.3.2.6单克隆抗体制备；小鼠免疫方案

[0814] 免疫方案开始于含壳二糖的55-mer MUC16糖肽(GlcNAc$_2$-55-mer；SEQ ID NO：129)，其对5只BALB/c和5只瑞士韦伯斯特小鼠在佐剂存在下每3周施用三次。第四次免疫用KLH缀合的单糖基化的15-mer(GlcNAc$_2$-15-mer-KLH；SEQ ID NO：131)和双糖基化的18-mer([GlcNAc$_2$]$_2$-18-mer-KLH；SEQ ID NO：130)MUC16构建体的混合物。分析血清对GlcNAc$_2$-55-mer(SEQ ID NO：129)和未缀合的携带壳二糖的15/18-mer糖肽(分别为SEQ ID NO：131和SEQ ID NO：130)的反应性。此外，非糖基化的55-mer(SEQ ID NO：129)、15-mer(SEQ ID NO：131)和18-mer肽(SEQ ID NO：130)，以及两个MUC16无关的含壳二糖肽用作阴性对照进行筛选(SEQ ID NO：168和169)。每3周用更短的KLH缀合物(SEQ ID NO：130和SEQ ID NO：131)进一步免疫小鼠两次以上，每次免疫后通过ELISA分析响应。另见第6.2.2节。

[0815] 6.3.2.7 ELISA

[0816] 根据用于ELISA测定的常规核心实验室方案,进行三明治ELISA以评估抗体对个体(二醇)肽的阳性。另见第6.2.2节。

[0817] 6.3.2.8 Western印迹分析

[0818] 通过SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离等量的蛋白质,并使用BioRad转移装置在4℃下转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)或硝酸纤维素膜上。用3%牛血清白蛋白(BSA)或5%非脂肪乳在含有0.1%Tween-20(PBST)的PBS中在室温下封闭膜1小时。膜用多种一抗[Cell Signaling,MA:Akt cat#9272,Phospho-Akt(Ser473)(193H12)cat#4058,p44/43 MAPK(Erk1/2)cat#9102,Phospho-p44/43 MAPK(Erk1/2)(Thr202/Tyr204)cat#9101,Src cat#2109S,Phospho-Src cat#2101L,EGFR cat#2237L,Phospho-EGFR(Y1068)(D7A5)XP(R)cat#3777S],(Sigma-Aldrich,Inc.,St.Louis,MO:β肌动蛋白cat#A5441),(Southern BioTech,Birmingham,AL:抗人-Fc-IgG1-HRP cat#9054-05),(Abgent,San Diego,CA:多克隆LGALS3抗体cat#AP11938b)和(Origene,Rockville,MD:小鼠单克隆抗EGFR v3克隆OTI3H2 cat#TA506224,小鼠单克隆抗DDK克隆4C5 cat#TA50011-100)在4℃下过夜显影。将膜用PBS-T洗涤三次,并在室温下用HRP缀合的抗小鼠或抗兔抗体(GE Healthcare,UK)(1:5000稀释)显影1小时。然后将膜用PBS-T洗涤三次,并在室温下用Western Lightning Chemiluminescence试剂(ECL,Perkin El-mer)显影1-5分钟,并将信号在HyBlot CL膜(Denville Scientific Inc.Metuchen,NJ)上显影。

[0819] 关于Western印迹分析方案的描述,还参见6.1.2和6.2.2节和下述第6.3.13节中的参考文献6。

[0820] 6.3.3组织微阵列免疫组织化学(TMA)

[0821] 如前所述进行人TMA筛选的免疫组织化学(参见下文第6.3.13节中的参考文献6)。

[0822] 6.3.4 OVCAR3、SKOV3-MUC16^{C344}和SKOV3-MUC16^{C114}的免疫荧光染色

[0823] 将50,000个细胞分别接种在Delta TPG 0.17mm培养皿中,并在各自的培养基中于37℃在5%CO_2中培养过夜。用含1%胎牛血清(FCS)和0.025%叠氮化钠(FACS缓冲液)的PBS洗涤粘附的细胞两次。细胞以1:50稀释后用EGFR(R-1)-Alexa Fluor 647nm(Santa Cruz Biotechnology,CA,cat#sc-101AF647)和4H11或整联蛋白β1(4B7R)-Alexa Fluor 647nm(Santa Cruz Biotechnology,CA,cat#sc-9970 AF647)和4H11在4℃下染色30分钟。细胞用FACS缓冲液洗涤三次,然后用山羊抗小鼠IgG2b-PE(Santa Cruz Biotechnology,CA,cat#sc-3766-PE)在4℃下标记30分钟。将细胞用FACS缓冲液洗涤三次,并使用ZEN2采集软件在具有20x/0.8NA空气镜和63x/1.4NA油镜的Zeiss Axio Observer Z1上拍摄图像。

[0824] 6.3.5统计分析

[0825] 为了比较在生长和侵袭的体外和体内研究中评估的组,使用GraphPad Prism软件(San Diego,CA)的双尾学生t检验分析数据的统计学显著性。

[0826] 6.3.6细胞培养,转染和细胞系表征

[0827] 参见6.3.13节关于OVCA-433细胞系的参考文献3。pLenti四环素可诱导系统购自Invitrogen,CA(cat#K4925-00),并用于产生pLenti-SKOV3^{c114}。通过纪念斯隆凯特林癌症中心高通量筛选(HTS)核心实验室获得了EGFR表达病毒质粒的shRNA发夹敲除;从HEK293细胞收集转染的HEK293细胞和病毒上清液以感染pLenti-SKOV3^{c114}-shEGFR细胞系。MUC16^{c114}转染子具有从推测切割位点到羧基末端(SEQ ID NO:150的氨基酸1777至1890)的MUC16蛋

白的细胞表面表达(参见下文第6.3.13节中的参考文献21)。以类似的方式制备具有较长MUC16片段的细胞系,包括具有$MUC16^{c344}$-GFP载体表达的细胞系,其具有作为延伸至MUC16羧基端的344个氨基酸片段的MUC16蛋白的细胞表面表达(SEQ ID NO:150的氨基酸1547至1890)(参见下文第6.3.13节中的参考文献19和22)。

[0828] 6.3.7转染

[0829] 根据制造商的方案,使用DOTAP(Roche Diagnostics,Indianapolis Corporation,IN)将DNA构建体引入SKOV3细胞。在其培养基中用800μg/mL的G418选择SKOV3细胞的稳定转染子。它们被细胞分选两次用于GFP表达,选择的细胞以多达15代的细胞系生长。进行FACS分析的常规监测,以确认这些细胞系的GFP阳性。通过使用抗hrGFP(Stratagene,La Jolla,CA)和抗-MUC16-羧基末端单克隆抗体的Western印迹分析这些细胞系的蛋白提取物(参见下文第6.3.13节中的参考文献19)。如6.1节所述,根据制造商的方案,将$MUC16^{c57-114}$-pFUSE-hIgG1-Fc2和$^{117-244}$LGALS3-pFUSE-hIgG1-Fc2构建体分别转染到的人胚胎肾(HEK)FreeStyle 293F细胞(Invitrogen,CA)中,其表达融合蛋白并分泌至无血清培养基中(见第6.1节和下文第6.3.13节中的参考文献19)。纯化分泌的融合蛋白并使用抗人IgG1-Fc-HRP(γ1链特异性)(Southern Biotech Inc.,Birmingham,AL)或4H11-HRP或多克隆抗人LGALS3抗体(Abgent,San Diego,CA)的Western印迹分析进行表征。在HEK293细胞中表达的EGFRDDK-HIS(cat#TP700043)、LGALS3Myc-DDK(cat#TP308785)和整联蛋白-β1Myc-DDK(cat#TP303818)纯化的蛋白购自Origene,Rockville,MD。

[0830] 6.3.8通过FACS分析的免疫荧光染色

[0831] 如第6.1节和下文第6.3.13节中的参考文献6所述进行MUC16表达FACS分析。

[0832] 6.3.9生长曲线

[0833] 如第6.1节和第6.2节以及下文第6.3.13节中的参考文献18和19中所述进行生长曲线。

[0834] 6.3.10命名

[0835] 如实施例3(第6.3节)所用,“N1”是指SEQ ID NO:150的位点1777的天冬酰胺,也称为“Asn1777”。如实施例3(6.3节)所用,“N24”是指SEQ ID NO:150的位点1800的天冬酰胺,也称为“Asn1800”。如实施例3(6.3节)所用,“N30”是指SEQ ID NO:150的位点1806的天冬酰胺,也称为“Asn1806”。

[0836] 6.3.11结果

[0837] 6.3.11.1 MUC16病理生物学依赖于C端MUC16胞外域的N-糖基化

[0838] C-末端MUC16胞外域($MUC16^{c114}$)的最近端114个氨基酸的表达导致3T3小鼠成纤维细胞的更积极的体外/体内行为,包括MUC16驱动的基质胶侵袭的显著增加和更快速的肿瘤体内增长(见第6.1节和下文第6.3.13节参考文献19)。为了考察MUC16的作用及其在人卵巢细胞中的糖基化作用,检测了MUC16阴性SKOV3人卵巢细胞系的MUC16表达的影响(图18A-18C)。用$MUC16^{c114}$稳定表达载体转染SKOV3细胞导致高水平的细胞表面MUC16表达,大于基质胶侵袭中的两倍增加,如图19A所示。细胞暴露于N-糖基化抑制剂衣霉素24小时显著地降低了SKOV3-$MUC16^{c114}$细胞的侵袭性,但对SKOV3-phrGFP仅载体转染细胞的基质胶侵袭几乎没有影响(图19A)。

[0839] 凝集素在之前已经涉及糖基化作用的介导(参见下文第6.3.13节中的参考文献

17)，并且由于半乳糖凝集素-3通常在人类卵巢癌中过表达，因此通过将半乳糖凝集素-3的糖结合域($^{117-244}$LGALS3)与缺少可变结合域的截短的pFUSE-人IgG1-Fc2序列(pFUSE)(参见下文6.3.13节中的参考文献1)进行组合产生了凝集素阻断构建体(“$^{117-244}$LGALS3-pFUSE”)。该嵌合分子结合半乳糖凝集素-3配体，但缺乏形成半乳糖凝集素-3五聚体的能力。如图19A所示，当将该半乳糖凝集素阻断构建体导入细胞时，其对对照SKOV3-phrGFP细胞的基质胶侵袭影响不大，但SKOV3-MUC16^{c114}侵袭显著降低。缺少半乳糖凝集素-3糖结合域的对照pFUSE载体没有作用。还通过将相同的pFUSE载体与MUC16胞外域的58个氨基酸连接而构建产生了可溶性MUC16胞外域(“MUC16$^{c57-114}$-pFUSE”)。与半乳糖凝集素-3-pFUSE($^{117-244}$LGALS3-pFUSE)阻断构建体相同，MUC16$^{c57-114}$-pFUSE构建体也显著降低SKOV3-MUC16^{c114}细胞的侵袭，而不是SKOV3-phrGFP细胞的侵袭。MGAT5是催化形成具有对半乳糖凝集素-3结合的最高亲和力的四触角N-聚糖的糖基化酶(参见下文第6.3.13节参考文献9)。MGAT5敲除小鼠对肿瘤生长有抗性(参见下文第6.3.13节参考文献8)。不受任何特定理论的约束，假设MUC16的作用将依赖于半乳糖凝集素-3和MGAT5的表达。如图19B所示，减少MGAT5或半乳糖凝集素-3(LGALS3)的shRNA显著降低SKOV3-MUC16^{c114}侵袭，而阴性对照敲低薄层(Lamelli)shRNA无效果。

[0840] 引入突变至MUC16胞外域N-糖基化位点(MUC16^{c114}胞外域的N1，N24和N30位置的天冬酰胺残基)降低观察到的MUC16-糖基化依赖性变化。如图19C所示，与切割位点相邻的最远端的天冬酰胺(N1)的天冬酰胺至丙氨酸的突变对侵袭没有负面影响。相比之下，任何更近端的天门冬酰胺(N24或N30)的天冬酰胺至丙氨酸突变都不利地影响了侵袭。特别地，最靠近膜表面(N30)的天冬酰胺的保存对于增强侵袭是最关键的，并且通过额外的其他天冬酰胺残基的天冬酰胺至丙氨酸的突变没有显著增加这种作用。还检测了来自MUC16C-末端(MUC16^{c344})的具有344个氨基酸的更大的MUC16构建体。当将在MUC16^{c344}的N30或MUC16^{c344}的N24和N30携带MUC16突变的表达载体转染到SKOV3细胞系中时，基质胶侵袭显著降低(图19D)。尽管这个更大的构建体在切割位点的远端具有另外七个N-糖基化位点，但突变关键的近端N24和N30位点仍然降低了基质胶侵袭，如图19D所示，正如那些突变改变了SKOV3-MUC16^{c114}的侵袭一样。

[0841] 已经证明了3T3细胞的MUC16^{c114}转化中的ERK和PI3K/AKT途径的下游激活(参见第6.1节和下文第6.3.13节中的参考文献19)。在图19E，可以看出用MUC16^{c114}转染SKOV3细胞激活多种致癌基因，包括pERK1/2，pSRC和EGFR的磷酸化。图19E证实，以下每种条件均影响MUC16^{c114}诱导的致癌基因激活：敲低MGAT5(shMGAT5)，敲低半乳糖凝集素-3(shLGALS3)，将N30的天冬酰胺突变为丙氨酸。这些数据与在MUC16^{c114}表达相关的基质胶侵袭中观察到的降低一致。

[0842] 在裸小鼠的异种移植肿瘤生长中检测了敲低MGAT5或LGALS3或MUC16^{c114}胞外域N-糖基化位点突变的作用。如图19F所示，用任何这些N-糖基化定向干预均完全消除了MUC16^{c114}诱导的肿瘤生长。还研究了MUC16^{c114}对受体稳定性的影响。N-糖基化和连接到半乳糖凝集素晶格的存在已经与EGFR在细胞表面的稳定相关联(参见下文第6.3.13节参考文献11)。不受任何特定理论的约束，我们推测MUC16的增加的存在稳定了细胞表面的半乳糖凝集素晶格，从而使EGFR在细胞表面上稳定。如图20A所示，当使用FACS分析将稳定的SKOV3-MUC16^{c114}转染子与仅载体对照相比时，SKOV3细胞的细胞表面上EGFR的存在增加。此外，在

放线菌酮(CHX)处理以抑制新的EGFR合成后，与phrGFP载体对照相比，MUC16^{c114}表达在细胞表面上几乎使EGFR翻倍。CHX处理后MUC16^{c114}胞外域(4H11阳性)的稳定性不变。在稳定的SKOV3-MUC16^{c114}和用CHX处理24小时的SKOV3-phrGFP细胞中通过Western印迹比较总EGFR相对时间，并将EGFR与β-肌动蛋白进行比较。光密度曲线(图20B)表明，与phrGFP载体对照相比，细胞表面MUC16^{c114}的存在使EGFR稳定。为了排除这种影响与SKOV3稳定的MUC16^{c114}克隆的选择有关的可能性，使用了四环素诱导型MUC16^{c114}系统。如图20C所示，四环素暴露24小时对于用空phrGFP载体或稳定的CMV驱动的MUC16^{c114}表达载体转染的对照SKOV3细胞的基质胶侵袭没有影响。在MUC16^{c114}四环素诱导系统中，四环素暴露诱导的MUC16^{c114}依赖性基质胶侵袭类似于稳定转染子，无论是对照还是MUC16^{c114}。通过导入SKOV3细胞的降低EGFR表达的shRNA构建体(shEGFR)的稳定表达来检测EGFR的需求。shEGFR转染细胞的两种单细胞克隆都显示出明显降低的基质胶侵袭。与SKOV3-MUC16^{c114}细胞系相比，四环素诱导的这两种shEGFR细胞系中MUC16^{c114}的表达对基质胶侵袭的影响最小，证实SKOV3-MUC16^{c114}诱导的基质胶侵袭与EGFR的表达相互依赖。通过Western印迹法研究了用四环素诱导的CHX处理的SKOV3-MUC16^{c114}的EGFR稳定性，并与β-肌动蛋白进行比较。如图20D所示，CHX暴露24小时导致未诱导的MUC16(-)SKOV3细胞中总EGFR蛋白的稳定下降。当在SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$细胞四环素诱导后进行相同的实验时，CHX诱导的EGFR损失率降低。MUC16不仅稳定了细胞的EGFR含量，而且与未诱导的SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$细胞相比，其还稳定了四环素诱导的SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$细胞中pEGFR表达水平(图21)。

[0843] 6.3.11.2作为单克隆抗体(mAb)开发的表位模拟物的均质N-糖肽的合成

[0844] 在将MUC16^{c114}的N24和N30位点上的N-糖基化鉴定为MUC16作用的核心需要后，分析了从SKOV3-MUC16^{c114}细胞系纯化的在N1和N24含有丙氨酸至天冬酰胺突变的MUC16^{c114}突变糖肽的聚糖谱(图22)。因此，这种纯化的糖肽含有用于N-糖基化的单个天冬酰胺残基(N30)。纯化糖肽的糖组分析如图22A所示。其特征在于主要由截短的糖基化种类组成的多种N-糖基化模式，其共享附着岩藻糖和各种甘露糖残基的作为最小重复单元的常见的近端壳二糖($GlcNAc_2$)二糖(图22A)。

[0845] 假设针对包含关键的N30糖基化位点的MUC-16-胞外域表位的抗体可能抑制MUC16与半乳糖凝集素晶格的相互作用，减少MUC16表达的不良反应，包括肿瘤生长和侵袭。因此，设计了在该N30位点用壳二糖糖基化的MUC16胞外域内各种长度的合成肽抗原(即分别为55、18和15个氨基酸长，分别为SEQ ID NO:129、131和130)。除了作为更大、更复杂的N-聚糖的共同最小基序之外，壳二糖也应该能够更好地暴露下面的肽以引发保留肽特异性的聚糖导向的抗体。

[0846] 55-mer MUC16-胞外域N-糖肽($GlcNAc_2$-55-mer;SEQ ID NO:129)的合成是高度收敛的，并涉及方便保护的全长肽(55-mer)和壳二糖胺之间的偶联，然后使用我们的单烧瓶天冬氨酰基化/脱保护程序进行酸全局脱保护(参见第6.2节和第6.4节以及下文第6.3.13节中的参考文献7和20)。按照类似的方法，还通过收敛的天冬氨酰化制备了具有末端三聚甘露糖聚糖的更精细的$Man_3GlcNAc_2$-55-mer糖肽。

[0847] 为了集中针对相关糖基化位点周围的较小尺寸表位的免疫应答，还合成了分别具有一个(N30)和两个壳二糖聚糖(N24和N30)的较短的15-和18-mer糖肽(图22C;分别为SEQ ID NO:131和130)，后者通过类似于Tn抗原(GalNAc-α-O-Ser/Thr)的簇显示，其已被证明是

结合到一些mAbs所必须的(参见第6.2节和第6.4节以及下文第6.3.13节中的参考文献14-16)。然后通过N-末端半胱氨酸将这些糖肽与KLH载体蛋白缀合以产生相应的免疫原用于小鼠接种。

[0848] 6.3.11.3用合成糖肽/糖缀合物进行小鼠接种和血清学分析

[0849] 根据6.2和6.4节中描述的方案进行小鼠接种和血清采集。在用$GlcNAc_2$-55-mer糖肽(SEQ ID NO:129,图22B)进行3次免疫后,随后用含有壳二糖的KLH缀合的构建体(单糖基化的15-mer(SEQ ID NO:131)和双糖基化的18-mer(SEQ ID NO:130))免疫,10只小鼠中只有2只显示出对两种55-mer(含和不含$GlcNAc_2$(SEQ ID NO:129))的弱阳性ELISA信号,表明小鼠对55-mer免疫接种的免疫应答有限。用两种KLH缀合物($GlcNAc_2$-15-mer(SEQ ID NO:131);和$(GlcNAc_2)_2$-18-mer(SEQ ID NO:130))的两次加强免疫接种导致针对较短糖肽的增强的免疫应答(IgG型),特别是在两只小鼠(小鼠7和小鼠8)中。针对MUC16肽骨架的不同的、非糖基化的部分的4H11mAb显示出与15-mer/18-mer糖肽没有结合,表明与小鼠血清阳性分离的不同的识别表位。

[0850] 通过ELISA进一步表征来自小鼠7的多克隆血清,并通过FACS在具有和不具有$MUC16^{c114}$表达的几种细胞系中筛选。这些细胞分选研究证实了针对SKOV3-$MUC16^{c114}$细胞和OVCAR3细胞的阳性信号,类似于抗MUC16 4H11抗体对照(参见下文第6.3.13节参考文献6)。缺乏MUC16的SKOV3-phrGFP对照细胞与小鼠7血清的结合是阴性的。

[0851] 6.3.11.4糖基化导向的mAb的选择

[0852] 收获小鼠7的脾脏,并将脾细胞与具有高融合效率的杂交瘤融合伴侣融合。选择上清液并通过ELISA筛选针对各个糖肽的反应性(图22C)。虽然多个上清液与$GlcNAc_2$-15-mer和$(GlcNAc_2)_2$-18--mer糖肽具有反应性,但是筛选的杂交瘤上清液中没有一种在ELISA筛选中显示出对非糖基化肽的糖基化的高度选择性。MUC16特异性被保持,并且没有阳性上清液与壳二糖糖基化的不相关肽反应。4H11mAb识别的肽序列未见重叠。

[0853] 在连续亚克隆之后,该方法提供了多个壳二糖-指导的初级mAb,其与MUC16-糖基化表位和同源非糖基化序列反应,而不与作为阴性对照的含有壳二糖的无关肽反应。在该池中,选择四种高亲和力抗体并进一步纯化用于表征。

[0854] 6.3.11.5抗MUC16N30糖基化靶向/定向mAbs的表征

[0855] 图23A中的ELISA显示了四种代表性抗体的验证性表征研究的结果。评估了候选抗体与各种合成肽的结合,并与识别MUC16-胞外域肽骨架的4H11抗体的结合进行比较。不相关的壳二糖连接的肽显示与所选择的任何抗聚糖-MUC16抗体都没有显著的结合。所有候选抗体对两种MUC16衍生的15-mer(即,非糖基化肽和相应的壳二糖糖肽)显示出相似的结合亲和力。携带替代糖部分(包括单GlcNAc、末端三聚甘露糖-壳二糖($Man_3GlcNAc_2$)和岩藻糖基化壳二糖($GlcNAc_2Fuc$))的另外的合成糖肽基本上不改变抗体对用于免疫接种的壳二糖连接的MUC16肽的反应性。

[0856] 还在表达差异糖基化的MUC16肽的细胞系的扩展组中测试了每种抗体的聚糖-$MUC16^{c114}$和聚糖-$MUC16^{c344}$特异性(表11)。在这些研究中,将SKOV3-phrGFP转染子与SKOV3-$MUC16^{c114}$(全N-糖基化)、SKOV3-$MUC16^{N24c114}$突变体(无N24糖基化位点)、SKOV3-$MUC16^{N30c114}$(无N30糖基化位点)和SKOV3-$MUC16^{N1-N24-N30c114}$(无N1、N24或N30糖基化位点)进行了对比。SKOV3-$MUC16^{c114}$是指表达截短形式的MUC16的SKOV3细胞,其能够在N1、N24和N30进行N-糖

基化。SKOV3-MUC16^{N24c114}是指表达截短突变形式的MUC16的SKOV3细胞，其中对应于SEQ ID NO:150的Asn1800的氨基酸位置包含天冬酰胺至丙氨酸突变，因此在该位置不能进行N-糖基化位置。SKOV3-MUC16^{N30c114}是指表达截短突变形式的MUC16的SKOV3细胞，其中对应于SEQ ID NO:150的Asn1806的氨基酸位置包含天冬酰胺至丙氨酸突变，因此在此不能进行N-糖基化位置。SKOV3-MUC16$^{N1-N24-N30c114}$是指表达截短突变形式的MUC16的SKOV3细胞，其中对应于SEQ ID NO:150的Asn1777、Asn1800和Asn1806的氨基酸位置包含天冬酰胺至丙氨酸突变，因此不是能够在这些位置被N-糖基化。与ELISA数据一致，结果表明存在MUC16特异性靶向。

[0857] 然而，与ELISA数据相反，MUC16胞外域中N24和N30糖基化位点的缺失降低了糖基化靶向的抗体反应性，而保留了对4H11抗体的反应性，从而证实了细胞表面SKOV3-MUC16^{c114}的存在。具有延伸至344个氨基酸的MUC16C-末端链的细胞(例如SKOV3-MUC16^{c344})对N24或N30糖基化也具有相似的要求(表11)。此外，与针对聚糖-MUC16胞外域的抗体的反应性没有受到MGAT5的下调而减弱(表11)，证实N24/N30位点的壳二糖有助于抗体与全细胞的结合，而不管更复杂的分支(branching)。

[0858] 表11.表11提供了4H11和四个GlcNAc$_2$-MUC16胞外域单克隆抗体对N-糖基化位点修饰转染的SKOV3-MUC16的几何平均藻红蛋白(PE)荧光。4H11保留与所有细胞系(除了不表达MUC16的SKOV3-phrGFP系之外)的结合，而不管糖基化修饰，从而证实了细胞表面上的MUC16蛋白。当糖基化的N24和N30位点都失去时，MUC16^{c114}和MUC16^{c344}转染子的聚糖-MUC16抗体结合减少。MGAT5敲低细胞系的有限的反应性丧失证实，壳二糖对于每种GlcNAc$_2$-MUC16胞外域抗体是必需的，而更广泛的支链具有有限的作用。

[0859]

				抗糖基化的 MUC16 胞外域抗体				
	单独的细胞	G抗M IgG2a-PE	G抗M IgG2b-PE	4H11+G抗M IgG2b-PE	18C6+G抗M IgG2b-PE	10C6+G抗M IgG2a-PE	19C11+G抗M IgG2a-PE	7B12+G抗M IgG2a-PE
SKOV3-phrGFP	46	50	57	77	56	70	77	80
SKOV3-c114	56	74	104	1124	2054	571	617	492
SKOV3-N24 mutc114	43	62	78	2654	1830	435	486	471
SKOV3-N30 mutc114	49	65	90	696	1696	645	536	444
SKOV3-N24N30 mutc114	125	142	155	655	461	264	236	185
SKOV3-N1-N24-N30mutc114	37	50	71	514	34	74	61	82
SKOV3-shMGAT5-c114	108	133	145	2384	855	645	525	289
SKOV3-c344	53	66	68	559	1652	792	578	422
SKOV3-N24mutc344	89	102	64	574	1569	991	661	512
SKOV3-N30mutc344	93	104	47	661	1064	687	454	440
SKOV3-N24-N30mutc344	80	161	140	765	277	231	195	220

[0860] “G抗M”表示山羊抗小鼠。“PE”表示藻红蛋白.

[0861] 评估了表征的四种代表性的MUC16糖基化抗体(18C6,10C6,19C11,7B12)和4H11的结合亲和力(表12)及其通过基质胶测定对SKOV3-MUC16^{c114}转染子的侵袭的影响。如图23B-23D,新开发的抗体显示对基质胶侵袭的广泛抑制,而4H11的特征在于其不能阻断SKOV3-MUC16^{c114}介导的侵袭,表明这些靶向MUC16胞外域中糖基化肽表位的抗体抑制了一些MUC16的关键生物学特性,其优于针对紧邻表位的抗体。所有MUC16糖基化抗体在表达天然全长MUC16的卵巢癌细胞(如CAOV3和OVCA-433细胞)中是抑制性的。这表明N24/N30糖基化位点对于MUC16的增强的侵袭性质是关键的,而其它MUC16N-和O-糖基化位点的存在不足以克服(overcome)阻断该关键表位的MUC16糖基化抗体。不受任何特定理论的束缚,我们预测抗体对半乳糖凝集素-3与MUC16的N24/30结合的抑制也会削弱EGFR的细胞表面稳定性。图23B-23D证实,当将这些抗体中的一种(10C6)引入细胞培养物时,四环素诱导的SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$的EGFR稳定作用被克服,并且暴露于CHX的细胞中EGFR损失速率与没有MUC16^{c114}表达的未诱导的SKOV3-MUC16$^{c114(tet)}$细胞系的相似。还在卵巢癌组织芯片中检测了抗体的免疫组织化学染色。如图23E所示,每个聚糖导向的MUC16胞外域抗体与石蜡固定的组织中的浆液性卵巢癌细胞结合,与其他基质组织的相互作用有限,类似于4H11的行为。最后,测试了10C6抗体对免疫受损小鼠中SKOV3-MUC16^{344}生长的影响。使用SKOV3-MUC16^{c344}细胞代替SKOV3-MUC16^{c114}细胞作为具有多个N-和O-糖基化位点的MUC16阳性肿瘤细胞中抗体效应的更严格的测试。10C6抗体降低了MUC16^{c344}细胞的基质胶侵袭(图23F),并且当每周两次施用至荷瘤小鼠时,小鼠侧腹中SKOV3-MUC16^{c344}肿瘤细胞的生长显著降低(图23G)。

[0862] 表12.

[0863]

抗体	kd [1/s]	kd 的误差 [1/s]	ka [1/s]	kD [nM]
10C6.E4	*	-	**	>1000
19C11.H6	$2.42x10^{-3}$	$2.35x10^{-3}$	$3.80x10^{-4}$	63.7
7B12.B3	$1.04x10^{-3}$	$1.09x10^{-4}$	$7.50x10^{-4}$	13.8
18C6.D12	$6.78x10^{-4}$	$1.83x10^{-4}$	$6.14x10^{-4}$	11.1
4H11	-	-	-	-

[0864] *低计算置信度,未拟合解离率

[0865] **ka对于结合率测定而言过低

[0866] 6.3.11.6 MUC16和其他细胞表面蛋白的半乳凝素依赖性共定位

[0867] MUC16稳定的EGFR似乎是卵巢癌细胞侵袭的重要驱动因素,并且这种相互作用取决于EGFR、适当的N-糖基化的MUC16蛋白胞外域和半乳糖凝集素-3的存在。用纯化的蛋白质评估这种相互作用,以建立这三种蛋白质之间必需/足够的三向相互作用。为此,使用了纯化的MUC16$^{c57-114}$-pFUSE(在人胚胎肾[HEK]FreeStyle 293F细胞中产生)(作为相互作用的MUC16部分),纯化的EGFR(由HEK293细胞产生)和纯化的半乳糖凝集素-3(LGALS3;使用HEK293细胞产生)蛋白。因为这些蛋白质是在人类细胞中产生的,所以它们被期望具有典型的天然糖基化种类。不受任何特定理论的约束,我们假设三种蛋白质将形成可通过免疫共沉淀鉴定的异聚体。图24A示出了这种免疫共沉淀的结果,其中检测的三种蛋白中的每一种都显示在左侧三个泳道的直接免疫印迹中。使用琼脂糖蛋白A/G PLUS珠,可以看出MUC16$^{c57-114}$-pFUSE蛋白与蛋白A/G PLUS缀合的珠结合,并在SDS-PAGE凝胶上分离时存在于洗脱液中。EGFR仅存在于半乳糖凝集素-3(LGALS3)也存在时的与MUC16$^{c57-114}$-pFUSE组合的洗脱液中。抗体18C6通过阻断半乳糖凝集素-3的N-糖基化结合位点而消除EGFR-MUC16相互

作用(参见图24A)。直接分子双重免疫荧光成像也用于确认EGFR和MUC16在活细胞中的共定位。如图24B和25A所示,EGFR和MUC16紧密共定位在OVCAR3、SKOV3-MUC16^{c344}和SKOV3-MUC16^{c114}细胞中(参见图24B和25A中的箭头)。这些研究强烈证实MUC16组合半乳糖凝集素-3以与MUC16阳性卵巢癌细胞表面的EGFR结合。不受任何特定理论的约束,由于许多生长增强受体是糖基化的,我们推测,凝集素依赖性MUC16细胞表面效应可能包括其他N-糖基化蛋白,而不限于EGFR。整联蛋白经常在癌症中发生改变,并参与由间质-上皮相互作用启动的“外向内”信号,引发SRC磷酸化和其他下游作用。图24C描述了MUC16与整联蛋白β1的相互作用,整联蛋白β1是与癌症发展和进展频繁相关的整联蛋白成分。在EGFR的情况下,纯化的MUC16$^{c57-114}$-pFUSE以半乳糖凝集素-3依赖性方式结合整联蛋白β1,并且该异源三聚相互作用需要所有3种蛋白质。与EGFR相同,该相互作用被抗MUC16^{c114}糖基化位点阻断抗体18C6完全阻断。MUC16和整联蛋白β1的共定位也通过在几种卵巢癌细胞系中的双重免疫荧光证实(图24D和图25B)。因此,MUC16-胞外域表位的关键位点的N-糖基化以凝集素特异性方式介导与细胞表面蛋白受体的相互作用,以产生恶性行为的特征,包括基质胶侵袭、PI3K/ERK和SRC途径的活化,以及在免疫受损小鼠中增强的MUC16阳性肿瘤生长。

[0868] 不受任何特定机制的约束,癌症相关粘蛋白MUC16的机理模型及其对卵巢癌细胞行为的影响如图26所示。在图26A中,MUC16通过半乳糖凝集素-3结合EGFR和整联蛋白β1,以增强能促进生长和侵袭的稳定性和“内向外”信号。当MUC16胞外域N-糖基化位点被突变或MGAT5活性被抑制时(图26B),结合被阻止,并降低了EGFR/整联蛋白信号。类似地,如果半乳糖凝集素-3蛋白质表达被抑制(图26C),则分子缔合丧失,信号和侵袭减少。最后,当MUC16-胞外域嵌合抗体或嵌合“TRAP”LGALS3分子阻止分子相互作用时,癌细胞缺少观察到的MUC16肿瘤促进特性(图26D)。

[0869] 6.3.12讨论

[0870] MUC16和其他栓粘蛋白例如MUC1和MUC4可以转化3T3细胞并与不良结果相关。癌症中异常表达的粘蛋白的机制是复杂和多样的。我们很好地描述了N-糖基化模式在响应局部环境的细胞生长中起重要作用。糖蛋白模式的多样性受到通过基于高尔基体糖基化的环境依赖性己糖胺通量的影响。常见的生长因子受体如EGFR、胰岛素样生长因子受体(IGF1R)和PDGFR优选首先以营养依赖的方式糖基化,并且那些重度糖基化受体优先递送到细胞表面。相比之下,抑制性受体如TGF-β具有较少的N-糖基化位点,并且稍后呈现在细胞表面,从而导致生长程序的抑制(参见下文第6.3.13节参考文献12)。在卵巢癌中,EGFR表达与侵袭行为相关,EGFR信号传导依赖于受体的糖基化状态和N-糖基化种类对凝集素的亲和力(参见下文第6.3.13节中的参考文献2)。酶MGAT5似乎对于合成对半乳糖凝集素-3具有最高亲和力的四触角支链N-聚糖是重要的,所述半乳糖凝集素-3是一种在癌细胞中过表达的重要凝集素(参见下文第6.3.13节参考文献17)。

[0871] 本实施例提供了证据,证明与MUC16表达相关的行为是通过这些方法在MUC16相对于细胞表面的最近端的胞外域上的特定N-糖基化位点介导的。与半乳糖凝集素-3和细胞表面蛋白的高亲和力相互作用需要MGAT5依赖的N-糖基化模式,以促进免疫受损小鼠的侵袭、癌基因激活和增加的肿瘤生长。特别地,切割后MUC16的保留的胞外域上最近端的N-糖基化对于这种相互作用至关重要。去除这些N-糖基化位点的干预、用模拟受体阻断位点或干扰其完全N-糖基化都会损害MUC16的转化作用。这些转化作用似乎不仅取决于单独的MUC16,

还取决于N-糖基化的MUC16与半乳凝素-3和其他细胞表面蛋白在近端N-糖基化位点的相互作用。与亲本SKOV3phrGFP细胞相比，MUC16胞外域表达显示出能够稳定EGFR(一种生长和侵袭的介导物)并延长其在SKOV3-MUC16^{c114}细胞表面的驻留。即使在仅保留一个N-糖基化位点的简化的MUC16糖肽模型中，糖基化的随机性质导致各种N-聚糖的存在，所有N-聚糖都通过共有的壳二糖干与MUC16蛋白骨架相连。因此，针对壳二糖连接(在N24/N30位点)的MUC16胞外域的MUC16^{c114}聚糖肽表位制备抗体。这些新抗体(MUC16糖基化抗体)阻断MUC16增强的侵袭、癌基因激活和体内肿瘤生长。重要的是，这些MUC16糖基化抗体抑制具有全长MUC16表达以及具有较短的MUC16 C-末端表达的测试性截短的构建体的细胞中的MUC16相关性质。MUC16糖基化抗体在CHX存在下干扰了卵巢癌细胞表面的EGFR稳定性，并在裸小鼠中损伤了移植生长。此外，MUC16糖基化抗体的作用也阻止了纯化的MUC16与纯化的EGFR或整联蛋白β1在重组半乳糖凝集素-3存在下的相互作用。

[0872] 本实施例揭示了粘蛋白过表达在癌症中的作用的见解。通过形成凝集素介导的低亲和力多分子复合物，MUC16能够以糖基化依赖的方式增强“外向内”信号转导。负责最大作用的特异性N-糖基化位点是独特的并且靠近细胞表面，而其他更远端的N-糖基化位点可能不那么重要。在临床开发中存在半乳糖凝集素-3抑制剂，但是模拟受体“半乳糖凝集素-3-TRAP”构建体或截短的“MUC16-TRAP”分子在本实施例的体外模型中具有相似的效果。本实施例中鉴定的MUC16糖基化抗体抑制MUC16的转化作用。

[0873] 6.3.13参考文献

[0874] 1.Ahmad,N.,Gabius,H.J.,Andre,S.,Kaltner,H.,Sabesan,S.,Roy,R.,Liu,B.,Macaluso,F.和Brewer,C.F.(2004).Galectin-3 precipitates as a penta-mer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes.J Biol Chem 279,10841-10847.

[0875] 2.Alper,O.,Bergmann-Leitner,E.S.,Bennett,T.A.,Hacker,N.F.,Stromberg,K.和Stetler-Stevenson,W.G.(2001).Epidermal growth factor receptor signaling and the invasive phenotype of ovarian carcinoma cells.J Natl Cancer Inst 93,1375-1384.

[0876] 3.Bast,R.C.,Jr.,Feeney,M.,Lazarus,H.,Nadler,L.M.,Colvin,R.B.和Knapp,R.C.(1981).Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.The Journal of clinical investigation 68,1331-1337.

[0877] 4.Burton,D.R.和Mascola,J.R.(2015).Antibody responses to envelope glycoproteins in HIV-1infection.Nat Immunol 16,571-576.

[0878] 5.Dharma Rao,T.,Park,K.J.,Smith-Jones,P.,Iasonos,A.,Linkov,I.,Soslow,R.A.和Spriggs,D.R.(2010).Novel monoclonal antibodies against the proximal(carboxy-terminal)portions of MUC16.Appl Immunohistochem Mol Morphol 18,462-472.

[0879] 6.Fernandez-Tejada,A.,Vadola,P.A.和Danishefsky,S.J.(2014).Chemical synthesis of the β-subunit of human luteinizing(hLH)and chorionic gonadotropin(hCG)glycoprotein hormones.J Am Chem Soc 136,8450-8458.

[0880] 7.Granovsky,M.,Fata,J.,Pawling,J.,Muller,W.J.,Khokha,R.和Dennis,J.W.

(2000).Suppression of tumor growth and metastasis in Mgat5-deficient mice.Nat Med 6,306-312.

[0881] 8.Hirabayashi,J.,Hashidate,T.,Arata,Y.,Nishi,N.,Nakamura,T.,Hirashima,M.,Urashima,T.,Oka,T.,Futai,M.,Muller,W.E.等,(2002).Oligosaccharide specificity of galectins:a search by frontal affinity chromatography.Biochim Biophys Acta 1572,232-254.

[0882] 9.Hollingsworth,M.A.和Swanson,B.J.(2004).Mucins in cancer:protection and control of the cell surface.Nat Rev Cancer 4,45-60.

[0883] 10.Lajoie,P.,Partridge,E.A.,Guay,G.,Goetz,J.G.,Pawling,J.,Lagana,A.,Joshi,B.,Dennis,J.W.和Nabi,I.R.(2007).Plasma membrane domain organization regulates EGFR signaling in tumor cells.J Cell Biol 179,341-356.

[0884] 11.Lau,K.S.,Partridge,E.A.,Grigorian,A.,Silvescu,C.I.,Reinhold,V.N.,Demetriou,M.和Dennis,J.W.(2007).Complex N-glycan number and degree of branching cooperate to regulate cell proliferation and differentiation.Cell 129,123-134.

[0885] 12.Mascola,J.R.和Haynes,B.F.(2013).HIV-1 neutralizing antibodies:understanding nature's pathways.Immunol Rev 254,225-244.

[0886] 13.Mazal,D.,Lo-Man,R.,Bay,S.,Pritsch,O.,Deriaud,E.,Ganneau,C.,Medeiros,A.,Ubillos,L.,Obal,G.,Berois,N.等,(2013).Monoclonal antibodies toward different Tn-amino acid backbones display distinct recognition patterns on human cancer cells.Implications for effective immuno-targeting of cancer.Cancer Immunol Immunother 62,1107-1122.

[0887] 14.Nakada,H.,Inoue,M.,Numata,Y.,Tanaka,N.,Funakoshi,I.,Fukui,S.,Mellors,A.和Yamashina,I.(1993).Epitopic structure of Tn glycophorin-a for an anti-Tn antibody(Mls-128).Proc Natl Acad Sci USA 90,2495-2499.

[0888] 15.Osinaga,E.,Bay,S.,Tello,D.,Babino,A.,Pritsch,O.,Assemat,K.,Cantacuzene,D.,Nakada,H.和Alzari,P.(2000).Analysis of the fine specificity of Tn-binding proteins using synthetic glycopeptide epitopes and a biosensor based on surface plasmon resonance spectroscopy.FEBS Lett 469,24-28.

[0889] 16.Partridge,E.A.,Le Roy,C.,Di Guglielmo,G.M.,Pawling,J.,Cheung,P.,Granovsky,M.,Nabi,I.R.,Wrana,J.L.和Dennis,J.W.(2004).Regulation of cytokine receptors by Golgi N-glycan processing and endocytosis.Science 306,120-124.

[0890] 17.Rao,T.D.,Rosales,N.和Spriggs,D.R.(2011).Dual-fluorescence isogenic high-content screening for MUC16/CA125 selective agents.Mol Cancer Ther 10,1939-1948.

[0891] 18.Rao,T.D.,Tian,H.,Ma,X.,Yan,X.,Thapi,S.,Schultz,N.,Rosales,N.,Monette,S.,Wang,A.,Hyman,D.M.等,(2015).Expression of the carboxy-terminal portion of MUC16/CA125 induces transformation and tumor invasion.PLoS One 10,e0126633.

[0892] 19.Strausberg,R.L.,Feingold,E.A.,Grouse,L.H.,Derge,J.G.,Klausner,R.D.,Collins,F.S.,Wagner,L.,Shenmen,C.M.,Schuler,G.D.,Altschul,S.F.等,(2002).Generation and initial analysis of more than 15,000full-length human and mouse cDNA sequences.Proc Natl Acad Sci USA 99,16899-16903.

[0893] 20.Wang,P.,Aussedat,B.,Vohra,Y.和Danishefsky,S.J.(2012).An advance in the chemical synthesis of homogeneous N-linked glycopolypeptides by convergent aspartylation.Angew Chem Int Edit 51,11571-11575.

[0894] 21.Yin,B.W.,Dnistrian,A.和Lloyd,K.O.(2002).Ovarian cancer antigen CA125 is encoded by the MUC16 mucin gene.Int J Cancer 98,737-740.

[0895] 22.Yin,B.W.和Lloyd,K.O.(2001).Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen:identification as a new mucin,MUC16.J Biol Chem 276,27371-27375.

[0896] 6.4实施例4:补充化学信息

[0897] 该实施例提供(a)实施例2和3(第6.2和6.3节)中描述的某些使用的方法和实验的更详细描述;和(b)与实施例2和3(第6.2和6.3节)相比的附加信息。

[0898] 6.4.1一般材料和方法

[0899] 使用所有可商购的材料(Aldrich,Fluka,Novabiochem),无需进一步纯化。N-α-Fmoc保护的氨基酸,伪脯氨酸二肽,Oxyma Pure和NovaSyn TG Sieber树脂购自Novabiochem。1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐(HATU)购自Genscript。(7-氮杂苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷基鏻六氟磷酸盐(PyAOP)购自Oakwood Products,Inc。壳二糖八醋酸酯购自Carbosynth Limited。TCEP溶液(0.5M,中性pH)和异双功能接头磺基-GMBS购自Pierce,ThermoScientific。所有其他试剂,包括血蓝蛋白(KLH)购自Aldrich。所有溶剂均为试剂级或HPLC级(Fisher Scientific)。无水四氢呋喃,乙醚,二氯甲烷,甲苯和苯由干溶剂体系(在氩气氛下通过中性氧化铝柱)得到,不经进一步干燥使用。

[0900] 反应在预纯化的干燥氩气气氛下进行。空气和湿气敏感的液体和溶液通过注射器转移。通过用甲苯共沸除去水来干燥合适的碳水化合物试剂。分子筛在350℃下活化,并在使用前立即破碎,然后在真空下进行火焰干燥。通过在30℃以下的旋转蒸发将有机溶液减压浓缩。在Bruker Advance DRX-600MHz光谱仪上记录NMR光谱(^{1}H和^{13}C),以^{TM}S或残余溶剂为参考。使用JOEL JMS-DX-303-HF质谱仪或Waters Micromass ZQ质谱仪进行低分辨率质谱分析。在E.-merck硅胶60F254板上进行分析TLC,并在UV光(254nm)下或通过用钼酸铈铵(CAM)或5%硫酸在甲醇中染色显色。在E.-merck 230-400目硅胶60上进行二氧化硅快速柱层析。

[0901] 6.4.1.1 UPLC/LC-MS分析和RP-HPLC纯化。

[0902] 所有反相色谱分离都涉及由在水中的0.05%三氟乙酸(TFA)(v/v)和在乙腈中的0.04%TFA组成的流动相。在具有光电二极管检测器和单四极杆质谱检测器的Waters Acquity™ Ultra Preformance液相色谱系统的UPLC-MS分析中监测反应进程,该检测器装备有Acquity UPLC BEH C18/C8/C4柱(1.7μm,2.1×100mm),流速为0.3mL/min。使用Varian Microsorb C18柱(150×2.0mm)、Varian Microsorb C8/C4柱(250×2.0mm)或Waters X-

Bridge C18柱(150×2.1mm)在具有Waters 2996光电二极管阵列检测器的Waters 2695分离模块上进行分析LC-MS分析,流速为0.2mL/min。使用Agilent Dynamax反相HPLC Microsorb C18/C8/C4柱(250×21.4mm)或Waters X-Bridge C18柱(150×19.0mm),在装有Rainin UV-1检测器的Ranin HPLC溶剂输送系统上进行制备级HPLC纯化,流速为16.0mL/min。

[0903] 6.4.2实验流程

[0904] 6.4.2.1基于Fmoc的固相肽合成(SPPS)

[0905] 在CEM Liberty微波肽合成仪上进行自动肽合成。在NovaSyn TG Sieber树脂上用标准Fmoc方案合成肽。解块(deblock)混合物由Oxyma Pure(0.1M)的20%哌啶/DMF溶液组成。使用来自Novabiochem的以下Fmoc氨基酸:Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Arg(Pbf)-OH、Fmoc-Asn(Dmcp)-OH、Fmoc-Asp(OMpe)-OH、Fmoc-Asp(OPp)-OH、Fmoc-Asp(OAllyl)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Gln(Dmcp)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(OtBu)-OH、Fmoc-Thr(OtBu)-OH、Fmoc-Tyr(OtBu)-OH、Fmoc-Val-OH。使用以下Dmb(2,4-二甲氧基苄基)和伪脯氨酸二肽(Novabiochem):Fmoc-Asp(OtBu)-(Dmb)Gly-OH、Fmoc-Gly-Thr($\psi^{Me,Me}$Pro)-OH、Fmoc-Phe-Thr($\psi^{Me,Me}$Pro)-OH、Fmoc-Ser(tBu)-Ser($\psi^{Me,Me}$Pro)-OH。

[0906] 6.4.2.2肽树脂的N末端乙酰化

[0907] 当以0.1mmol的规模自动合成完成时,将肽树脂用DMF(2mL)洗涤到肽合成容器中,并用乙酸酐(188μL,2mmol)和DIEA(384μL,2.2mmol)的DMF(2mL)溶液处理。将混合物通过温和的氮气鼓泡振荡1小时,然后用DMF和CH_2Cl_2洗涤,然后进行脱烯丙基化。

[0908] 6.4.2.3天冬氨酸侧链的树脂上脱烯丙基化,Asp(OAllyl)

[0909] 用$Pd(PPh_3)_4$(7.5mg,6.5μmol)和苯基硅烷(75μL,0.6mmol)在DMF/CH_2Cl_2(4mL,1:1)中处理N-乙酰化树脂结合的肽(0.1mol)。在轻微的氮气鼓泡20分钟后,重复$Pd(PPh_3)_4$/苯基硅烷处理两次。然后用DMF、CH_2Cl_2和甲醇洗涤肽-树脂,并在真空下干燥。

[0910] 6.4.2.4从树脂切割[和同时的Asp(O-2-Ph^iPr)侧链脱保护,在适用情况下]

[0911] 干燥后,将肽-树脂用裂解混合物(1%TFA/CH_2Cl_2,4mL)处理5个循环×5分钟,该过程重复四次。另外的裂解顺序包括用1.5%TFA/CH_2Cl_2(4mL 5循环×5分钟)和2%TFA/CH_2Cl_2(4mL 5循环×5分钟)处理。裂解溶液的各部分分别收集在冰冷的Et_2O中并浓缩。将相应的油状残余物重新悬浮于最少量的三氟乙醇中,并用水沉淀。立即将所得混合物冻干,得到带有C末端酰胺的粗制受保护的肽。

[0912] 6.4.2.5部分保护的全长肽(55-mer)与聚糖胺通过Lansbury天冬氨酰化偶联,随后用混合物R去除酸不稳定保护基

[0913] 将部分保护的全长肽(1.0当量)和聚糖胺(壳二糖:4.0当量;$Man_3GlcNAc_2$ 1.6当量)合并并溶解在无水DMSO中。向该混合物中加入新鲜制备的PyAOP(4.0当量)的DMSO溶液,然后加入DIEA(6.0当量)。将反应混合物搅拌3小时,并加入1mL冰冷的水(0.05%TFA)淬火。通过离心分离形成的沉淀物,重悬于水/CH_3CN(1:1,0.05%TFA)中,并立即冻干。

[0914] 然后通过用混合物R(90%TFA,5%硫代苯甲醚,3%乙二硫醇,2%苯甲醚)(1mL)处理2小时,将受保护的糖肽进行全局酸脱保护。残余物用冰冷的Et_2O(12mL)沉淀,将所得悬浮液离心,得到白色沉淀。将上清液倾析,并将沉淀用冰冷的乙醚(12mL)研磨。该过程总共

重复三次，所得沉淀溶解于水/CH_3CN(1:1，5％TFA)中并冻干。通过RP-HPLC纯化相应的粗糖肽。

[0915] 6.4.2.6通过Lansbury/双Lansbury天冬氨酰化将部分保护的小型肽(15-和18-mer)与壳二糖胺偶联，随后除去酸不稳定保护基

[0916] 将部分保护的肽(1.0当量)和壳二糖胺(3.0当量/对于双Lansbury天冬氨酰化为7.0当量)合并并溶解在无水DMSO中。向该混合物中加入新鲜制备的PyAOP(4当量/后一种情况下为6当量)的DMSO溶液，然后加入DIEA(分别为6当量/8当量)。将反应混合物搅拌2.5小时，并加入1mL冰冷的水(0.05％TFA)淬火。通过离心分离形成的沉淀物，重悬于水/CH_3CN(1:1，0.05％TFA)中，并立即冻干。

[0917] 然后通过用TFA混合物(94％TFA，2.5％H_2O，2.5％EDT，1％TIPSH)(1mL)处理2小时，将受保护的糖肽进行全局酸脱保护。残余物用冰冷的Et_2O(12mL)沉淀，将悬浮液离心，得到白色沉淀。将上清液倾析，并将沉淀用冰冷的乙醚(12mL)研磨。该过程总共重复三次，将所得沉淀物溶于水/CH_3CN(1:1，0.05％TFA)中并冻干。通过RP-HPLC纯化相应的粗糖肽。

[0918] 6.4.2.7 15/18-mer糖肽的KLH-缀合

[0919] 首先将KLH与异双功能交联剂磺基-GGBS)在pH7磷酸盐缓冲盐水(PBS)中孵育2小时。通过尺寸排阻色谱法(分别通过Bio-Gel P-10细柱)除去未结合的交联剂，然后获得马来酰亚胺活化的KLH。将带有末端硫醇官能团的新鲜去保护的(糖)肽与含有马来酰亚胺的KLH在pH 7PBS中混合，并在室温下温育6小时。此后，使用Amicon Ultra-4离心过滤器(50000截留分子量)除去未反应的(糖)肽。最后，获得作为PBS溶液的相应的KLH缀合物。

[0920] 6.4.3全长MUC16糖肽(55-MER)的合成

[0921] 6.4.3.1含有壳二糖的全长糖肽的合成

[0922] 根据6.4.2.1的方法完成自动合成后，将肽树脂进行N-乙酰化和脱烯丙基化(分别参见6.4.2.2和6.4.2.3节)，以提供在树脂切割后(见第6.4.2.4节)，在Asp30侧链上具有游离羧酸的部分保护的肽p55-mer[N1-S55]。通过硅胶柱色谱法纯化该粗肽的一部分，用5→12％MeOH/CH_2Cl_2洗脱，冷冻干燥后得到作为白色固体的肽p55-mer[N1-S55](70mg)。图27A描绘了侧链保护的N-乙酰化的55-mer肽酰胺。图27B描绘了来自用于糖肽p55-mer[N1-S55]的UPLC分析的ESI-MS和UV示踪。

[0923] 根据6.4.2.6节，将肽p55-mer[N1-S55](20mg，2.0μmol)和壳二糖($GlcNAc_2$)端基异构胺(3.5mg，8.1μmol)合并并溶于无水DMSO(100μL)。然后加入PyAOP(4.3mg，8.1μmol)的DMSO(30μL)溶液，然后加入DIEA(2.0μL，12.2μmol)。将金黄色混合物搅拌3小时，加入1mL冰冷水(0.05％TFA)淬火，冷冻干燥。

[0924] 然后将保护的糖肽用混合物R(1.0mL)处理2小时，用冰冷的Et_2O沉淀，离心，重新悬浮并如第6.4.2.6节所述冻干。将粗肽溶解在25％乙腈/水(0.05％TFA)(2mL)中，并通过HPLC在X-Bridge C18柱上纯化，使用25-35％乙腈水溶液(0.05％TFA)的线性梯度30分钟。收集含有20分钟洗脱的所需产物的级分并冻干，得到糖肽“55-mer(壳二糖)[N1-S55]”($GlcNAc_2$-55-mer)(3.0mg，22％产率)，为白色固体(图28A)。图28B提供来自UPLC分析的糖肽“55-mer(壳二糖)[N1-S55]”($GlcNAc_2$-55-mer)的ESI-MS和UV示踪。

[0925] 6.4.3.2含有五糖的全长糖肽的合成

[0926] 根据6.4.2.6节，将肽p55-mer[N1-S55](10mg，1.0μmol)和五糖$Man_3GlcNAc_2$端基异

构胺(1.5mg,1.6μmol)合并并溶解在无水DMSO(30μL)中。然后加入PyAOP(2.1mg,4.1μmol)的DMSO(5μL)溶液,然后加入DIEA(1.0μL,6.1μmol)。将金黄色混合物搅拌3小时,加入1mL冰冷水(0.05%TFA)淬火,冷冻干燥。

[0927] 然后将保护的糖肽经受用混合物R(1.0mL)处理2小时,用冰冷的Et_2O沉淀,离心,重新悬浮并如第6.4.2.6节所述冻干。将粗肽溶解在25%乙腈/水(0.05%TFA)(2mL)中,并通过HPLC在X-Bridge C18柱上纯化,使用25-35%乙腈水溶液(0.05%TFA)的线性梯度30分钟。收集含有18分钟洗脱的所需产物的级分并冻干,得到糖肽"55-mer($Man_3GlcNAc_2$)[N1-S55]"($Man_3GlcNAc_2$-55-mer)(1.5mg,20%产率),为白色固体。图29A描绘了携带有$Man_3GlcNAc_2$的55-mer糖肽:"55-mer($Man_3GlcNAc_2$)[N1-S55]"($Man_3GlcNAc_2$-55-mer)。图29B描绘了对于糖肽"55-mer($Man_3GlcNAc_2$)[N1-S55]"($Man_3GlcNAc_2$-55-mer)的分析级HPLC分析的ESI-MS和UV示踪。

[0928] 6.4.4小尺寸糖肽(15-MER和18-MER)的合成

[0929] 6.4.4.1壳二糖-单糖基化15-mer的合成

[0930] 根据6.4.2.1节完成自动合成后,将肽树脂进行N-乙酰化和脱烯丙基化(分别见第6.4.2.2节和第6.4.2.3节),以提供从树脂裂解(参见第6.4.2.4节)后的在Asp30(对应于SEQ ID NO:150的Asn1806)侧链上具有游离羧酸的部分保护的肽p15-mer[C-G25-V38]。图30A。该肽不经进一步纯化用于下一步骤。

[0931] 将肽p15-mer[C-G25-V38](10mg,3.8μmol)和壳二糖($GlcNAc_2$)端基异构胺(4.8mg,11.3μmol)合并并溶解在无水DMSO(80μL)中。加入PyAOP(5.9mg,11.3μmol)的DMSO(20μL)溶液,然后加入DIEA(2.6μL,15μmol),将金黄色混合物搅拌2.5小时,冷冻并冻干。然后将受保护的糖肽用TFA混合物(1mL)处理2小时,用冰冷的乙醚沉淀,离心,重悬浮并根据第6.4.2.6节冻干。将粗肽溶于15%乙腈/水(0.05%TFA)(2mL)中,并在C18柱上使用15-35%乙腈水溶液(0.05%TFA)的线性梯度在30分钟内纯化。收集含有17分钟洗脱的所需产物的级分并冻干,得到糖肽"15-mer(壳二糖)[C-G25-V38]"($GlcNAc_2$-15-mer)(2.0mg,25%产率),为白色固体。壳二糖-单糖基化的15-mer糖肽:15-mer(壳二糖)[C-G25-V38]($GlcNAc_2$-15-mer)参见图30B。图30C描绘了用于糖肽"15-mer(壳二糖)[C-G25-V38]"($GlcNAc_2$-15-mer)的分析级HPLC分析的ESI-MS和UV示踪。

[0932] 6.4.4.2壳二糖-双糖基化的18-mer的合成

[0933] 根据6.4.2.1节完成自动化合成后,将肽-树脂进行N-乙酰化(见6.4.2.2)。然后,按照6.4.2.4节所述的方法,进行从树脂中切下并伴随去除OPp保护基,得到在Asp24和Asp30(分别对应于SEQ ID NO:150的Asn1800和Asn1806)侧链上带有游离羧酸的部分保护的肽p18-mer[C-T22-V38]。该肽不经进一步纯化用于下一步骤。参见图32A。

[0934] 将肽p18-mer[C-T22-V38](30mg,9.1μmol)和壳二糖($GlcNAc_2$)端基异构胺(27mg,63.4μmol)合并并溶解在无水DMSO(150μL)中。然后将PyAOP(28.5mg,54.6μmol)加入到DMSO(50μL)中,然后加入DIEA(2.6μL,15μmol),并将金黄色混合物搅拌2.5小时,冷冻并冻干。然后将受保护的糖肽用TFA混合物(1mL)处理2小时,用冰冷的乙醚沉淀,离心,重悬浮并根据第6.4.2.6节冻干。将粗肽溶解在15%乙腈/水(0.05%TFA)(6mL)中,并通过HPLC在C8柱上纯化,使用15-27%乙腈水溶液(0.05%TFA)的线性梯度在30分钟内纯化。收集含有15分钟洗脱的所需产物的级分并冻干,得到糖肽"18-mer(壳二糖)$_2$[C-T22-V38]"[($GlcNAc_2$)$_2$-18-

mer](6.5mg,25%收率),为白色固体。参见图32B。图32C描绘了用于糖肽“18-mer(壳二糖)$_2$[C-T22-V38]”[$(GlcNAc_2)_2$-18-mer]的分析级HPLC分析的ESI-MS和UV示踪。

[0935] 6.5 15-MER和18-MER MUC16糖肽的KLH缀合

[0936] 糖肽“15-mer(壳二糖)[C-G25-V38]”和“18-mer(壳二糖)$_2$[C-T22-V38]”被按照第6.4.2.7节所示流程缀合至KLH以提供对应的KLH缀合物,分别为$GlcNAc_2$-15-mer-KLH和$(GlcNAc_2)_2$-18-mer-KLH。参见图33A和图33B。

[0937] 7.序列表

[0938] 表13.序列表.

[0939]

SEQ ID NO	名称	SEQ
1	10C6 VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLNTLGMGVGWIRQPSG KGLEWLAHIWWDDDKYYNPALKSRLTISKDSSKNQVFLKIAN VDTADIATYYCSRIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS
2	10C6 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVSTSGYSYMHWNQQK PGQPPRLLIYLVSNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAA TYYCQHIRELTRSEGGPSWKN
3	10C6 HCDR1 (KABAT)	TLGMGVG
4	10C6 HCDR2 (KABAT)	HIWWDDDKYYNPALKS
5	10C6 HCDR3 (KABAT)	IGTAQATDALDY
6	10C6 LCDR1	RASKSVSTSGYSYMH

[0940]

	(KABAT)	
7	10C6 LCDR2 (KABAT)	LVSNLES
8	10C6 LCDR3 (KABAT)	QHIRELTRS
9	10C6 HCDR1 (CHOTHIA)	GFSLNTLGM
10	10C6 HCDR2 (CHOTHIA)	WDD
11	10C6 HCDR3 (CHOTHIA)	GTAQATDALD
12	10C6 LCDR1 (CHOTHIA)	SKSVSTSGYSY
13	10C6 LCDR2 (CHOTHIA)	LVS
14	10C6 LCDR3 (CHOTHIA)	IRELTR
15	10C6 HCDR1 (IMGT)	GFSLNTLGMG
16	10C6 HCDR2 (IMGT)	IWWDDDK
17	10C6 HCDR3 (IMGT)	SRIGTAQATDALDY
18	10C6 LCDR1 (IMGT)	KSVSTSGYSY
19	10C6 LCDR2 (IMGT)	LVS
20	10C6 LCDR3 (IMGT)	QHIRELTRS
21	7B12 VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTVGMGVGWSRQPSG KGLEWLAHIWWDDEDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIA NVDTADSATYYCTRIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS
22	7B12 VL	DIVMTQAAPSVSVTPGESVSISCRSSKSLRKSNGNTYLYWFLQR PGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLRISRVEAEDV GVYYCMQSLEYPLTFGGGTKLKIK
23	7B12 HCDR1 (KABAT)	TVGMGVG
24	7B12 HCDR2 (KABAT)	HIWWDDEDKYYNPALKS
25	7B12 HCDR3 (KABAT)	IGTAQATDALDY
26	7B12 LCDR1 (KABAT)	RSSKSLRKSNGNTYL Y
27	7B12 LCDR2 (KABAT)	YMSNLAS
28	7B12 LCDR3 (KABAT)	MQSLEYPLT
29	7B12 HCDR1 (CHOTHIA)	GFSLSTVGM

	30	7B12 HCDR2 (CHOTHIA)	WDDE
	31	7B12 HCDR3 (CHOTHIA)	GTAQATDALD
	32	7B12 LCDR1 (CHOTHIA)	SKSLRKSNGNTY
	33	7B12 LCDR2 (CHOTHIA)	YMS
	34	7B12 LCDR3 (CHOTHIA)	SLEYPL
	35	7B12 HCDR1 (IMGT)	GFSLSTVGMG
	36	7B12 HCDR2 (IMGT)	IWWDDEDK
	37	7B12 HCDR3 (IMGT)	TRIGTAQATDALDY
	38	7B12 LCDR1 (IMGT)	KSLRKSNGNTY
	39	7B12 LCDR2 (IMGT)	YMS
	40	7B12 LCDR3 (IMGT)	MQSLEYPLT
[0941]	41	19C11 VH	QVNLKESGPGKLQPSQTLSLTCSFSGFSLSTLGMGVGWIRQSSG KGLEWLAHIWWDDDKYYNPALKSRLTISRATSKNQVFLKIVN VGTADTATYYCARIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS
	42	19C11 VL	DIVMTQAAPSIPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGNTYLYWFLQR PGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLKISRVEAGD VGVYYCMQGLEHPLTFGGGTKLEIK
	43	19C11 HCDR1 (KABAT)	TLGMGVG
	44	19C11 HCDR2 (KABAT)	HIWWDDDKYYNPALKS
	45	19C11 HCDR3 (KABAT)	IGTAQATDALDY
	46	19C11 LCDR1 (KABAT)	RSSKSLLHSNGNTYLY
	47	19C11 LCDR2 (KABAT)	YMSNLAS
	48	19C11 LCDR3 (KABAT)	MQGLEHPLT
	49	19C11 HCDR1 (CHOTHIA)	GFSLSTLGM
	50	19C11 HCDR2 (CHOTHIA)	WDD
	51	19C11 HCDR3 (CHOTHIA)	GTAQATDALD
	52	19C11 LCDR1 (CHOTHIA)	SKSLLHSNGNTY
	53	19C11 LCDR2	YMS

[0942]

	(CHOTHIA)	
54	19C11 LCDR3 (CHOTHIA)	GLEHPL
55	19C11 HCDR1 (IMGT)	GFSLSTLGMG
56	19C11 HCDR2 (IMGT)	IWWDDDK
57	19C11 HCDR3 (IMGT)	ARIGTAQATDALDY
58	19C11 LCDR1 (IMGT)	KSLLHSNGNTY
59	19C11 LCDR2 (IMGT)	YMS
60	19C11 LCDR3 (IMGT)	MQGLEHPLT
61	16C5 VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLNTLGMGVGWIRQPSG KGLEWLAHIWWDDDKYYYPALKSRLTISRDTSKNQVFLKIAN VDTADTATYYCARIGTAQATDALDYWGQGTSVTV SS
62	16C5 VL	ELDMTQTPPSLSASVGETVRIRCLASEDIYSGISWYQQKPGKPP TLLIYGASNLESGVPPRFSGSGSGTDYTLTIGGVQAEDAATYYC LGGYSYSSTLTFGAGTNVEIK
63	16C5 HCDR1 (KABAT)	TLGMGVG
64	16C5 HCDR2 (KABAT)	HIWWDDDKYYYPALKS
65	16C5 HCDR3 (KABAT)	IGTAQATDALDY
66	16C5 LCDR1 (KABAT)	LASEDIYSGIS
67	16C5 LCDR2 (KABAT)	GASNLES
68	16C5 LCDR3 (KABAT)	LGGYSYSSTLT
69	16C5 HCDR1 (CHOTHIA)	GFSLNTLGM
70	16C5 HCDR2 (CHOTHIA)	WDD
71	16C5 HCDR3 (CHOTHIA)	GTAQATDALD
72	16C5 LCDR1 (CHOTHIA)	SEDIYSG
73	16C5 LCDR2 (CHOTHIA)	GAS
74	16C5 LCDR3 (CHOTHIA)	GYSYSSTL
75	16C5 HCDR1 (IMGT)	GFSLNTLGMG
76	16C5 HCDR2 (IMGT)	IWWDDDK

[0943]

77	16C5 HCDR3 (IMGT)	ARIGTAQATDALDY
78	16C5 LCDR1 (IMGT)	EDIYSG
79	16C5 LCDR2 (IMGT)	GAS
80	16C5 LCDR3 (IMGT)	LGGYSYSSTLT
81	18C6 VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTVGMGVGWSRQPSG KGLEWLAHIWWDDEDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIA NVDTADTATYYCTRIGTAQATDALDYWGQGTSVTVSS
82	18C6 VL	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGNTYLYWFLQR PGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLRISRVEAEDV GVYYCMQSLEYPLTFGGGTKLEIK
83	18C6 HCDR1 (KABAT)	TVGMGVG
84	18C6 HCDR2 (KABAT)	HIWWDDEDKYYNPALKS
85	18C6 HCDR3 (KABAT)	IGTAQATDALDY
86	18C6 LCDR1 (KABAT)	RSSKSLLHSNGNTYLY
87	18C6 LCDR2 (KABAT)	YMSNLAS
88	18C6 LCDR3 (KABAT)	MQSLEYPLT
89	18C6 HCDR1 (CHOTHIA)	GFSLSTVGM
90	18C6 HCDR2 (CHOTHIA)	WDDE
91	18C6 HCDR3 (CHOTHIA)	GTAQATDALD
92	18C6 LCDR1 (CHOTHIA)	SKSLLHSNGNTY
93	18C6 LCDR2 (CHOTHIA)	YMS
94	18C6 LCDR3 (CHOTHIA)	SLEYPL
95	18C6 HCDR1 (IMGT)	GFSLSTVGMG
96	18C6 HCDR2 (IMGT)	IWWDDEDK
97	18C6 HCDR3 (IMGT)	TRIGTAQATDALDY
98	18C6 LCDR1 (IMGT)	KSLLHSNGNTY
99	18C6 LCDR2 (IMGT)	YMS
100	18C6 LCDR3 (IMGT)	MQSLEYPLT

[0944]

101	10C6-18C6 VH 共同序列	QVX21LKESGPGX22LQPSQTLSLTCSFSGFSLX23TX24GMGVGW X25RQX26SGKGLEWLAHIWWDDX27DKYYX28PALKSRLTISX29X 30X31SKNQVFLKIX32NVX33TADX34ATYYCX35RIGTAQATDALD YWGQGTSVTVSS 其中 X21 是 T 或 N，X22 是 I 或 K，X23 是 N 或 S，X24 是 V 或 L，X25 是 S 或 I，X26 是 P 或 S，X27 是 E 或不存在，X28 是 N 或 Y，X29 是 K 或 R，X30 是 A 或 D，X31 是 T 或 S，X32 是 V 或 A，X33 是 G 或 D，X34 是 T，I 或 S 且 X35 是 T，S 或 A
102	7B12、19C11、18C6 VL 共同序列	DIVMTQAAPSX36X37VTPGESVSISCRSSKSLX38X39SNGNTYLY WFLQRPGQSPQRLIYYMSNLASGVPDRFSGRGSGTDFTLX40ISR VEAX41DVGVYYCMQX42LEX43PLTFGGGTKLEIK 其中 X36 是 I 或 V，X37 是 P 或 S，X38 是 R 或 L，X39 是 K 或 H，X40 是 R 或 K，X41 是 E 或 G，X42 是 S 或 G 且 X43 是 Y 或 H
103	HCDR1 KABAT 共同序列	TX1GMGVG 其中 X1 是 L 或 V
104	HCDR2 KABAT 共同序列	HIWWDDX2DKYYX3PALKS 其中 X2 是 E 或不存在和 X3 是 Y 或 N
105	HCDR3 KABAT 共同序列	IGTAQATDALDY
106	7B12、19C11、18C6 LCDR1 KABAT 共同序列	RSSKSLX4X5SNGNTYLY 其中 X4 是 R 或 L 且 X5 是 K 或 H
107	7B12、19C11、18C6 LCDR2 KABAT 共同序列	YMSNLAS
108	7B12、19C11、18C6 LCDR3 KABAT 共同序列	MQX6LEX7PLT 其中 X6 是 G 或 S 和 X7 是 H 或 Y
109	10C6-18C6 HCDR1 CHOTHIA 共同序列	GFSLX8TX9GM 其中 X8 是 N 或 S 且 X9 是 L 或 V
110	10C6-18C6	WDDX10

[0945]

	HCDR2 CHOTHIA 共同序列	其中 X_{10} 是 E 或不存在
111	10C6-18C6 HCDR3 CHOTHIA 共同序列	GTAQATDALD
112	7B12、19C11、18C6 LCDR1 CHOTHIA 共同序列	SKSLX$_{11}$X$_{12}$SNGNTY 其中 X_{11} 是 L 或 R 且 X_{12} 是 H 或 K
113	7B12、19C11、18C6 LCDR2 CHOTHIA 共同序列	YMS
114	7B12、19C11、18C6 LCDR3 CHOTHIA 共同序列	X$_{13}$LEX$_{14}$PL 其中 X_{13} 是 G 或 S 且 X_{14} 是 H 或 Y
115	10C6-18C6 HCDR1 IMGT 共同序列	GFSLX$_{15}$TX$_{16}$GMG 其中 X_{15} 是 N 或 S 且 X_{16} 是 V 或 L
116	10C6-18C6 HCDR2 IMGT 共同序列	IWWDDX$_{17}$DK 其中 X_{17} 是 E 或不存在
117	10C6-18C6 HCDR3 IMGT 共同序列	X$_{18}$RIGTAQATDALDY 其中 X_{18} 是 T，A 或 S
118	7B12、19C11、18C6 LCDR1 IMGT 共同序列	KSLX$_{19}$X$_{20}$SNGNTY 其中 X_{19} 是 V 或 L 且 X_{20} 是 H 或 K
119	7B12、19C11、18C6 LCDR2 IMGT 共同序列	YMS
120	7B12、19C11、18C6 LCDR3 IMGT 共同序列	MQSLEYPLT

[0946]

121	MUC16c114 F 引物	CCATGCGATATCGCCACCATGGTGAACTTCTCGCCACTGGCT
122	MUC16c114 R 引物	TACGGCGGCCGCTTGCAGATCCTCCAGGTCTAGG
123	MUC16c344 F 引物	CCATGCGATATCGCCACCATGGTGACAGGCCCTGGGCTGGACAGA
124	MUC16c344 R 引物	TACGGCGGCCGCTTGCAGATCCTCCAGGTCTAGG
125	MUC16c57-114 F 引物	CCATGCGATATCAAACTTCTCGCCACTGGCT
126	MUC16c57-114 R 引物	AGATCTAACCATGGGAAGGTCAGAATTCCCAGT
127	117-244LGALS3 F 引物	CCATGCGATATCACCTTATAACCTGCCTTTG
128	117-244LGALS3 R 引物	AGATCTAACCATGGTATATGAAGCACTGGT
129	55-mer 免疫肽	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNS
130	18-mer 免疫肽	CTRNGTQLQNFTLDRSSV
131	15-mer 免疫肽	CGTQLQNFTLDRSSV
132	MUC16c344	WELSQLTHGVTQLGFYVLDRDSLFINGYAPQNLSIRGEYQINFHIVNQNLSNPDPTSSEYITLLRDIQDKVTTLYKGSQLHDTFRFCLVTNLTMDSVLVTVKALFSSNLDPSLVEQVFLDKTLNASFHQLGSTYQLVDIHVTEMESSVYQPTSSSSTQHFYLNFTITNLPYSQDKAQPGTTNYQRNKRNIEDALNQLFRNSSIKSYFSDCQVSTFRVPNRHHTGVDSLCNFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
133	MUC16c114	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
134	MUC16c86	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
135	MUC16c80	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGDLEDLQ
136	不成熟的人 MUC16 氨基酸序列 (NP_078966.2)	MLKPSGLPGSSSPTRSLMTGSRSTKATPEMDSGLTGATLSPKTSTGAIVVTEHTLPFTSPDKTLASPTSSVVGRTTQSLGVMSSALPESTSRGMTHSEQRTSPSLSPQVNGTPSRNYPATSMVSGLSSPRTRTSSTEGNFTKEASTYTLTVETTSGPVTEKYTVPTETSTTEGDSTETPWDTRYIPVKITSPMKTFADSTASKENAPVSMTPAETTVTDSHTPGRTNPSFGTLYSSFLDLSPKGTPNSRGETSLELILSTTGYPFSSPEPGSAGHSRISTSAPLSSSASVLDNKISETSIFSGQSLTSPLSPGVPEARASTMPNSAIPFSMTLSNAETSAERVRSTISSLGTPSISTK

[0947]

		QTAETILTFHAFAETMDIPSTHIAKTLASEWLGSPGTLGGTSTSA LTTTSPSTTLVSEETNTHHSTSGKETEGTLNTSMTPLETSAPGEE SEMTATLVPTLGFTTLDSKIRSPSQVSSSHPTRELRTTGSTSGRQ SSSTAAHGSSDILRATTSSTSKASSWTSESTAQQFSEPQHTQWV ETSPSMKTERPPASTSVAAPITTSVPSVVSGFTTLKTSSTKGIWL EETSADTLIGESTAGPTTHQFAVPTGISMTGGSSTRGSQGTTHLL TRATASSETSADLTLATNGVPVSVSPAVSKTAAGSSPPGGTKPSY TMVSSVIPETSSLQSSAFREGTSLGLTPLNTRHPFSSPEPDSAGH TKISTSIPLLSSASVLEDKVSATSTFSHHKATSSITTGTPEISTKTK PSSAVLSSMTLSNAATSPERVRNATSPLTHPSPSGEETAGSVLTL STSAETTDSPNIHPTGTLTSESSESPSTLSLPSVSGVKTTFSSSTPS THLFTSGEETEETSNPSVSQPETSVSRVRTTLASTSVPTPVFPTM DTWPTRSAQFSSSHLVSELRATSSTSVTNSTGSALPKISHLTGTA TMSQTNRDTFNDSAAPQSTTWPETSPRFKTGLPSATTTVSTSAT SLSATVMVSKFTSPATSSMEATSIREPSTTILTTETTNGPGSMAVA STNIPIGKGYITEGRLDTSHLPIGTTASSETSMDFTMAKESVSMS VSPSQSMDAAGSSTPGRTSQFVDTFSDDVYHLTSREITIPRDGT SSALTPQMTATHPPSPDPGSARSTWLGILSSSPSSPTPKVTMSST FSTQRVTTSMIMDTVETSRWNMPNLPSTTSLTPSNIPTSGAIGKS TLVPLDTPSPATSLEASEGGLPTLSTYPESTNTPSIHLGAHASSES PSTIKLTMASVVKPGSYTPLTFPSIETHIHVSTARMAYSSGSSPE MTAPGETNTGSTWDPTTYITTTDPKDTSSAQVSTPHSVRTLRTT ENHPKTESATPAAYSGSPKISSSPNLTSPATKAWTITDTTEHSTQL HYTKLAEKSSGFETQSAPGPVSVVIPTSPTIGSSTLELTSDVPGE PLVLAPSEQTTITLPMATWLSTSLTEEMASTDLDISSPSSPMSTF AIFPPMSTPSHELSKSEADTSAIRNTDSTTLDQHLGIRSLGRTGD LTTVPITPLTTTWTSVIEHSTQAQDTLSATMSPTHVTQSLKDQTS IPASASPSHLTEVYPELGTQGRSSSEATTFWKPSTDTLSREIETGP TNIQSTPPMDNTTTGSSSSGVTLGIAHLPIGTSSPAETSTNMALE RRSSTATVSMAGTMGLLVTSAPGRSISQSLGRVSSVLSESTTEG VTDSSKGSSPRLNTQGNTALSSSLEPSYAEGSQMSTSIPLTSSPT TPDVEFIGGSTFWTKEVTTVMTSDISKSSARTESSSATLMSTAL GSTENTGKEKLRTASMDLPSPTPSMEVTPWISLTLSNAPNTTDS LDLSHGVHTSSAGTLATDRSLNTGVTRASRLENGSDTSSKSLS MGNSTHTSMTYTEKSEVSSSIHPRPETSAPGAETTLTSTPGNRAI SLTLPFSSIPVEEVISTGITSGPDINSAPMTHSPITPPTIVWTSTGTI EQSTQPLHAVSSEKVSVQTQSTPYVNSVAVSASPTHENSVSSGS STSSPYSSASLESLDSTISRRNAITSWLWDLTTSLPTTTWPSTSLS EALSSGHSGVSNPSSTTTEFPLFSAASTSAAKQRNPETETHGPQ NTAASTLNTDASSVTGLSETPVGASISSEVPLPMAITSRSDVSGL TSESTANPSLGTASSAGTKLTRTISLPTSESLVSFRMNKDPWTVS IPLGSHPTTNTETSIPVNSAGPPGLSTVASDVIDTPSDGAESIPTV SFSPSPDTEVTTISHFPEKTTHSFRTISSLTHELTSRVTPIPGDWMS SAMSTKPTGASPSITLGERRTITSAAPTTSPIVLTASFTETSTVSL DNETTVKTSDILDARKTNELPSDSSSSSDLINTSIASSTMDVTKT ASISPTSISGMTASSSPSLFSSDRPQVPTSTTETNTATSPSVSSNTY SLDGGSNVGGTPSTLPPFTITHPVETSSALLAWSRPVRTFSTMV STDTASGENPTSSNSVVTSVPAPGTWTSVGSTTDLPAMGFLKTS PAGEAHSLLASTIEPATAFTPHLSAAVVTGSSATSEASLLTTSESK AIHSSPQTPTTPTSGANWETSATPESLLVVTETSDTTLTSKILVTD TILFSTVSTPPSKFPSTGTLSGASFPTLLPDTPAIPLTATEPTSSLAT

[0948]

		SFDSTPLVTIASDSLGTVPETTLTMSETSNGDALVLKTVSNPDRS IPGITIQGVTESPLHPSSTSPSKIVAPRNTTYEGSITVALSTLPAGT TGSLVFSQSSENSETTALVDSSAGLERASVMPLTTGSQGMASSG GIRSGSTHSTGTKTFSSLPLTMNPGEVTAMSEITTNRLTATQSTA PKGIPVKPTSAESGLLTPVSASSSPSKAFASLTTAPPTWGIPQSTL TFEFSEVPSLDTKSASLPTPGQSLNTIPDSDASTASSSLSKSPEKN PRARMMTSTKAISASSFQSTGFTETPEGSASPSMAGHEPRVPTS GTGDPRYASESMSYPDPSKASSAMTSTSLASKLTTLFSTGQAAR SGSSSSPISLSTEKETSFLSPTASTSRKTSLFLGPSMARQPNILVH LQTSALTLSPTSTLNMSQEEPPELTSSQTIAEEEGTTAETQTLTFT PSETPTSLLPVSSPTEPTARRKSSPETWASSISVPAKTSLVETTDG TLVTTIKMSSQAAQGNSTWPAPAEETGSSPAGTSPGSPEMSTTL KIMSSKEPSISPEIRSTVRNSPWKTPETTVPMETTVEPVTLQSTA LGSGSTSISHLPTGTTSPTKSPTENMLATERVSLSPSPPEAWTNL YSGTPGGTRQSLATMSSVSLESPTARSITGTGQQSSPELVSKTTG MEFSMWHGSTGGTTGDTHVSLSTSSNILEDPVTSPNSVSSLTD KSKHKTETWVSTTAIPSTVLNNKIMAAEQQTSRSVDEAYSSTSS WSDQTSGSDITLGASPDVTNTLYITSTAQTTSLVSLPSGDQGITS LTNPSGGKTSSASSVTSPSIGLETLRANVSAVKSDIAPTAGHLSQ TSSPAEVSILDVTTAPTPGISTTITTMGTNSISTTTPNPEVGMSTM DSTPATERRTTSTEHPSTWSSTAASDSWTVTDMTSNLKVARSPG TISTMHTTSFLASSTELDSMSTPHGRITVIGTSLVTPSSDASAVK TETSTSERTLSPSDTTASTPISTFSRVQRMSISVPDILSTSWTPSST EAEDVPVSMVSTDHASTKTDPNTPLSTFLFDSLSTLDWDTGRS LSSATATTSAPQGATTPQELTLETMISPATSQLPFSIGHITSAVTPA AMARSSGVTFSRPDPTSKKAEQTSTQLPTTTSAHPGQVPRSAA TTLDVIPHTAKTPDATFQRQGQTALTTEARATSDSWNEKEKSTP SAPWITEMMNSVSEDTIKEVTSSSSVLRTLNTLDINLESGTTSSP SWKSSPYERIAPSESTTDKEAIHPSTNTVETTGWVTSSEHASHS TIPAHSASSKLTSPVVTTSTREQAIVSMSTTTWPESTRARTEPNS FLTIELRDVSPYMDTSSTTQTSIISSPGSTAITKGPRTEITSSKRISS SFLAQSMRSSDSPSEAITRLSNFPAMTESGGMILAMQTSPPGAT SLSAPTLDTSATASWTGTPLATTQRFTYSEKTTLFSKGPEDTSQP SPPSVEETSSSSSLVPIHATTSPSNILLTSQGHSPSSTPPVTSVFLSE TSGLGKTTDMSRISLEPGTSLPPNLSSTAGEALSTYEASRDTKAI HHSADTAVTNMEATSSEYSPIPGHTKPSKATSPLVTSHIMGDITS STSVFGSSETTEIETVSSVNQGLQERSTSQVASSATETSTVITHVS SGDATTHVTKTQATFSSGTSISSPHQFITSTNTFTDVSTNPSTSLI MTESSGVTITTQTGPTGAATQGPYLLDTSTMPYLTETPLAVTPD FMQSEKTTLISKGPKDVSWTSPPSVAETSYPSSLTPFLVTTIPPAT STLQGQHTSSPVSATSVLTSGLVKTTDMLNTSMEPVTNSPQNL NNPSNEILATLAATTDIETIHPSINKAVTNMGTASSAHVLHSTLP VSSEPSTATSPMVPASSMGDALASISIPGSETTDIEGEPTSSLTAG RKENSTLQEMNSTTESNIILSNVSVGAITEATKMEVPSFDATFIP TPAQSTKFPDIFSVASSRLSNSPPMTISTHMTTTQTGSSGATSKIP LALDTSTLETSAGTPSVVTEGFAHSKITTAMNNDVKDVSQTNP PFQDEASSPSSQAPVLVTTLPSSVAFTPQWHSTSSPVSMSSVLTS SLVKTAGKVDTSLETVTSSPQSMSNTLDDISVTSAATTDIETTHP SINTVVTNVGTTGSAFESHSTVSAYPEPSKVTSPNVTTSTMEDT TISRSIPKSSKTTRTETETTSSLTPKLRETSISQEITSSTETSTVPYK ELTGATTEVSRTDVTSSSSTSFPGPDQSTVSLDISTETNTRLSTSP

[0949]

		IMTESAEITITTQTGPHGATSQDTFTMDPSNTTPQAGIHSAMTH GFSQLDVTTLMSRIPQDVSWTSPPSVDKTSSPSSFLSSPAMTTPS LISSTLPEDKLSSPMTSLLTSGLVKITDILRTRLEPVTSSLPNFSST SDKILATSKDSKDTKEIFPSINTEETNVKANNSGHESHSPALADS ETPKATTQMVITTTVGDPAPSTSMPVHGSSETTNIKREPTYFLTP RLRETSTSQESSFPTDTSFLLSKVPTGTITEVSSTGVNSSSKISTP DHDKSTVPPDTFTGEIPRVFTSSIKTKSAEMTITTQASPPESASH STLPLDTSTTLSQGGTHSTVTQGFPYSEVTTLMGMGPGNVSW MTTPPVEETSSVSSLMSSPAMTSPSPVSSTSPQSIPSSPLPVTALP TSVLVTTTDVLGTTSPESVTSSPPNLSSITHERPATYKDTAHTEA AMHHSTNTAVTNVGTSGSGHKSQSSVLADSETSKATPLMSTTS TLGDTSVSTSTPNISQTNQIQTEPTASLSPRLRESSTSEKTSSTTE TNTAFSYVPTGAITQASRTEISSSRTSISDLDRPTIAPDISTGMITR LFTSPIMTKSAEMTVTTQTTTPGATSQGILPWDTSTTLFQGGTH STVSQGFPHSEITTLRSRTPGDVSWMTTPPVEETSSGFSLMSPS MTSPSPVSSTSPESIPSSPLPVTALLTSVLVTTTNVLGTTSPEPVT SSPPNLSSPTQERLTTYKDTAHTEAMHASMHTNTAVANVGTSIS GHESQSSVPADSHTSKATSPMGITFAMGDTSVSTSTPAFFETRIQ TESTSSLIPGLRDTRTSEEINTVTETSTVLSEVPTTTTTEVSRTEVI TSSRTTISGPDHSKMSPYISTETITRLSTFPFVTGSTEMAITNQTG PIGTISQATLTLDTSSTASWEGTHSPVTQRFPHSEETTTMSRSTK GVSWQSPPSVEETSSPSSPVPLPAITSHSSLYSAVSGSSPTSALPV TSLLTSGRRKTIDMLDTHSELVTSSLPSASSFSGEILTSEASTNTE TIHFSENTAETNMGTTNSMHKLHSSVSIHSQPSGHTPPKVTGSM MEDAIVSTSTPGSPETKNVDRDSTSPLTPELKEDSTALVMNSTT ESNTVFSSVSLDAATEVSRAEVTYYDPTFMPASAQSTKSPDISP EASSSHSNSPPLTISTHKTIATQTGPSGVTSLGQLTLDTSTIATSA GTPSARTQDFVDSETTSVMNNDLNDVLKTSPFSAEEANSLSSQ APLLVTTSPSPVTSTLQEHSTSSLVSVTSVPTPTLAKITDMDTNL EPVTRSPQNLRNTLATSEATTDTHTMHPSINTAVANVGTTSSPN EFYFTVSPDSDPYKATSAVVITSTSGDSIVSTSMPRSSAMKKIES ETTFSLIFRLRETSTSQKIGSSSDTSTVFDKAFTAATTEVSRTELT SSSRTSIQGTEKPTMSPDTSTRSVTMLSTFAGLTKSEERTIATQT GPHRATSQGTLTWDTSITTSQAGTHSAMTHGFSQLDLSTLTSRV PEYISGTSPPSVEKTSSSSSLLSLPAITSPSPVPTTLPESRPSSPVHL TSLPTSGLVKTTDMLASVASLPPNLGSTSHKIPTTSEDIKDTEKM YPSTNIAVTNVGTTTSEKESYSSVPAYSEPPKVTSPMVTSFNIRD TIVSTSMPGSSEITRIEMESTFSLAHGLKGTSTSQDPIVSTEKSAV LHKLTTGATETSRTEVASSRRTSIPGPDHSTESPDISTEVIPSLPIS LGITESSNMTIITRTGPPLGSTSQGTFTLDTPTTSSRAGTHSMAT QEFPHSEMTTVMNKDPEILSWTIPPSIEKTSFSSSLMPSPAMTSP PVSSTLPKTIHTTPSPMTSLLTPSLVMTTDTLGTSPEPTTSSPPNL SSTSHEILTTDEDTTAIEAMHPSTSTAATNVETTSSGHGSQSSVL ADSEKTKATAPMDTTSTMGHTTVSTSMSVSSETTKIKRESTYSL TPGLRETSISQNASFSTDTSIVLSEVPTGTTAEVSRTEVTSSGRTS IPGPSQSTVLPEISTRTMTRLFASPTMTESAEMTIPTQTGPSGSTS QDTLTLDTSTTKSQAKTHSTLTQRFPHSEMTTLMSRGPGDMSW QSSPSLENPSSLPSLLSLPATTSPPPISSTLPVTISSSPLPVTSLLTSS PVTTTDMLHTSPELVTSSPPKLSHTSDERLTTGKDTTNTEAVHP STNTAASNVEIPSSGHESPSSALADSETSKATSPMFITSTQEDTT VAISTPHFLETSRIQKESISSLSPKLRETGSSVETSSAIETSAVLSE

[0950]

		VSIGATTEISRTEVTSSSRTSISGSAESTMLPEISTTRKIIKFPTSPIL AESSEMTIKTQTSPPGSTSESTFTLDTSTTPSLVITHSTMTQRLPH SEITTLVSRGAGDVPRPSSLPVEETSPPSSQLSLSAMISPSPVSST LPASSHSSSASVTSLLTPGQVKTTEVLDASAEPETSSPPSLSSTSV EILATSEVTTDTEKIHPFSNTAVTKVGTSSSGHESPSSVLPDSETT KATSAMGTISIMGDTSVSTLTPALSNTRKIQSEPASSLTTRLRETS TSEETSLATEANTVLSKVSTGATTEVSRTEAISFSRTSMSGPEQS TMSQDISIGTIPRISASSVLTESAKMTITTQTGPSESTLESTLNLN TATTPSWVETHSIVIQGFPHPEMTTSMGRGPGGVSWPSPPFVKE TSPPSSPLSLPAVTSPHPVSTTFLAHIPPSPLPVTSLLTSGPATTTDI LGTSTEPGTSSSSSLSTTSHERLTTYKDTAHTEAVHPSTNTGGTN VATTSSGYKSQSSVLADSSPMCTTSTMGDTSVLTSTPAFLETRRI QTELASSLTPGLRESSGSEGTSSGTKMSTVLSKVPTGATTEISKE DVTSIPGPAQSTISPDISTRTVSWFSTSPVMTESAEITMNTHTSPL GATTQGTSTLDTSSTTSLTMTHSTISQGFSHSQMSTLMRRGPED VSWMSPPLLEKTRPSFSLMSSPATTSPSPVSSTLPESISSSPLPVT SLLTSGLAKTTDMLHKSSEPVTNSPANLSSTSVEILATSEVTTDT EKTHPSSNRTVTDVGTSSSGHESTSFVLADSQTSKVTSPMVITS TMEDTSVSTSTPGFFETSRIQTEPTSSLTLGLRKTSSSEGTSLATE MSTVLSGVPTGATAEVSRTEVTSSSRTSISGFAQLTVSPETSTETI TRLPTSSIMTESAEMMIKTQTDPPGSTPESTHTVDISTTPNWVE THSTVTQRFSHSEMTTLVSRSPGDMLWPSQSSVEETSSASSLLS LPATTSPSPVSSTLVEDFPSASLPVTSLLNPGLVITTDRMGISREP GTSSTSNLSSTSHERLTTLEDTVDTEDMQPSTHTAVTNVRTSISG HESQSSVLSDSETPKATSPMGTTYTMGETSVSISTSDFFETSRIQI EPTSSLTSGLRETSSSERISSATEGSTVLSEVPSGATTEVSRTEVIS SRGTSMSGPDQFTISPDISTEAITRLSTSPIMTESAESAITIETGSP GATSEGTLTLDTSTTTFWSGTHSTASPGFSHSEMTTLMSRTPGD VPWPSLPSVEEASSVSSSLSSPAMTSTSFFSTLPESISSSPHPVTA LLTLGPVKTTDMLRTSSEPETSSPPNLSSTSAEILATSEVTKDRE KIHPSSNTPVVNVGTVIYKHLSPSSVLADLVTTKPTSPMATTST LGNTSVSTSTPAFPETMMTQPTSSLTSGLREISTSQETSSATERS ASLSGMPTGATTKVSRTEALSLGRTSTPGPAQSTISPEISTETITRI STPLTTTGSAEMTITPKTGHSGASSQGTFTLDTSSRASWPGTHS AATHRSPHSGMTTPMSRGPEDVSWPSRPSVEKTSPPSSLVSLSA VTSPSPLYSTPSESSHSSPLRVTSLFTPVMMKTTDMLDTSLEPVT TSPPSMNITSDESLATSKATMETEAIQLSENTAVTQMGTISARQE FYSSYPGLPEPSKVTSPVVTSSTIKDIVSTTIPASSEITRIEMESTS TLTPTPRETSTSQEIHSATKPSTVPYKALTSATIEDSMTQVMSSS RGPSPDQSTMSQDISTEVITRLSTSPIKTESTEMTITTQTGSPGAT SRGTLTLDTSTTFMSGTHSTASQGFSHSQMTALMSRTPGDVPW LSHPSVEEASSASFSLSSPVMTSSSPVSSTLPDSIHSSSLPVTSLLT SGLVKTTELLGTSSEPETSSPPNLSSTSAEILAITEVTTDTEKLEM TNVVTSGYTHESPSSVLADSVTTKATSSMGITYPTGDTNVLTST PAFSDTSRIQTKSKLSLTPGLMETSISEETSSATEKSTVLSSVPTG ATTEVSRTEAISSSRTSIPGPAQSTMSSDTSMETITRISTPLTRKES TDMAITPKTGPSGATSQGTFTLDSSSTASWPGTHSATTQRFPQS VVTTPMSRGPEDVSWPSPLSVEKNSPPSSLVSSSSVTSPSPLYST PSGSSHSSPVPVTSLFTSIMMKATDMLDASLEPETTSAPNMNIT SDESLAASKATTETEAIHVFENTAASHVETTSATEELYSSSPGFS EPTKVISPVVTSSSIRDNMVSTTMPGSSGITRIEIESMSSLTPGLR

[0951]

		ETRTSQDITSSTETSTVLYKMPSGATPEVSRTEVMPSSRTSIPGPA QSTMSLDISDEVVTRLSTSPIMTESAEITITTQTGYSLATSQVTLP LGTSMTFLSGTHSTMSQGLSHSEMTNLMSRGPESLSWTSPRFV ETTRSSSSLTSLPLTTSLSPVSSTLLDSSPSSPLPVTSLILPGLVKT TEVLDTSSEPKTSSSPNLSSTSVEIPATSEIMTDTEKIHPSSNTAVA KVRTSSSVHESHSSVLADSETTITIPSMGITSAVDDTTVFTSNPAF SETRRIPTEPTFSLTPGFRETSTSEETTSITETSAVLYGVPTSATTE VSMTEIMSSNRIHIPDSDQSTMSPDIITEVITRLSSSSMMSESTQ MTITTQKSSPGATAQSTLTLATTTAPLARTHSTVPPRFLHSEMTT LMSRSPENPSWKSSLFVEKTSSSSSLLSLPVTTSPSVSSTLPQSIP SSSFSVTSLLTPGMVKTTDTSTEPGTSLSPNLSGTSVEILAASEV TTDTEKIHPSSSMAVTNVGTTSSGHELYSSVSIHSEPSKATYPVG TPSSMAETSISTSMPANFETTGFEAEPFSHLTSGFRKTNMSLDTS SVTPTNTPSSPGSTHLLQSSKTDFTSSAKTSSPDWPPASQYTEIP VDIITPFNASPSITESTGITSFPESRFTMSVTESTHHLSTDLLPSAE TISTGTVMPSLSEAMTSFATTGVPRAISGSGSPFSRTESGPGDAT LSTIAESLPSSTPVPFSSSTFTTTDSSTIPALHEITSSSATPYRVDTS LGTESSTTEGRLVMVSTLDTSSQPGRTSSSPILDTRMTESVELGT VTSAYQVPSLSTRLTRTDGIMEHITKIPNEAAHRGTIRPVKGPQT STSPASPKGLHTGGTKRMETTTTALKTTTTALKTTSRATLTTSV YTPTLGTLTPLNASMQMASTIPTEMMITTPYVFPDVPETTSSLA TSLGAETSTALPRTTPSVFNRESETTASLVSRSGAERSPVIQTLD VSSSEPDTTASWVIHPAETIPTVSKTTPNFFHSELDTVSSTATSH GADVSSAIPTNISPSELDALTPLVTISGTDTSTTFPTLTKSPHETET RTTWLTHPAETSSTIPRTIPNFSHHESDATPSIATSPGAETSSAIPI MTVSPGAEDLVTSQVTSSGTDRNMTIPTLTLSPGEPKTIASLVT HPEAQTSSAIPTSTISPAVSRLVTSMVTSLAAKTSTTNRALTNSP GEPATTVSLVTHPAQTSPTVPWTTSIFFHSKSDTTPSMTTSHGAE SSSAVPTPTVSTEVPGVVTPLVTSSRAVISTTIPILTLSPGEPETTP SMATSHGEEASSAIPTPTVSPGVPGVVTSLVTSSRAVTSTTIPILT FSLGEPETTPSMATSHGTEAGSAVPTVLPEVPGMVTSLVASSRA VTSTTLPTLTLSPGEPETTPSMATSHGAEASSTVPTVSPEVPGVV TSLVTSSSGVNSTSIPTLILSPGELETTPSMATSHGAEASSAVPTP TVSPGVSGVVTPLVTSSRAVTSTTIPILTLSSSEPETTPSMATSHG VEASSAVLTVSPEVPGMVTSLVTSSRAVTSTTIPTLTISSDEPETT TSLVTHSEAKMISAIPTLAVSPTVQGLVTSLVTSSGSETSAFSNLT VASSQPETIDSWVAHPGTEASSVVPTLTVSTGEPFTNISLVTHPA ESSSTLPRTTSRFSHSELDTMPSTVTSPEAESSSAISTTISPGIPGV LTSLVTSSGRDISATFPTVPESPHESEATASWVTHPAVTSTTVPRT TPNYSHSEPDTTPSIATSPGAEATSDFPTITVSPDVPDMVTSQVT SSGTDTSITIPTLTLSSGEPETTTSFITYSETHTSSAIPTLPVSPGAS KMLTSLVISSGTDSTTTFPTLTETPYEPETTAIQLIHPAETNTMVP RTTPKFSHSKSDTTLPVAITSPGPEASSAVSTTTISPDMSDLVTSL VPSSGTDTSTTFPTLSETPYEPETTATWLTHPAETSTTVSGTIPNF SHRGSDTAPSMVTSPGVDTRSGVPTTTIPPSIPGVVTSQVTSSAT DTSTAIPTLTPSPGEPETTASSATHPGTQTGFTVPIRTVPSSEPDT MASWVTHPPQTSTPVSRTTSSFSHSSPDATPVMATSPRTEASSA VLTTISPGAPEMVTSQITSSGAATSTTVPTLTHSPGMPETTALLS THPRTETSKTFPASTVFPQVSETTASLTIRPGAETSTALPTQTTSS LFTLLVTGTSRVDLSPTASPGVSAKTAPLSTHPGTETSTMIPTST LSLGLLETTGLLATSSSAETSTSTLTLTVSPAVSGLSSASITTDKP

[0952]

		QTVTSWNTETSPSVTSVGPPEFSRTVTGTTMTLIPSEMPTPPKTS HGEGVSPTTILRTTMVEATNLATTGSSPTVAKTTTTFNTLAGSL FTPLTTPGMSTLASESVTSRTSYNHRSWISTTSSYNRRYWTPATS TPVTSTFSPGISTSSIPSSTAATVPFMVPFTLNFTITNLQYEEDMR HPGSRKFNATERELQGLLKPLFRNSSLEYLYSGCRLASLRPEKD SSATAVDAICTHRPDPEDLGLDRERLYWELSNLTNGIQELGPYT LDRNSLYVNGFTHRSSMPTTSTPGTSTVDVGTSGTPSSSPSPTT AGPLLMPFTLNFTITNLQYEEDMRRTGSRKFNTMESVLQGLLK PLFKNTSVGPLYSGCRLTLLRPEKDGAATGVDAICTHRLDPKSP GLNREQLYWELSKLTNDIEELGPYTLDRNSLYVNGFTHQSSVS TTSTPGTSTVDLRTSGTPSSLSSPTIMAAGPLLVPFTLNFTITNLQ YGEDMGHPGSRKFNTTERVLQGLLGPIFKNTSVGPLYSGCRLTS LRSEKDGAATGVDAICIHHLDPKSPGLNRERLYWELSQLTNGIK ELGPYTLDRNSLYVNGFTHRTSVPTSSTPGTSTVDLGTSGTPFS LPSPATAGPLLVLFTLNFTITNLKYEEDMHRPGSRKFNTTERVL QTLLGPMFKNTSVGLLYSGCRLTLLRSEKDGAATGVDAICTHR LDPKSPGVDREQLYWELSQLTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFT HWIPVPTSSTPGTSTVDLGSGTPSSLPSPTTAGPLLVPFTLNFTIT NLKYEEDMHCPGSRKFNTTERVLQSLLGPMFKNTSVGPLYSGC RLTLLRSEKDGAATGVDAICTHRLDPKSPGVDREQLYWELSQL TNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHQTSAPNTSTPGTSTVDLGTS GTPSSLPSPTSAGPLLVPFTLNFTITNLQYEEDMHHPGSRKFNTT ERVLQGLLGPMFKNTSVGLLYSGCRLTLLRPEKNGAATGMDAI CSHRLDPKSPGLNREQLYWELSQLTHGIKELGPYTLDRNSLYV NGFTHRSSVAPTSTPGTSTVDLGTSGTPSSLPSPTTAVPLLVPFTL NFTITNLQYGEDMRHPGSRKFNTTERVLQGLLGPLFKNSSVGP LYSGCRLISLRSEKDGAATGVDAICTHHLNPQSPGLDREQLYW QLSQMTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHRSSGLTTSTPWTST VDLGTSGTPSPVPSPTTTGPLLVPFTLNFTITNLQYEENMGHPG SRKFNITESVLQGLLKPLFKSTSVGPLYSGCRLTLLRPEKDGVAT RVDAICTHRPDPKIPGLDRQQLYWELSQLTHSITELGPYTLDRD SLYVNGFTQRSSVPTTSTPGTFTVQPETSETPSSLPGPTATGPVL LPFTLNFTITNLQYEEDMRRPGSRKFNTTERVLQGLLMPLFKNT SVSSLYSGCRLTLLRPEKDGAATRVDAVCTHRPDPKSPGLDRER LYWKLSQLTHGITELGPYTLDRHSLYVNGFTHQSSMTTTRTPD TSTMHLATSRTPASLSGPMTASPLLVLFTINFTITNLRYEENMHH PGSRKFNTTERVLQGLLRPVFKNTSVGPLYSGCRLTLLRPKKDG AATKVDAICTYRPDPKSPGLDREQLYWELSQLTHSITELGPYTL DRDSLYVNGFTQRSSVPTTSIPGTPTVDLGTSGTPVSKPGPSAA SPLLVLFTLNFTITNLRYEENMQHPGSRKFNTTERVLQGLLRSL FKSTSVGPLYSGCRLTLLRPEKDGTATGVDAICTHHPDPKSPRL DREQLYWELSQLTHNITELGPYALDNDSLFVNGFTHRSSVSTTS TPGTPTVYLGASKTPASIFGPSAASHLLILFTLNFTITNLRYEEN MWPGSRKFNTTERVLQGLLRPLFKNTSVGPLYSGCRLTLLRPE KDGEATGVDAICTHRPDPTGPGLDREQLYLELSQLTHSITELGP YTLDRDSLYVNGFTHRSSVPTTSTGVVSEEPFTLNFTINNLRYM ADMGQPGSLKFNITDNVMQHLLSPLFQRSSLGARYTGCRVIAL RSVKNGAETRVDLLCTYLQPLSGPGLPIKQVFHELSQQTHGITR LGPYSLDKDSLYLNGYNEPGPDEPPTTPKPATTFLPPLSEATTAM GYHLKTLTLNFTISNLQYSPDMGKGSATFNSTEGVLQHLLRPLF QKSSMGPFYLGCQLISLRPEKDGAATGVDTTCTYHPDPVGPGL

[0953]

		DIQQLYWELSQLTHGVTQLGFYVLDRDSLFINGYAPQNLSIRGE YQINFHIVNWNLSNPDPTSSEYITLLRDIQDKVTTLYKGSQLHD TFRFCLVTNLTMDSVLVTVKALFSSNLDPSLVEQVFLDKTLNAS FHWLGSTYQLVDIHVTEMESSVYQPTSSSSTQHFYLNFTITNLP YSQDKAQPGTTNYQRNKRNIEDALNQLFRNSSIKSYFSDCQVS TFRVPNRHHTGVDSLCNFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQ LQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLL GVITCLICGVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
137	不成熟的人MUC16核酸序列(NM_024690.2)	AGCGTTGCACAATTCCCCCAACCTCCATACATACGGCAGCTC TTCTAGACACAGGTTTTCCCAGGTCAAATGCGGGGACCCCA GCCATATCTCCCACCCTGAGAAATTTTGGAGTTTCAGGGAGC TCAGAAGCTCTGCAGAGGCCACCCTCTCTGAGGGGATTCTT CTTAGACCTCCATCCAGAGGCAAATGTTGACCTGTCCATGCT GAAACCCTCAGGCCTTCCTGGGTCATCTTCTCCCACCCGCTC CTTGATGACAGGGAGCAGGAGCACTAAAGCCACACCAGAAA TGGATTCAGGACTGACAGGAGCCACCTTGTCACCTAAGACA TCTACAGGTGCAATCGTGGTGACAGAACATACTCTGCCCTTT ACTTCCCCAGATAAGACCTTGGCCAGTCCTACATCTTCGGTT GTGGGAAGAACCACCCAGTCTTTGGGGGTGATGTCCTCTGC TCTCCCTGAGTCAACCTCTAGAGGAATGACACACTCCGAGC AAAGAACCAGCCCATCGCTGAGTCCCCAGGTCAATGGAACT CCCTCTAGGAACTACCCTGCTACAAGCATGGTTTCAGGATTG AGTTCCCCAAGGACCAGGACCAGTTCCACAGAAGGAAATTT TACCAAAGAAGCATCTACATACACACTCACTGTAGAGACCAC AAGTGGCCCAGTCACTGAGAAGTACACAGTCCCCACTGAGA CCTCAACAACTGAAGGTGACAGCACAGAGACCCCCTGGGA CACAAGATATATTCCTGTAAAAATCACATCTCCAATGAAAAC ATTTGCAGATTCAACTGCATCCAAGGAAAATGCCCCAGTGTC TATGACTCCAGCTGAGACCACAGTTACTGACTCACATACTCC AGGAAGGACAAACCCATCATTTGGGACACTTTATTCTTCCTT CCTTGACCTATCACCTAAAGGGACCCCAAATTCCAGAGGTGA AACAAGCCTGGAACTGATTCTATCAACCACTGGATATCCCTT CTCCTCTCCTGAACCTGGCTCTGCAGGACACAGCAGAATAA GTACCAGTGCGCCTTTGTCATCATCTGCTTCAGTTCTCGATAA TAAAATATCAGAGACCAGCATATTCTCAGGCCAGAGTCTCAC CTCCCCTCTGTCTCCTGGGGTGCCCGAGGCCAGAGCCAGCA CAATGCCCAACTCAGCTATCCCTTTTTCCATGACACTAAGCA ATGCAGAAACAAGTGCCGAAAGGGTCAGAAGCACAATTTCC TCTCTGGGGACTCCATCAATATCCACAAAGCAGACAGCAGA GACTATCCTTACCTTCCATGCCTTCGCTGAGACCATGGATATA CCCAGCACCCACATAGCCAAGACTTTGGCTTCAGAATGGTTG GGAAGTCCAGGTACCCTTGGTGGCACCAGCACTTCAGCGCT GACAACCACATCTCCATCTACCACTTTAGTCTCAGAGGAGAC CAACACCCATCACTCCACGAGTGGAAAGGAAACAGAAGGA ACTTTGAATACATCTATGACTCCACTTGAGACCTCTGCTCCTG GAGAAGAGTCCGAAATGACTGCCACCTTGGTCCCCACTCTA GGTTTTACAACTCTTGACAGCAAGATCAGAAGTCCATCTCAG GTCTCTTCATCCCACCCAACAAGAGAGCTCAGAACCACAGG CAGCACCTCTGGGAGGCAGAGTTCCAGCACAGCTGCCCACG GGAGCTCTGACATCCTGAGGGCAACCACTTCCAGCACCTCA

[0954]

		AAAGCATCATCATGGACCAGTGAAAGCACAGCTCAGCAATT TAGTGAACCCCAGCACACACAGTGGGTGGAGACAAGTCCTA GCATGAAAACAGAGAGACCCCCAGCATCAACCAGTGTGGCA GCCCCTATCACCACTTCTGTTCCCTCAGTGGTCTCTGGCTTC ACCACCCTGAAGACCAGCTCCACAAAAGGGATTTGGCTTGA AGAAACATCTGCAGACACACTCATCGGAGAATCCACAGCTG GCCCAACCACCCATCAGTTTGCTGTTCCCACTGGGATTTCAA TGACAGGAGGCAGCAGCACCAGGGGAAGCCAGGGCACAAC CCACCTACTCACCAGAGCCACAGCATCATCTGAGACATCCGC AGATTTGACTCTGGCCACGAACGGTGTCCCAGTCTCCGTGTC TCCAGCAGTGAGCAAGACGGCTGCTGGCTCAAGTCCTCCAG GAGGGACAAAGCCATCATATACAATGGTTTCTTCTGTCATCC CTGAGACATCATCTCTACAGTCCTCAGCTTTCAGGGAAGGAA CCAGCCTGGGACTGACTCCATTAAACACTAGACATCCCTTCT CTTCCCCTGAACCAGACTCTGCAGGACACACCAAGATAAGC ACCAGCATTCCTCTGTTGTCATCTGCTTCAGTTCTTGAGGATA AAGTGTCAGCGACCAGCACATTCTCACACCACAAAGCCACC TCATCTATTACCACAGGGACTCCTGAAATCTCAACAAAGACA AAGCCCAGCTCAGCCGTTCTTTCCTCCATGACCCTAAGCAAT GCAGCAACAAGTCCTGAAAGAGTCAGAAATGCAACTTCCCC TCTGACTCATCCATCTCCATCAGGGGAAGAGACAGCAGGGA GTGTCCTCACTCTCAGCACCTCTGCTGAGACTACAGACTCAC CTAACATCCACCCAACTGGGACACTGACTTCAGAATCGTCA GAGAGTCCTAGCACTCTCAGCCTCCCAAGTGTCTCTGGAGT CAAAACCACATTTTCTTCATCTACTCCTTCCACTCATCTATTT ACTAGTGGAGAAGAAACAGAGGAAACTTCGAATCCATCTGT GTCTCAACCTGAGACTTCTGTTTCCAGAGTAAGGACCACCTT GGCCAGCACCTCTGTCCCTACCCCAGTATTCCCCACCATGGA CACCTGGCCTACACGTTCAGCTCAGTTCTCTTCATCCCACCT AGTGAGTGAGCTCAGAGCTACGAGCAGTACCTCAGTTACAA ACTCAACTGGTTCAGCTCTTCCTAAAATATCTCACCTCACTG GGACGGCAACAATGTCACAGACCAATAGAGACACGTTTAAT GACTCTGCTGCACCCCAAAGCACAACTTGGCCAGAGACTAG TCCCAGATTCAAGACAGGGTTACCTTCAGCAACAACCACTG TTTCAACCTCTGCCACTTCTCTCTCTGCTACTGTAATGGTCTC TAAATTCACTTCTCCAGCAACTAGTTCCATGGAAGCAACTTC TATCAGGGAACCATCAACAACCATCCTCACAACAGAGACCA CGAATGGCCCAGGCTCTATGGCTGTGGCTTCTACCAACATCC CAATTGGAAAGGGCTACATTACTGAAGGAAGATTGGACACA AGCCATCTGCCCATTGGAACCACAGCTTCCTCTGAGACATCT ATGGATTTTACCATGGCCAAAGAAAGTGTCTCAATGTCAGTA TCTCCATCTCAGTCCATGGATGCTGCTGGCTCAAGCACTCCA GGAAGGACAAGCCAATTCGTTGACACATTTTCTGATGATGTC TATCATTTAACATCCAGAGAAATTACAATACCTAGAGATGGA ACAAGCTCAGCTCTGACTCCACAAATGACTGCAACTCACCC TCCATCTCCTGATCCTGGCTCTGCTAGAAGCACCTGGCTTGG CATCTTGTCCTCATCTCCTTCTTCTCCTACTCCCAAAGTCACA ATGAGCTCCACATTTTCAACTCAGAGAGTCACCACAAGCATG ATAATGGACACAGTTGAAACTAGTCGGTGGAACATGCCCAA CTTACCTTCCACGACTTCCTTGACACCAAGTAATATTCCAAC AAGTGGTGCCATAGGAAAAAGCACCCTGGTTCCCTTGGACA

[0955]

		CTCCATCTCCAGCCACATCATTGGAGGCATCAGAAGGGGGA CTTCCAACCCTCAGCACCTACCCTGAATCAACAAACACACC CAGCATCCACCTCGGAGCACACGCTAGTTCAGAAAGTCCAA GCACCATCAAACTTACCATGGCTTCAGTAGTAAAACCTGGCT CTTACACACCTCTCACCTTCCCCTCAATAGAGACCCACATTC ATGTATCAACAGCCAGAATGGCTTACTCTTCTGGGTCTTCAC CTGAGATGACAGCTCCTGGAGAGACTAACACTGGTAGTACC TGGGACCCCACCACCTACATCACCACTACGGATCCTAAGGAT ACAAGTTCAGCTCAGGTCTCTACACCCCACTCAGTGAGGAC ACTCAGAACCACAGAAAACCATCCAAAGACAGAGTCCGCC ACCCCAGCTGCTTACTCTGGAAGTCCTAAAATCTCAAGTTCA CCCAATCTCACCAGTCCGGCCACAAAAGCATGGACCATCAC AGACACAACTGAACACTCCACTCAATTACATTACACAAAATT GGCAGAAAAATCATCTGGATTTGAGACACAGTCAGCTCCAG GACCTGTCTCTGTAGTAATCCCTACCTCCCCTACCATTGGAAG CAGCACATTGGAACTAACTTCTGATGTCCCAGGGGAACCCCT GGTCCTTGCTCCCAGTGAGCAGACCACAATCACTCTCCCCAT GGCAACATGGCTGAGTACCAGTTTGACAGAGGAAATGGCTT CAACAGACCTTGATATTTCAAGTCCAAGTTCACCCATGAGTA CATTTGCTATTTTTCCACCTATGTCCACACCTTCTCATGAACT TTCAAAGTCAGAGGCAGATACCAGTGCCATTAGAAATACAGA TTCAACAACGTTGGATCAGCACCTAGGAATCAGGAGTTTGG GCAGAACTGGGGACTTAACAACTGTTCCTATCACCCCACTGA CAACCACGTGGACCAGTGTGATTGAACACTCAACACAAGCA CAGGACACCCTTTCTGCAACGATGAGTCCTACTCACGTGAC ACAGTCACTCAAAGATCAAACATCTATACCAGCCTCAGCATC CCCTTCCCATCTTACTGAAGTCTACCCTGAGCTCGGGACACA AGGGAGAAGCTCCTCTGAGGCAACCACTTTTTGGAAACCAT CTACAGACACACTGTCCAGAGAGATTGAGACTGGCCCAACA AACATTCAATCCACTCCACCCATGGACAACACAACAACAGG GAGCAGTAGTAGTGGAGTCACCCTGGGCATAGCCCACCTTC CCATAGGAACATCCTCCCCAGCTGAGACATCCACAAACATGG CACTGGAAAGAAGAAGTTCTACAGCCACTGTCTCTATGGCT GGGACAATGGGACTCCTTGTTACTAGTGCTCCAGGAAGAAG CATCAGCCAGTCATTAGGAAGAGTTTCCTCTGTCCTTTCTGA GTCAACTACTGAAGGAGTCACAGATTCTAGTAAGGGAAGCA GCCCAAGGCTGAACACACAGGGAAATACAGCTCTCTCCTCC TCTCTTGAACCCAGCTATGCTGAAGGAAGCCAGATGAGCAC AAGCATCCCTCTAACCTCATCTCCTACAACTCCTGATGTGGA ATTCATAGGGGGCAGCACATTTTGGACCAAGGAGGTCACCA CAGTTATGACCTCAGACATCTCCAAGTCTTCAGCAAGGACA GAGTCCAGCTCAGCTACCCTTATGTCCACAGCTTTGGGAAGC ACTGAAAATACAGGAAAAGAAAAACTCAGAACTGCCTCTAT GGATCTTCCATCTCCAACTCCATCAATGGAGGTGACACCATG GATTTCTCTCACTCTCAGTAATGCCCCCAATACCACAGATTCA CTTGACCTCAGCCATGGGGTGCACACCAGCTCTGCAGGGAC TTTGGCCACTGACAGGTCATTGAATACTGGTGTCACTAGAGC CTCCAGATTGGAAAACGGCTCTGATACCTCTTCTAAGTCCCT GTCTATGGGAAACAGCACTCACACTTCCATGACTTACACAGA GAAGAGTGAAGTGTCTTCTTCAATCCATCCCCGACCTGAGAC CTCAGCTCCTGGAGCAGAGACCACTTTGACTTCCACTCCTG

[0956]

		GAAACAGGGCCATAAGCTTAACATTGCCTTTTTCATCCATTCC AGTGGAAGAAGTCATTTCTACAGGCATAACCTCAGGACCAG ACATCAACTCAGCACCCATGACACATTCTCCCATCACCCCAC CAACAATTGTATGGACCAGTACAGGCACAATTGAACAGTCC ACTCAACCACTACATGCAGTTTCTTCAGAAAAAGTTTCTGTG CAGACACAGTCAACTCCATATGTCAACTCTGTGGCAGTGTCT GCTTCCCCTACCCATGAGAATTCAGTCTCTTCTGGAAGCAGC ACATCCTCTCCATATTCCTCAGCCTCACTTGAATCCTTGGATT CCACAATCAGTAGGAGGAATGCAATCACTTCCTGGCTATGGG ACCTCACTACATCTCTCCCCACTACAACTTGGCCAAGTACTA GTTTATCTGAGGCACTGTCCTCAGGCCATTCTGGGGTTTCAA ACCCAAGTTCAACTACGACTGAATTTCCACTCTTTTCAGCTG CATCCACATCTGCTGCTAAGCAAAGAAATCCAGAAACAGAG ACCCATGGTCCCCAGAATACAGCCGCGAGTACTTTGAACACT GATGCATCCTCGGTCACAGGTCTTTCTGAGACTCCTGTGGGG GCAAGTATCAGCTCTGAAGTCCCTCTTCCAATGGCCATAACT TCTAGATCAGATGTTTCTGGCCTTACATCTGAGAGTACTGCTA ACCCGAGTTTAGGCACAGCCTCTTCAGCAGGGACCAAATTA ACTAGGACAATATCCCTGCCCACTTCAGAGTCTTTGGTTTCC TTTAGAATGAACAAGGATCCATGGACAGTGTCAATCCCTTTG GGGTCCCATCCAACTACTAATACAGAAACAAGCATCCCAGTA AACAGCGCAGGTCCACCTGGCTTGTCCACAGTAGCATCAGA TGTAATTGACACACCTTCAGATGGGGCTGAGAGTATTCCCAC TGTCTCCTTTTCCCCCTCCCCTGATACTGAAGTGACAACTATC TCACATTTCCCAGAAAAGACAACTCATTCATTTAGAACCATT TCATCTCTCACTCATGAGTTGACTTCAAGAGTGACACCTATT CCTGGGGATTGGATGAGTTCAGCTATGTCTACAAAGCCCACA GGAGCCAGTCCCTCCATTACACTGGGAGAGAGAAGGACAAT CACCTCTGCTGCTCCAACCACTTCCCCCATAGTTCTCACTGCT AGTTTCACAGAGACCAGCACAGTTTCACTGGATAATGAAACT ACAGTAAAAACCTCAGATATCCTTGACGCACGGAAAACAAA TGAGCTCCCCTCAGATAGCAGTTCTTCTTCTGATCTGATCAA CACCTCCATAGCTTCTTCAACTATGGATGTCACTAAAACAGC CTCCATCAGTCCCACTAGCATCTCAGGAATGACAGCAAGTTC CTCCCCATCTCTCTTCTCTTCAGATAGACCCCAGGTTCCCACA TCTACAACAGAGACAAATACAGCCACCTCTCCATCTGTTTCC AGTAACACCTATTCTCTTGATGGGGGCTCCAATGTGGGTGGC ACTCCATCCACTTTACCACCCTTTACAATCACCCACCCTGTCG AGACAAGCTCGGCCCTATTAGCCTGGTCTAGACCAGTAAGA ACTTTCAGCACCATGGTCAGCACTGACACTGCCTCCGGAGA AAATCCTACCTCTAGCAATTCTGTGGTGACTTCTGTTCCAGC ACCAGGTACATGGACCAGTGTAGGCAGTACTACTGACTTACC TGCCATGGGCTTTCTCAAGACAAGTCCTGCAGGAGAGGCAC ACTCACTTCTAGCATCAACTATTGAACCAGCCACTGCCTTCA CTCCCCATCTCTCAGCAGCAGTGGTCACTGGATCCAGTGCTA CATCAGAAGCCAGTCTTCTCACTACGAGTGAAAGCAAAGCC ATTCATTCTTCACCACAGACCCCAACTACACCCACCTCTGGA GCAAACTGGGAAACTTCAGCTACTCCTGAGAGCCTTTTGGT AGTCACTGAGACTTCAGACACAACACTTACCTCAAAGATTTT GGTCACAGATACCATCTTGTTTTCAACTGTGTCCACGCCACC TTCTAAATTTCCAAGTACGGGGACTCTGTCTGGAGCTTCCTT

[0957]

		CCCTACTTTACTCCCGGACACTCCAGCCATCCCTCTCACTGC CACTGAGCCAACAAGTTCATTAGCTACATCCTTTGATTCCAC CCCACTGGTGACTATAGCTTCGGATAGTCTTGGCACAGTCCC AGAGACTACCCTGACCATGTCAGAGACCTCAAATGGTGATG CACTGGTTCTTAAGACAGTAAGTAACCCAGATAGGAGCATCC CTGGAATCACTATCCAAGGAGTAACAGAAAGTCCACTCCATC CTTCTTCCACTTCCCCCTCTAAGATTGTTGCTCCACGGAATAC AACCTATGAAGGTTCGATCACAGTGGCACTTTCTACTTTGCC TGCGGGAACTACTGGTTCCCTTGTATTCAGTCAGAGTTCTGA AAACTCAGAGACAACGGCTTTGGTAGACTCATCAGCTGGGC TTGAGAGGGCATCTGTGATGCCACTAACCACAGGAAGCCAG GGTATGGCTAGCTCTGGAGGAATCAGAAGTGGGTCCACTCA CTCAACTGGAACCAAAACATTTTCTTCTCTCCCTCTGACCAT GAACCCAGGTGAGGTTACAGCCATGTCTGAAATCACCACGA ACAGACTGACAGCTACTCAATCAACAGCACCCAAAGGGATA CCTGTGAAGCCCACCAGTGCTGAGTCAGGCCTCCTAACACC TGTCTCTGCCTCCTCAAGCCCATCAAAGGCCTTTGCCTCACT GACTACAGCTCCCCCAACTTGGGGGATCCCACAGTCTACCTT GACATTTGAGTTTTCTGAGGTCCCAAGTTTGGATACTAAGTC CGCTTCTTTACCAACTCCTGGACAGTCCCTGAACACCATTCC AGACTCAGATGCAAGCACAGCATCTTCCTCACTGTCCAAGTC TCCAGAAAAAAACCCAAGGGCAAGGATGATGACTTCCACAA AGGCCATAAGTGCAAGCTCATTTCAATCAACAGGTTTTACTG AAACCCCTGAGGGATCTGCCTCCCCTTCTATGGCAGGGCATG AACCCAGAGTCCCCACTTCAGGAACAGGGGACCCTAGATAT GCCTCAGAGAGCATGTCTTATCCAGACCCAAGCAAGGCATCA TCAGCTATGACATCGACCTCTCTTGCATCAAAACTCACAACT CTCTTCAGCACAGGTCAAGCAGCAAGGTCTGGTTCTAGTTC CTCTCCCATAAGCCTATCCACTGAGAAAGAAACAAGCTTCCT TTCCCCCACTGCATCCACCTCCAGAAAGACTTCACTATTTCT TGGGCCTTCCATGGCAAGGCAGCCCAACATATTGGTGCATCT TCAGACTTCAGCTCTGACACTTTCTCCAACATCCACTCTAAA TATGTCCCAGGAGGAGCCTCCTGAGTTAACCTCAAGCCAGA CCATTGCAGAAGAAGAGGGAACAACAGCTGAAACACAGAC GTTAACCTTCACACCATCTGAGACCCCAACATCCTTGTTACC TGTCTCTTCTCCCACAGAACCCACAGCCAGAAGAAAGAGTT CTCCAGAAACATGGGCAAGCTCTATTTCAGTTCCTGCCAAGA CCTCCTTGGTTGAAACAACTGATGGAACGCTAGTGACCACC ATAAAGATGTCAAGCCAGGCAGCACAAGGAAATTCCACGTG GCCTGCCCCAGCAGAGGAGACGGGGAGCAGTCCAGCAGGC ACATCCCCAGGAAGCCCAGAAATGTCTACCACTCTCAAAATC ATGAGCTCCAAGGAACCCAGCATCAGCCCAGAGATCAGGTC CACTGTGAGAAATTCTCCTTGGAAGACTCCAGAAACAACTG TTCCCATGGAGACCACAGTGGAACCAGTCACCCTTCAGTCC ACAGCCCTAGGAAGTGGCAGCACCAGCATCTCTCACCTGCC CACAGGAACCACATCACCAACCAAGTCACCAACAGAAAATA TGTTGGCTACAGAAAGGGTCTCCCTCTCCCCATCCCCACCTG AGGCTTGGACCAACCTTTATTCTGGAACTCCAGGAGGGACC AGGCAGTCACTGGCCACAATGTCCTCTGTCTCCCTAGAGTCA CCAACTGCTAGAAGCATCACAGGGACTGGTCAGCAAAGCAG TCCAGAACTGGTTTCAAAGACAACTGGAATGGAATTCTCTAT

[0958]

		GTGGCATGGCTCTACTGGAGGGACCACAGGGGACACACATG TCTCTCTGAGCACATCTTCCAATATCCTTGAAGACCCTGTAAC CAGCCCAAACTCTGTGAGCTCATTGACAGATAAATCCAAACA TAAAACCGAGACATGGGTAAGCACCACAGCCATTCCCTCCA CTGTCCTGAATAATAAGATAATGGCAGCTGAACAACAGACAA GTCGATCTGTGGATGAGGCTTATTCATCAACTAGTTCTTGGTC AGATCAGACATCTGGGAGTGACATCACCCTTGGTGCATCTCC TGATGTCACAAACACATTATACATCACCTCCACAGCACAAAC CACCTCACTAGTGTCTCTGCCCTCTGGAGACCAAGGCATTAC AAGCCTCACCAATCCCTCAGGAGGAAAAACAAGCTCTGCGT CATCTGTCACATCTCCTTCAATAGGGCTTGAGACTCTGAGGG CCAATGTAAGTGCAGTGAAAAGTGACATTGCCCCTACTGCTG GGCATCTATCTCAGACTTCATCTCCTGCGGAAGTGAGCATCC TGGACGTAACCACAGCTCCTACTCCAGGTATCTCCACCACCA TCACCACCATGGGAACCAACTCAATCTCAACTACCACACCC AACCCAGAAGTGGGTATGAGTACCATGGACAGCACCCCGGC CACAGAGAGGCGCACAACTTCTACAGAACACCCTTCCACCT GGTCTTCCACAGCTGCATCAGATTCCTGGACTGTCACAGACA TGACTTCAAACTTGAAAGTTGCAAGATCTCCTGGAACAATTT CCACAATGCATACAACTTCATTCTTAGCCTCAAGCACTGAATT AGACTCCATGTCTACTCCCCATGGCCGTATAACTGTCATTGGA ACCAGCCTGGTCACTCCATCCTCTGATGCTTCAGCTGTAAAG ACAGAGACCAGTACAAGTGAAAGAACATTGAGTCCTTCAGA CACAACTGCATCTACTCCCATCTCAACTTTTTCTCGTGTCCAG AGGATGAGCATCTCAGTTCCTGACATTTTAAGTACAAGTTGG ACTCCCAGTAGTACAGAAGCAGAAGATGTGCCTGTTTCAATG GTTTCTACAGATCATGCTAGTACAAAGACTGACCCAAATACG CCCCTGTCCACTTTTCTGTTTGATTCTCTGTCCACTCTTGACT GGGACACTGGGAGATCTCTGTCATCAGCCACAGCCACTACC TCAGCTCCTCAGGGGGCCACAACTCCCCAGGAACTCACTTT GGAAACCATGATCAGCCCAGCTACCTCACAGTTGCCCTTCTC TATAGGGCACATTACAAGTGCAGTCACACCAGCTGCAATGGC AAGGAGCTCTGGAGTTACTTTTTCAAGACCAGATCCCACAA GCAAAAAGGCAGAGCAGACTTCCACTCAGCTTCCCACCACC ACTTCTGCACATCCAGGGCAGGTGCCCAGATCAGCAGCAAC AACTCTGGATGTGATCCCACACACAGCAAAAACTCCAGATG CAACTTTTCAGAGACAAGGGCAGACAGCTCTTACAACAGAG GCAAGAGCTACATCTGACTCCTGGAATGAGAAAGAAAAATC AACCCCAAGTGCACCTTGGATCACTGAGATGATGAATTCTGT CTCAGAAGATACCATCAAGGAGGTTACCAGCTCCTCCAGTGT ATTAAGGACCCTGAATACGCTGGACATAAACTTGGAATCTGG GACGACTTCATCCCCAAGTTGGAAAAGCAGCCCATATGAGA GAATTGCCCCTTCTGAGTCCACCACAGACAAAGAGGCAATT CACCCTTCTACAAACACAGTAGAGACCACAGGCTGGGTCAC AAGTTCCGAACATGCTTCTCATTCCACTATCCCAGCCCACTC AGCGTCATCCAAACTCACATCTCCAGTGGTTACAACCTCCAC CAGGGAACAAGCAATAGTTTCTATGTCAACAACCACATGGCC AGAGTCTACAAGGGCTAGAACAGAGCCTAATTCCTTCTTGAC TATTGAACTGAGGGACGTCAGCCCTTACATGGACACCAGCTC AACCACACAAACAAGTATTATCTCTTCCCCAGGTTCCACTGC GATCACCAAGGGGCCTAGAACAGAAATTACCTCCTCTAAGA

[0959]

		GAATATCCAGCTCATTCCTTGCCCAGTCTATGAGGTCGTCAG ACAGCCCCTCAGAAGCCATCACCAGGCTGTCTAACTTTCCTG CCATGACAGAATCTGGAGGAATGATCCTTGCTATGCAAACAA GTCCACCTGGCGCTACATCACTAAGTGCACCTACTTTGGATA CATCAGCCACAGCCTCCTGGACAGGGACTCCACTGGCTACG ACTCAGAGATTTACATACTCAGAGAAGACCACTCTCTTTAGC AAAGGTCCTGAGGATACATCACAGCCAAGCCCTCCCTCTGT GGAAGAAACCAGCTCTTCCTCTTCCCTGGTACCTATCCATGC TACAACCTCGCCTTCCAATATTTTGTTGACATCACAAGGGCA CAGTCCCTCCTCTACTCCACCTGTGACCTCAGTTTTCTTGTCT GAGACCTCTGGCCTGGGGAAGACCACAGACATGTCGAGGAT AAGCTTGGAACCTGGCACAAGTTTACCTCCCAATTTGAGCA GTACAGCAGGTGAGGCGTTATCCACTTATGAAGCCTCCAGAG ATACAAAGGCAATTCATCATTCTGCAGACACAGCAGTGACG AATATGGAGGCAACCAGTTCTGAATATTCTCCTATCCCAGGC CATACAAAGCCATCCAAAGCCACATCTCCATTGGTTACCTCC CACATCATGGGGGACATCACTTCTTCCACATCAGTATTTGGCT CCTCCGAGACCACAGAGATTGAGACAGTGTCCTCTGTGAAC CAGGGACTTCAGGAGAGAAGCACATCCCAGGTGGCCAGCTC TGCTACAGAGACAAGCACTGTCATTACCCATGTGTCTAGTGG TGATGCTACTACTCATGTCACCAAGACACAAGCCACTTTCTC TAGCGGAACATCCATCTCAAGCCCTCATCAGTTTATAACTTCT ACCAACACATTTACAGATGTGAGCACCAACCCCTCCACCTCT CTGATAATGACAGAATCTTCAGGAGTGACCATCACCACCCAA ACAGGTCCTACTGGAGCTGCAACACAGGGTCCATATCTCTTG GACACATCAACCATGCCTTACTTGACAGAGACTCCATTAGCT GTGACTCCAGATTTTATGCAATCAGAGAAGACCACTCTCATA AGCAAAGGTCCCAAGGATGTGTCCTGGACAAGCCCTCCCTC TGTGGCAGAAACCAGCTATCCCTCTTCCCTGACACCTTTCTT GGTCACAACCATACCTCCTGCCACTTCCACGTTACAAGGGCA ACATACATCCTCTCCTGTTTCTGCGACTTCAGTTCTTACCTCT GGACTGGTGAAGACCACAGATATGTTGAACACAAGCATGGA ACCTGTGACCAATTCACCTCAAAATTTGAACAATCCATCAAA TGAGATACTGGCCACTTTGGCAGCCACCACAGATATAGAGAC TATTCATCCTTCCATAAACAAAGCAGTGACCAATATGGGGAC TGCCAGTTCAGCACATGTACTGCATTCCACTCTCCCAGTCAG CTCAGAACCATCTACAGCCACATCTCCAATGGTTCCTGCCTC CAGCATGGGGGACGCTCTTGCTTCTATATCAATACCTGGTTCT GAGACCACAGACATTGAGGGAGAGCCAACATCCTCCCTGAC TGCTGGACGAAAAGAGAACAGCACCCTCCAGGAGATGAAC TCAACTACAGAGTCAAACATCATCCTCTCCAATGTGTCTGTG GGGGCTATTACTGAAGCCACAAAAATGGAAGTCCCCTCTTTT GATGCAACATTCATACCAACTCCTGCTCAGTCAACAAAGTTC CCAGATATTTTCTCAGTAGCCAGCAGTAGACTTTCAAACTCT CCTCCCATGACAATATCTACCCACATGACCACCACCCAGACA GGGTCTTCTGGAGCTACATCAAAGATTCCACTTGCCTTAGAC ACATCAACCTTGGAAACCTCAGCAGGGACTCCATCAGTGGT GACTGAGGGGTTTGCCCACTCAAAAATAACCACTGCAATGA ACAATGATGTCAAGGACGTGTCACAGACAAACCCTCCCTTT CAGGATGAAGCCAGCTCTCCCTCTTCTCAAGCACCTGTCCTT GTCACAACCTTACCTTCTTCTGTTGCTTTCACACCGCAATGG

[0960]

		CACAGTACCTCCTCTCCTGTTTCTATGTCCTCAGTTCTTACTT CTTCACTGGTAAAGACCGCAGGCAAGGTGGATACAAGCTTA GAAACAGTGACCAGTTCACCTCAAAGTATGAGCAACACTTT GGATGACATATCGGTCACTTCAGCAGCCACCACAGATATAGA GACAACGCATCCTTCCATAAACACAGTAGTTACCAATGTGGG GACCACCGGTTCAGCATTTGAATCACATTCTACTGTCTCAGC TTACCCAGAGCCATCTAAAGTCACATCTCCAAATGTTACCAC CTCCACCATGGAAGACACCACAATTTCCAGATCAATACCTAA ATCCTCTAAGACTACAAGAACTGAGACTGAGACAACTTCCT CCCTGACTCCTAAACTGAGGGAGACCAGCATCTCCCAGGAG ATCACCTCGTCCACAGAGACAAGCACTGTTCCTTACAAAGA GCTCACTGGTGCCACTACCGAGGTATCCAGGACAGATGTCAC TTCCTCTAGCAGTACATCCTTCCCTGGCCCTGATCAGTCCAC AGTGTCACTAGACATCTCCACAGAAACCAACACCAGGCTGT CTACCTCCCCAATAATGACAGAATCTGCAGAAATAACCATCA CCACCCAAACAGGTCCTCATGGGGCTACATCACAGGATACTT TTACCATGGACCCATCAAATACAACCCCCCAGGCAGGGATCC ACTCAGCTATGACTCATGGATTTTCACAATTGGATGTGACCA CTCTTATGAGCAGAATTCCACAGGATGTATCATGGACAAGTC CTCCCTCTGTGGATAAAACCAGCTCCCCCTCTTCCTTTCTGTC CTCACCTGCAATGACCACACCTTCCCTGATTTCTTCTACCTTA CCAGAGGATAAGCTCTCCTCTCCTATGACTTCACTTCTCACCT CTGGCCTAGTGAAGATTACAGACATATTACGTACACGCTTGG AACCTGTGACCAGCTCACTTCCAAATTTCAGCAGCACCTCA GATAAGATACTGGCCACTTCTAAAGACAGTAAAGACACAAA GGAAATTTTTCCTTCTATAAACACAGAAGAGACCAATGTGAA AGCCAACAACTCTGGACATGAATCCCATTCCCCTGCACTGGC TGACTCAGAGACACCCAAAGCCACAACTCAAATGGTTATCA CCACCACTGTGGGAGATCCAGCTCCTTCCACATCAATGCCAG TGCATGGTTCCTCTGAGACTACAAACATTAAGAGAGAGCCA ACATATTTCTTGACTCCTAGACTGAGAGAGACCAGTACCTCT CAGGAGTCCAGCTTTCCCACGGACACAAGTTTTCTACTTTCC AAAGTCCCCACTGGTACTATTACTGAGGTCTCCAGTACAGGG GTCAACTCTTCTAGCAAAATTTCCACCCCAGACCATGATAAG TCCACAGTGCCACCTGACACCTTCACAGGAGAGATCCCCAG GGTCTTCACCTCCTCTATTAAGACAAAATCTGCAGAAATGAC GATCACCACCCAAGCAAGTCCTCCTGAGTCTGCATCGCACA GTACCCTTCCCTTGGACACATCAACCACACTTTCCCAGGGAG GGACTCATTCAACTGTGACTCAGGGATTCCCATACTCAGAGG TGACCACTCTCATGGGCATGGGTCCTGGGAATGTGTCATGGA TGACAACTCCCCCTGTGGAAGAAACCAGCTCTGTGTCTTCC CTGATGTCTTCACCTGCCATGACATCCCCTTCTCCTGTTTCCT CCACATCACCACAGAGCATCCCCTCCTCTCCTCTTCCTGTGA CTGCACTTCCTACTTCTGTTCTGGTGACAACCACAGATGTGT TGGGCACAACAAGCCCAGAGTCTGTAACCAGTTCACCTCCA AATTTGAGCAGCATCACTCATGAGAGACCGGCCACTTACAA AGACACTGCACACACAGAAGCCGCCATGCATCATTCCACAA ACACCGCAGTGACCAATGTAGGGACTTCCGGGTCTGGACAT AAATCACAATCCTCTGTCCTAGCTGACTCAGAGACATCGAAA GCCACACCTCTGATGAGTACCACCTCCACCCTGGGGGACAC AAGTGTTTCCACATCAACTCCTAATATCTCTCAGACTAACCA

[0961]

		AATTCAAACAGAGCCAACAGCATCCCTGAGCCCTAGACTGA GGGAGAGCAGCACGTCTGAGAAGACCAGCTCAACAACAGA GACAAATACTGCCTTTTCTTATGTGCCCACAGGTGCTATTACT CAGGCCTCCAGAACAGAAATCTCCTCTAGCAGAACATCCATC TCAGACCTTGATCGGCCCACAATAGCACCCGACATCTCCACA GGAATGATCACCAGGCTCTTCACCTCCCCCATCATGACAAAA TCTGCAGAAATGACCGTCACCACTCAAACAACTACTCCTGG GGCTACATCACAGGGTATCCTTCCCTGGGACACATCAACCAC ACTTTTCCAGGGAGGGACTCATTCAACCGTGTCTCAGGGATT CCCACACTCAGAGATAACCACTCTTCGGAGCAGAACCCCTG GAGATGTGTCATGGATGACAACTCCCCCTGTGGAAGAAACC AGCTCTGGGTTTTCCCTGATGTCACCTTCCATGACATCCCCTT CTCCTGTTTCCTCCACATCACCAGAGAGCATCCCCTCCTCTC CTCTCCCTGTGACTGCACTTCTTACTTCTGTTCTGGTGACAA CCACAAATGTATTGGGCACAACAAGCCCAGAGCCCGTAACG AGTTCACCTCCAAATTTAAGCAGCCCCACACAGGAGAGACT GACCACTTACAAAGACACTGCGCACACAGAAGCCATGCATG CTTCCATGCATACAAACACTGCAGTGGCCAACGTGGGGACC TCCATTTCTGGACATGAATCACAATCTTCTGTCCCAGCTGATT CACACACATCCAAAGCCACATCTCCAATGGGTATCACCTTCG CCATGGGGGATACAAGTGTTTCTACATCAACTCCTGCCTTCTT TGAGACTAGAATTCAGACTGAATCAACATCCTCTTTGATTCC TGGATTAAGGGACACCAGGACGTCTGAGGAGATCAACACTG TGACAGAGACCAGCACTGTCCTTTCAGAAGTGCCCACTACT ACTACTACTGAGGTCTCCAGGACAGAAGTTATCACTTCCAGC AGAACAACCATCTCAGGGCCTGATCATTCCAAAATGTCACCC TACATCTCCACAGAAACCATCACCAGGCTCTCCACTTTTCCT TTTGTAACAGGATCCACAGAAATGGCCATCACCAACCAAAC AGGTCCTATAGGGACTATCTCACAGGCTACCCTTACCCTGGA CACATCAAGCACAGCTTCCTGGGAAGGGACTCACTCACCTG TGACTCAGAGATTTCCACACTCAGAGGAGACCACTACTATGA GCAGAAGTACTAAGGGCGTGTCATGGCAAAGCCCTCCCTCT GTGGAAGAAACCAGTTCTCCTTCTTCCCCAGTGCCTTTACCT GCAATAACCTCACATTCATCTCTTTATTCCGCAGTATCAGGAA GTAGCCCCACTTCTGCTCTCCCTGTGACTTCCCTTCTCACCTC TGGCAGGAGGAAGACCATAGACATGTTGGACACACACTCAG AACTTGTGACCAGCTCCTTACCAAGTGCAAGTAGCTTCTCAG GTGAGATACTCACTTCTGAAGCCTCCACAAATACAGAGACAA TTCACTTTTCAGAGAACACAGCAGAAACCAATATGGGGACC ACCAATTCTATGCATAAACTACATTCCTCTGTCTCAATCCACT CCCAGCCATCCGGACACACACCTCCAAAGGTTACTGGATCTA TGATGGAGGACGCTATTGTTTCCACATCAACACCTGGTTCTC CTGAGACTAAAAATGTTGACAGAGACTCAACATCCCCTCTG ACTCCTGAACTGAAAGAGGACAGCACCGCCCTGGTGATGAA CTCAACTACAGAGTCAAACACTGTTTTCTCCAGTGTGTCCCT GGATGCTGCTACTGAGGTCTCCAGGGCAGAAGTCACCTACTA TGATCCTACATTCATGCCAGCTTCTGCTCAGTCAACAAAGTC CCCAGACATTTCACCTGAAGCCAGCAGCAGTCATTCTAACTC TCCTCCCTTGACAATATCTACACACAAGACCATCGCCACACA AACAGGTCCTTCTGGGGTGACATCTCTTGGCCAACTGACCCT GGACACATCAACCATAGCCACCTCAGCAGGAACTCCATCAG

[0962]

		CCAGAACTCAGGATTTTGTAGATTCAGAAACAACCAGTGTCA TGAACAATGATCTCAATGATGTGTTGAAGACAAGCCCTTTCT CTGCAGAAGAAGCCAACTCTCTCTCTTCTCAGGCACCTCTCC TTGTGACAACCTCACCTTCTCCTGTAACTTCCACATTGCAAG AGCACAGTACCTCCTCTCTTGTTTCTGTGACCTCAGTACCCA CCCCTACACTGGCGAAGATCACAGACATGGACACAAACTTA GAACCTGTGACTCGTTCACCTCAAAATTTAAGGAACACCTTG GCCACTTCAGAAGCCACCACAGATACACACACAATGCATCC TTCTATAAACACAGCAGTGGCCAATGTGGGGACCACCAGTTC ACCAAATGAATTCTATTTTACTGTCTCACCTGACTCAGACCCA TATAAAGCCACATCCGCAGTAGTTATCACTTCCACCTCGGGG GACTCAATAGTTTCCACATCAATGCCTAGATCCTCTGCGATGA AAAAGATTGAGTCTGAGACAACTTTCTCCCTGATATTTAGAC TGAGGGAGACTAGCACCTCCCAGAAAATTGGCTCATCCTCA GACACAAGCACGGTCTTTGACAAAGCATTCACTGCTGCTACT ACTGAGGTCTCCAGAACAGAACTCACCTCCTCTAGCAGAAC ATCCATCCAAGGCACTGAAAAGCCCACAATGTCACCGGACA CCTCCACAAGATCTGTCACCATGCTTTCTACTTTTGCTGGCCT GACAAAATCCGAAGAAAGGACCATTGCCACCCAAACAGGTC CTCATAGGGCGACATCACAGGGTACCCTTACCTGGGACACAT CAATCACAACCTCACAGGCAGGGACCCACTCAGCTATGACT CATGGATTTTCACAATTAGATTTGTCCACTCTTACGAGTAGAG TTCCTGAGTACATATCAGGGACAAGCCCACCCTCTGTGGAAA AAACCAGCTCTTCCTCTTCCCTTCTGTCTTTACCAGCAATAAC CTCACCGTCCCCTGTACCTACTACATTACCAGAAAGTAGGCC GTCTTCTCCTGTTCATCTGACTTCACTCCCCACCTCTGGCCTA GTGAAGACCACAGATATGCTGGCATCTGTGGCCAGTTTACCT CCAAACTTGGGCAGCACCTCACATAAGATACCGACTACTTCA GAAGACATTAAAGATACAGAGAAAATGTATCCTTCCACAAAC ATAGCAGTAACCAATGTGGGGACCACCACTTCTGAAAAGGA ATCTTATTCGTCTGTCCCAGCCTACTCAGAACCACCCAAAGT CACCTCTCCAATGGTTACCTCTTTCAACATAAGGGACACCAT TGTTTCCACATCCATGCCTGGCTCCTCTGAGATTACAAGGATT GAGATGGAGTCAACATTCTCCCTGGCTCATGGGCTGAAGGG AACCAGCACCTCCCAGGACCCCATCGTATCCACAGAGAAAA GTGCTGTCCTTCACAAGTTGACCACTGGTGCTACTGAGACCT CTAGGACAGAAGTTGCCTCTTCTAGAAGAACATCCATTCCAG GCCCTGATCATTCCACAGAGTCACCAGACATCTCCACTGAAG TGATCCCCAGCCTGCCTATCTCCCTTGGCATTACAGAATCTTC AAATATGACCATCATCACTCGAACAGGTCCTCCTCTTGGCTCT ACATCACAGGGCACATTTACCTTGGACACACCAACTACATCC TCCAGGGCAGGAACACACTCGATGGCGACTCAGGAATTTCC ACACTCAGAAATGACCACTGTCATGAACAAGGACCCTGAGA TTCTATCATGGACAATCCCTCCTTCTATAGAGAAAACCAGCTT CTCCTCTTCCCTGATGCCTTCACCAGCCATGACTTCACCTCCT GTTTCCTCAACATTACCAAAGACCATTCACACCACTCCTTCT CCTATGACCTCACTGCTCACCCCTAGCCTAGTGATGACCACA GACACATTGGGCACAAGCCCAGAACCTACAACCAGTTCACC TCCAAATTTGAGCAGTACCTCACATGAGATACTGACAACAGA TGAAGACACCACAGCTATAGAAGCCATGCATCCTTCCACAAG CACAGCAGCGACTAATGTGGAAACCACCAGTTCTGGACATG

[0963]

		GGTCACAATCCTCTGTCCTAGCTGACTCAGAAAAAACCAAG GCCACAGCTCCAATGGATACCACCTCCACCATGGGGCATACA ACTGTTTCCACATCAATGTCTGTTTCCTCTGAGACTACAAAA ATTAAGAGAGAGTCAACATATTCCTTGACTCCTGGACTGAGA GAGACCAGCATTTCCCAAAATGCCAGCTTTTCCACTGACACA AGTATTGTTCTTTCAGAAGTCCCCACTGGTACTACTGCTGAG GTCTCCAGGACAGAAGTCACCTCCTCTGGTAGAACATCCATC CCTGGCCCTTCTCAGTCCACAGTTTTGCCAGAAATATCCACA AGAACAATGACAAGGCTCTTTGCCTCGCCCACCATGACAGA ATCAGCAGAAATGACCATCCCCACTCAAACAGGTCCTTCTGG GTCTACCTCACAGGATACCCTTACCTTGGACACATCCACCAC AAAGTCCCAGGCAAAGACTCATTCAACTTTGACTCAGAGAT TTCCACACTCAGAGATGACCACTCTCATGAGCAGAGGTCCT GGAGATATGTCATGGCAAAGCTCTCCCTCTCTGGAAAATCCC AGCTCTCTCCCTTCCCTGCTGTCTTTACCTGCCACAACCTCA CCTCCTCCCATTTCCTCCACATTACCAGTGACTATCTCCTCCT CTCCTCTTCCTGTGACTTCACTTCTCACCTCTAGCCCGGTAAC GACCACAGACATGTTACACACAAGCCCAGAACTTGTAACCA GTTCACCTCCAAAGCTGAGCCACACTTCAGATGAGAGACTG ACCACTGGCAAGGACACCACAAATACAGAAGCTGTGCATCC TTCCACAAACACAGCAGCGTCCAATGTGGAGATTCCCAGCT CTGGACATGAATCCCCTTCCTCTGCCTTAGCTGACTCAGAGA CATCCAAAGCCACATCACCAATGTTTATTACCTCCACCCAGG AGGATACAACTGTTGCCATATCAACCCCTCACTTCTTGGAGA CTAGCAGAATTCAGAAAGAGTCAATTTCCTCCCTGAGCCCTA AATTGAGGGAGACAGGCAGTTCTGTGGAGACAAGCTCAGCC ATAGAGACAAGTGCTGTCCTTTCTGAAGTGTCCATTGGTGCT ACTACTGAGATCTCCAGGACAGAAGTCACCTCCTCTAGCAG AACATCCATCTCTGGTTCTGCTGAGTCCACAATGTTGCCAGA AATATCCACCACAAGAAAAATCATTAAGTTCCCTACTTCCCC CATCCTGGCAGAATCATCAGAAATGACCATCAAGACCCAAA CAAGTCCTCCTGGGTCTACATCAGAGAGTACCTTTACATTAG ACACATCAACCACTCCCTCCTTGGTAATAACCCATTCGACTAT GACTCAGAGATTGCCACACTCAGAGATAACCACTCTTGTGA GTAGAGGTGCTGGGGATGTGCCACGGCCCAGCTCTCTCCCT GTGGAAGAAACAAGCCCTCCATCTTCCCAGCTGTCTTTATCT GCCATGATCTCACCTTCTCCTGTTTCTTCCACATTACCAGCAA GTAGCCACTCCTCTTCTGCTTCTGTGACTTCACTTCTCACAC CAGGCCAAGTGAAGACTACTGAGGTGTTGGACGCAAGTGCA GAACCTGAAACCAGTTCACCTCCAAGTTTGAGCAGCACCTC AGTTGAAATACTGGCCACCTCTGAAGTCACCACAGATACGG AGAAAATTCATCCTTTCTCAAACACGGCAGTAACCAAAGTT GGAACTTCCAGTTCTGGACATGAATCCCCTTCCTCTGTCCTA CCTGACTCAGAGACAACCAAAGCCACATCGGCAATGGGTAC CATCTCCATTATGGGGGATACAAGTGTTTCTACATTAACTCCT GCCTTATCTAACACTAGGAAAATTCAGTCAGAGCCAGCTTCC TCACTGACCACCAGATTGAGGGAGACCAGCACCTCTGAAGA GACCAGCTTAGCCACAGAAGCAAACACTGTTCTTTCTAAAG TGTCCACTGGTGCTACTACTGAGGTCTCCAGGACAGAAGCC ATCTCCTTTAGCAGAACATCCATGTCAGGCCCTGAGCAGTCC ACAATGTCACAAGACATCTCCATAGGAACCATCCCCAGGATT

[0964]

		TCTGCCTCCTCTGTCCTGACAGAATCTGCAAAAATGACCATC ACAACCCAAACAGGTCCTTCGGAGTCTACACTAGAAAGTAC CCTTAATTTGAACACAGCAACCACACCCTCTTGGGTGGAAA CCCACTCTATAGTAATTCAGGGATTTCCACACCCAGAGATGA CCACTTCCATGGGCAGAGGTCCTGGAGGTGTGTCATGGCCTA GCCCTCCCTTTGTGAAAGAAACCAGCCCTCCATCCTCCCCGC TGTCTTTACCTGCCGTGACCTCACCTCATCCTGTTTCCACCAC ATTCCTAGCACATATCCCCCCCTCTCCCCTTCCTGTGACTTCA CTTCTCACCTCTGGCCCGGCGACAACCACAGATATCTTGGGT ACAAGCACAGAACCTGGAACCAGTTCATCTTCAAGTTTGAG CACCACCTCCCATGAGAGACTGACCACTTACAAAGACACTG CACATACAGAAGCCGTGCATCCTTCCACAAACACAGGAGGG ACCAATGTGGCAACCACCAGCTCTGGATATAAATCACAGTCC TCTGTCCTAGCTGACTCATCTCCAATGTGTACCACCTCCACCA TGGGGGATACAAGTGTTCTCACATCAACTCCTGCCTTCCTTG AGACTAGGAGGATTCAGACAGAGCTAGCTTCCTCCCTGACC CCTGGATTGAGGGAGTCCAGCGGCTCTGAAGGGACCAGCTC AGGCACCAAGATGAGCACTGTCCTCTCTAAAGTGCCCACTG GTGCTACTACTGAGATCTCCAAGGAAGACGTCACCTCCATCC CAGGTCCCGCTCAATCCACAATATCACCAGACATCTCCACAA GAACCGTCAGCTGGTTCTCTACATCCCCTGTCATGACAGAAT CAGCAGAAATAACCATGAACACCCATACAAGTCCTTTAGGG GCCACAACACAAGGCACCAGTACTTTGGACACGTCAAGCAC AACCTCTTTGACAATGACACACTCAACTATATCTCAAGGATT TTCACACTCACAGATGAGCACTCTTATGAGGAGGGGTCCTG AGGATGTATCATGGATGAGCCCTCCCCTTCTGGAAAAAACTA GACCTTCCTTTTCTCTGATGTCTTCACCAGCCACAACTTCAC CTTCTCCTGTTTCCTCCACATTACCAGAGAGCATCTCTTCCTC TCCTCTTCCTGTGACTTCACTCCTCACGTCTGGCTTGGCAAA AACTACAGATATGTTGCACAAAAGCTCAGAACCTGTAACCA ACTCACCTGCAAATTTGAGCAGCACCTCAGTTGAAATACTGG CCACCTCTGAAGTCACCACAGATACAGAGAAAACTCATCCT TCTTCAAACAGAACAGTGACCGATGTGGGGACCTCCAGTTC TGGACATGAATCCACTTCCTTTGTCCTAGCTGACTCACAGAC ATCCAAAGTCACATCTCCAATGGTTATTACCTCCACCATGGA GGATACGAGTGTCTCCACATCAACTCCTGGCTTTTTTGAGAC TAGCAGAATTCAGACAGAACCAACATCCTCCCTGACCCTTG GACTGAGAAAGACCAGCAGCTCTGAGGGGACCAGCTTAGC CACAGAGATGAGCACTGTCCTTTCTGGAGTGCCCACTGGTG CCACTGCTGAAGTCTCCAGGACAGAAGTCACCTCCTCTAGC AGAACATCCATCTCAGGCTTTGCTCAGCTCACAGTGTCACCA GAGACTTCCACAGAAACCATCACCAGACTCCCTACCTCCAG CATAATGACAGAATCAGCAGAAATGATGATCAAGACACAAA CAGATCCTCCTGGGTCTACACCAGAGAGTACTCATACTGTGG ACATATCAACAACACCCAACTGGGTAGAAACCCACTCGACT GTGACTCAGAGATTTTCACACTCAGAGATGACCACTCTTGTG AGCAGAAGCCCTGGTGATATGTTATGGCCTAGTCAATCCTCT GTGGAAGAAACCAGCTCTGCCTCTTCCCTGCTGTCTCTGCCT GCCACGACCTCACCTTCTCCTGTTTCCTCTACATTAGTAGAG GATTTCCCTTCCGCTTCTCTTCCTGTGACTTCTCTTCTCAACC CTGGCCTGGTGATAACCACAGACAGGATGGGCATAAGCAGA

[0965]

		GAACCTGGAACCAGTTCCACTTCAAATTTGAGCAGCACCTC CCATGAGAGACTGACCACTTTGGAAGACACTGTAGATACAG AAGACATGCAGCCTTCCACACACACAGCAGTGACCAACGTG AGGACCTCCATTTCTGGACATGAATCACAATCTTCTGTCCTAT CTGACTCAGAGACACCCAAAGCCACATCTCCAATGGGTACC ACCTACACCATGGGGGAAACGAGTGTTTCCATATCCACTTCT GACTTCTTTGAGACCAGCAGAATTCAGATAGAACCAACATCC TCCCTGACTTCTGGATTGAGGGAGACCAGCAGCTCTGAGAG GATCAGCTCAGCCACAGAGGGAAGCACTGTCCTTTCTGAAG TGCCCAGTGGTGCTACCACTGAGGTCTCCAGGACAGAAGTG ATATCCTCTAGGGGAACATCCATGTCAGGGCCTGATCAGTTC ACCATATCACCAGACATCTCTACTGAAGCGATCACCAGGCTT TCTACTTCCCCCATTATGACAGAATCAGCAGAAAGTGCCATC ACTATTGAGACAGGTTCTCCTGGGGCTACATCAGAGGGTACC CTCACCTTGGACACCTCAACAACAACCTTTTGGTCAGGGAC CCACTCAACTGCATCTCCAGGATTTTCACACTCAGAGATGAC CACTCTTATGAGTAGAACTCCTGGAGATGTGCCATGGCCGAG CCTTCCCTCTGTGGAAGAAGCCAGCTCTGTCTCTTCCTCACT GTCTTCACCTGCCATGACCTCAACTTCTTTTTTCTCCACATTA CCAGAGAGCATCTCCTCCTCTCCTCATCCTGTGACTGCACTT CTCACCCTTGGCCCAGTGAAGACCACAGACATGTTGCGCAC AAGCTCAGAACCTGAAACCAGTTCACCTCCAAATTTGAGCA GCACCTCAGCTGAAATATTAGCCACGTCTGAAGTCACCAAA GATAGAGAGAAAATTCATCCCTCCTCAAACACACCTGTAGTC AATGTAGGGACTGTGATTTATAAACATCTATCCCCTTCCTCTG TTTTGGCTGACTTAGTGACAACAAAACCCACATCTCCAATGG CTACCACCTCCACTCTGGGGAATACAAGTGTTTCCACATCAA CTCCTGCCTTCCCAGAAACTATGATGACACAGCCAACTTCCT CCCTGACTTCTGGATTAAGGGAGATCAGTACCTCTCAAGAGA CCAGCTCAGCAACAGAGAGAAGTGCTTCTCTTTCTGGAATG CCCACTGGTGCTACTACTAAGGTCTCCAGAACAGAAGCCCT CTCCTTAGGCAGAACATCCACCCCAGGTCCTGCTCAATCCAC AATATCACCAGAAATCTCCACGGAAACCATCACTAGAATTTC TACTCCCCTCACCACGACAGGATCAGCAGAAATGACCATCA CCCCCAAAACAGGTCATTCTGGGGCATCCTCACAAGGTACCT TTACCTTGGACACATCAAGCAGAGCCTCCTGGCCAGGAACT CACTCAGCTGCAACTCACAGATCTCCACACTCAGGGATGAC CACTCCTATGAGCAGAGGTCCTGAGGATGTGTCATGGCCAA GCCGCCCATCAGTGGAAAAAACTAGCCCTCCATCTTCCCTGG TGTCTTTATCTGCAGTAACCTCACCTTCGCCACTTTATTCCAC ACCATCTGAGAGTAGCCACTCATCTCCTCTCCGGGTGACTTC TCTTTTCACCCCTGTCATGATGAAGACCACAGACATGTTGGA CACAAGCTTGGAACCTGTGACCACTTCACCTCCCAGTATGAA TATCACCTCAGATGAGAGTCTGGCCACTTCTAAAGCCACCAT GGAGACAGAGGCAATTCAGCTTTCAGAAAACACAGCTGTGA CTCAGATGGGCACCATCAGCGCTAGACAAGAATTCTATTCCT CTTATCCAGGCCTCCCAGAGCCATCCAAAGTGACATCTCCAG TGGTCACCTCTTCCACCATAAAAGACATTGTTTCTACAACCAT ACCTGCTTCCTCTGAGATAACAAGAATTGAGATGGAGTCAAC ATCCACCCTGACCCCCACACCAAGGGAGACCAGCACCTCCC AGGAGATCCACTCAGCCACAAAGCCAAGCACTGTTCCTTAC

[0966]

		AAGGCACTCACTAGTGCCACGATTGAGGACTCCATGACACA AGTCATGTCCTCTAGCAGAGGACCTAGCCCTGATCAGTCCAC AATGTCACAAGACATATCCACTGAAGTGATCACCAGGCTCTC TACCTCCCCCATCAAGACAGAATCTACAGAAATGACCATTAC CACCCAAACAGGTTCTCCTGGGGCTACATCAAGGGGTACCC TTACCTTGGACACTTCAACAACTTTTATGTCAGGGACCCACT CAACTGCATCTCAAGGATTTTCACACTCACAGATGACCGCTC TTATGAGTAGAACTCCTGGAGATGTGCCATGGCTAAGCCATC CCTCTGTGGAAGAAGCCAGCTCTGCCTCTTTCTCACTGTCTT CACCTGTCATGACCTCATCTTCTCCCGTTTCTTCCACATTACC AGACAGCATCCACTCTTCTTCGCTTCCTGTGACATCACTTCT CACCTCAGGGCTGGTGAAGACCACAGAGCTGTTGGGCACAA GCTCAGAACCTGAAACCAGTTCACCCCCAAATTTGAGCAGC ACCTCAGCTGAAATACTGGCCATCACTGAAGTCACTACAGAT ACAGAGAAACTGGAGATGACCAATGTGGTAACCTCAGGTTA TACACATGAATCTCCTTCCTCTGTCCTAGCTGACTCAGTGAC AACAAAGGCCACATCTTCAATGGGTATCACCTACCCCACAGG AGATACAAATGTTCTCACATCAACCCCTGCCTTCTCTGACAC CAGTAGGATTCAAACAAAGTCAAAGCTCTCACTGACTCCTG GGTTGATGGAGACCAGCATCTCTGAAGAGACCAGCTCTGCC ACAGAAAAAAGCACTGTCCTTTCTAGTGTGCCCACTGGTGCT ACTACTGAGGTCTCCAGGACAGAAGCCATCTCTTCTAGCAG AACATCCATCCCAGGCCCTGCTCAATCCACAATGTCATCAGA CACCTCCATGGAAACCATCACTAGAATTTCTACCCCCCTCAC AAGGAAAGAATCAACAGACATGGCCATCACCCCCAAAACAG GTCCTTCTGGGGCTACCTCGCAGGGTACCTTTACCTTGGACT CATCAAGCACAGCCTCCTGGCCAGGAACTCACTCAGCTACA ACTCAGAGATTTCCACAGTCAGTGGTGACAACTCCTATGAGC AGAGGTCCTGAGGATGTGTCATGGCCAAGCCCGCTGTCTGT GGAAAAAAACAGCCCTCCATCTTCCCTGGTATCTTCATCTTC AGTAACCTCACCTTCGCCACTTTATTCCACACCATCTGGGAG TAGCCACTCCTCTCCTGTCCCTGTCACTTCTCTTTTCACCTCT ATCATGATGAAGGCCACAGACATGTTGGATGCAAGTTTGGAA CCTGAGACCACTTCAGCTCCCAATATGAATATCACCTCAGAT GAGAGTCTGGCCGCTTCTAAAGCCACCACGGAGACAGAGGC AATTCACGTTTTTGAAAATACAGCAGCGTCCCATGTGGAAAC CACCAGTGCTACAGAGGAACTCTATTCCTCTTCCCCAGGCTT CTCAGAGCCAACAAAAGTGATATCTCCAGTGGTCACCTCTTC CTCTATAAGAGACAACATGGTTTCCACAACAATGCCTGGCTC CTCTGGCATTACAAGGATTGAGATAGAGTCAATGTCATCTCT GACCCCTGGACTGAGGGAGACCAGAACCTCCCAGGACATCA CCTCATCCACAGAGACAAGCACTGTCCTTTACAAGATGCCCT CTGGTGCCACTCCTGAGGTCTCCAGGACAGAAGTTATGCCCT CTAGCAGAACATCCATTCCTGGCCCTGCTCAGTCCACAATGT CACTAGACATCTCCGATGAAGTTGTCACCAGGCTGTCTACCT CTCCCATCATGACAGAATCTGCAGAAATAACCATCACCACCC AAACAGGTTATTCTCTGGCTACATCCCAGGTTACCCTTCCCTT GGGCACCTCAATGACCTTTTTGTCAGGGACCCACTCAACTAT GTCTCAAGGACTTTCACACTCAGAGATGACCAATCTTATGAG CAGGGGTCCTGAAAGTCTGTCATGGACGAGCCCTCGCTTTG TGGAAACAACTAGATCTTCCTCTTCTCTGACATCATTACCTCT

[0967]

		CACGACCTCACTTTCTCCTGTGTCCTCCACATTACTAGACAG TAGCCCCTCCTCTCCTCTTCCTGTGACTTCACTTATCCTCCCA GGCCTGGTGAAGACTACAGAAGTGTTGGATACAAGCTCAGA GCCTAAAACCAGTTCATCTCCAAATTTGAGCAGCACCTCAGT TGAAATACCGGCCACCTCTGAAATCATGACAGATACAGAGA AAATTCATCCTTCCTCAAACACAGCGGTGGCCAAAGTGAGG ACCTCCAGTTCTGTTCATGAATCTCATTCCTCTGTCCTAGCTG ACTCAGAAACAACCATAACCATACCTTCAATGGGTATCACCT CCGCTGTGGACGATACCACTGTTTTCACATCAAATCCTGCCT TCTCTGAGACTAGGAGGATTCCGACAGAGCCAACATTCTCAT TGACTCCTGGATTCAGGGAGACTAGCACCTCTGAAGAGACC ACCTCAATCACAGAAACAAGTGCAGTCCTTTATGGAGTGCC CACTAGTGCTACTACTGAAGTCTCCATGACAGAAATCATGTC CTCTAATAGAATACACATCCCTGACTCTGATCAGTCCACGATG TCTCCAGACATCATCACTGAAGTGATCACCAGGCTCTCTTCC TCATCCATGATGTCAGAATCAACACAAATGACCATCACCACC CAAAAAAGTTCTCCTGGGGCTACAGCACAGAGTACTCTTAC CTTGGCCACAACAACAGCCCCCTTGGCAAGGACCCACTCAA CTGTTCCTCCTAGATTTTTACACTCAGAGATGACAACTCTTAT GAGTAGGAGTCCTGAAAATCCATCATGGAAGAGCTCTCTCTT TGTGGAAAAAACTAGCTCTTCATCTTCTCTGTTGTCCTTACCT GTCACGACCTCACCTTCTGTTTCTTCCACATTACCGCAGAGT ATCCCTTCCTCCTCTTTTTCTGTGACTTCACTCCTCACCCCAG GCATGGTGAAGACTACAGACACAAGCACAGAACCTGGAAC CAGTTTATCTCCAAATCTGAGTGGCACCTCAGTTGAAATACT GGCTGCCTCTGAAGTCACCACAGATACAGAGAAAATTCATC CTTCTTCAAGCATGGCAGTGACCAATGTGGGAACCACCAGT TCTGGACATGAACTATATTCCTCTGTTTCAATCCACTCGGAGC CATCCAAGGCTACATACCCAGTGGGTACTCCCTCTTCCATGG CTGAAACCTCTATTTCCACATCAATGCCTGCTAATTTTGAGAC CACAGGATTTGAGGCTGAGCCATTTTCTCATTTGACTTCTGG ATTTAGGAAGACAAACATGTCCCTGGACACCAGCTCAGTCA CACCAACAAATACACCTTCTTCTCCTGGGTCCACTCACCTTT TACAGAGTTCCAAGACTGATTTCACCTCTTCTGCAAAAACAT CATCCCCAGACTGGCCTCCAGCCTCACAGTATACTGAAATTC CAGTGGACATAATCACCCCCTTTAATGCTTCTCCATCTATTAC GGAGTCCACTGGGATAACCTCCTTCCCAGAATCCAGGTTTAC TATGTCTGTAACAGAAAGTACTCATCATCTGAGTACAGATTTG CTGCCTTCAGCTGAGACTATTTCCACTGGCACAGTGATGCCT TCTCTATCAGAGGCCATGACTTCATTTGCCACCACTGGAGTT CCACGAGCCATCTCAGGTTCAGGTAGTCCATTCTCTAGGACA GAGTCAGGCCCTGGGGATGCTACTCTGTCCACCATTGCAGA GAGCCTGCCTTCATCCACTCCTGTGCCATTCTCCTCTTCAACC TTCACTACCACTGATTCTTCAACCATCCCAGCCCTCCATGAG ATAACTTCCTCTTCAGCTACCCCATATAGAGTGGACACCAGT CTTGGGACAGAGAGCAGCACTACTGAAGGACGCTTGGTTAT GGTCAGTACTTTGGACACTTCAAGCCAACCAGGCAGGACAT CTTCATCACCCATTTTGGATACCAGAATGACAGAGAGCGTTG AGCTGGGAACAGTGACAAGTGCTTATCAAGTTCCTTCACTCT CAACACGGTTGACAAGAACTGATGGCATTATGGAACACATC ACAAAAATACCCAATGAAGCAGCACACAGAGGTACCATAAG

[0968]

		ACCAGTCAAAGGCCCTCAGACATCCACTTCGCCTGCCAGTC CTAAAGGACTACACACAGGAGGGACAAAAAGAATGGAGAC CACCACCACAGCTCTGAAGACCACCACCACAGCTCTGAAGA CCACTTCCAGAGCCACCTTGACCACCAGTGTCTATACTCCCA CTTTGGGAACACTGACTCCCCTCAATGCATCAATGCAAATGG CCAGCACAATCCCCACAGAAATGATGATCACAACCCCATATG TTTTCCCTGATGTTCCAGAAACGACATCCTCATTGGCTACCA GCCTGGGAGCAGAAACCAGCACAGCTCTTCCCAGGACAACC CCATCTGTTTTCAATAGAGAATCAGAGACCACAGCCTCACTG GTCTCTCGTTCTGGGGCAGAGAGAAGTCCGGTTATTCAAACT CTAGATGTTTCTTCTAGTGAGCCAGATACAACAGCTTCATGG GTTATCCATCCTGCAGAGACCATCCCAACTGTTTCCAAGACA ACCCCCAATTTTTTCCACAGTGAATTAGACACTGTATCTTCCA CAGCCACCAGTCATGGGGCAGACGTCAGCTCAGCCATTCCA ACAAATATCTCACCTAGTGAACTAGATGCACTGACCCCACTG GTCACTATTTCGGGGACAGATACTAGTACAACATTCCCAACA CTGACTAAGTCCCCACATGAAACAGAGACAAGAACCACATG GCTCACTCATCCTGCAGAGACCAGCTCAACTATTCCCAGAAC AATCCCCAATTTTTCTCATCATGAATCAGATGCCACACCTTCA ATAGCCACCAGTCCTGGGGCAGAAACCAGTTCAGCTATTCCA ATTATGACTGTCTCACCTGGTGCAGAAGATCTGGTGACCTCA CAGGTCACTAGTTCTGGGACAGACAGAAATATGACTATTCCA ACTTTGACTCTTTCTCCTGGTGAACCAAAGACGATAGCCTCA TTAGTCACCCATCCTGAAGCACAGACAAGTTCGGCCATTCCA ACTTCAACTATCTCGCCTGCTGTATCACGGTTGGTGACCTCA ATGGTCACCAGTTTGGCGGCAAAGACAAGTACAACTAATCG AGCTCTGACAAACTCCCCTGGTGAACCAGCTACAACAGTTT CATTGGTCACGCATCCTGCACAGACCAGCCCAACAGTTCCCT GGACAACTTCCATTTTTTTCCATAGTAAATCAGACACCACAC CTTCAATGACCACCAGTCATGGGGCAGAATCCAGTTCAGCTG TTCCAACTCCAACTGTTTCAACTGAGGTACCAGGAGTAGTG ACCCCTTTGGTCACCAGTTCTAGGGCAGTGATCAGTACAACT ATTCCAATTCTGACTCTTTCTCCTGGTGAACCAGAGACCACA CCTTCAATGGCCACCAGTCATGGGGAAGAAGCCAGTTCTGC TATTCCAACTCCAACTGTTTCACCTGGGGTACCAGGAGTGGT GACCTCTCTGGTCACTAGTTCTAGGGCAGTGACTAGTACAAC TATTCCAATTCTGACTTTTTCTCTTGGTGAACCAGAGACCAC ACCTTCAATGGCCACCAGTCATGGGACAGAAGCTGGCTCAG CTGTTCCAACTGTTTTACCTGAGGTACCAGGAATGGTGACCT CTCTGGTTGCTAGTTCTAGGGCAGTAACCAGTACAACTCTTC CAACTCTGACTCTTTCTCCTGGTGAACCAGAGACCACACCTT CAATGGCCACCAGTCATGGGGCAGAAGCCAGCTCAACTGTT CCAACTGTTTCACCTGAGGTACCAGGAGTGGTGACCTCTCT GGTCACTAGTTCTAGTGGAGTAAACAGTACAAGTATTCCAAC TCTGATTCTTTCTCCTGGTGAACTAGAAACCACACCTTCAAT GGCCACCAGTCATGGGGCAGAAGCCAGCTCAGCTGTTCCAA CTCCAACTGTTTCACCTGGGGTATCAGGAGTGGTGACCCCTC TGGTCACTAGTTCCAGGGCAGTGACCAGTACAACTATTCCAA TTCTAACTCTTTCTTCTAGTGAGCCAGAGACCACACCTTCAA TGGCCACCAGTCATGGGGTAGAAGCCAGCTCAGCTGTTCTA ACTGTTTCACCTGAGGTACCAGGAATGGTGACCTCTCTGGTC

[0969]

		ACTAGTTCTAGAGCAGTAACCAGTACAACTATTCCAACTCTG ACTATTTCTTCTGATGAACCAGAGACCACAACTTCATTGGTC ACCCATTCTGAGGCAAAGATGATTTCAGCCATTCCAACTTTA GCTGTCTCCCCTACTGTACAAGGGCTGGTGACTTCACTGGTC ACTAGTTCTGGGTCAGAGACCAGTGCGTTTTCAAATCTAACT GTTGCCTCAAGTCAACCAGAGACCATAGACTCATGGGTCGC TCATCCTGGGACAGAAGCAAGTTCTGTTGTTCCAACTTTGAC TGTCTCCACTGGTGAGCCGTTTACAAATATCTCATTGGTCACC CATCCTGCAGAGAGTAGCTCAACTCTTCCCAGGACAACCTC AAGGTTTTCCCACAGTGAATTAGACACTATGCCTTCTACAGT CACCAGTCCTGAGGCAGAATCCAGCTCAGCCATTTCAACAA CTATTTCACCTGGTATACCAGGTGTGCTGACATCACTGGTCA CTAGCTCTGGGAGAGACATCAGTGCAACTTTTCCAACAGTG CCTGAGTCCCCACATGAATCAGAGGCAACAGCCTCATGGGTT ACTCATCCTGCAGTCACCAGCACAACAGTTCCCAGGACAAC CCCTAATTATTCTCATAGTGAACCAGACACCACACCATCAATA GCCACCAGTCCTGGGGCAGAAGCCACTTCAGATTTTCCAAC AATAACTGTCTCACCTGATGTACCAGATATGGTAACCTCACA GGTCACTAGTTCTGGGACAGACACCAGTATAACTATTCCAAC TCTGACTCTTTCTTCTGGTGAGCCAGAGACCACAACCTCATT TATCACCTATTCTGAGACACACACAAGTTCAGCCATTCCAAC TCTCCCTGTCTCCCCTGGTGCATCAAAGATGCTGACCTCACT GGTCATCAGTTCTGGGACAGACAGCACTACAACTTTCCCAA CACTGACGGAGACCCCATATGAACCAGAGACAACAGCCATA CAGCTCATTCATCCTGCAGAGACCAACACAATGGTTCCCAGG ACAACTCCCAAGTTTTCCCATAGTAAGTCAGACACCACACTC CCAGTAGCCATCACCAGTCCTGGGCCAGAAGCCAGTTCAGC TGTTTCAACGACAACTATCTCACCTGATATGTCAGATCTGGTG ACCTCACTGGTCCCTAGTTCTGGGACAGACACCAGTACAAC CTTCCCAACATTGAGTGAGACCCCATATGAACCAGAGACTAC AGCCACGTGGCTCACTCATCCTGCAGAAACCAGCACAACGG TTTCTGGGACAATTCCCAACTTTTCCCATAGGGGATCAGACA CTGCACCCTCAATGGTCACCAGTCCTGGAGTAGACACGAGG TCAGGTGTTCCAACTACAACCATCCCACCCAGTATACCAGGG GTAGTGACCTCACAGGTCACTAGTTCTGCAACAGACACTAGT ACAGCTATTCCAACTTTGACTCCTTCTCCTGGTGAACCAGAG ACCACAGCCTCATCAGCTACCCATCCTGGGACACAGACTGG CTTCACTGTTCCAATTCGGACTGTTCCCTCTAGTGAGCCAGA TACAATGGCTTCCTGGGTCACTCATCCTCCACAGACCAGCAC ACCTGTTTCCAGAACAACCTCCAGTTTTTCCCATAGTAGTCC AGATGCCACACCTGTAATGGCCACCAGTCCTAGGACAGAAG CCAGTTCAGCTGTACTGACAACAATCTCACCTGGTGCACCA GAGATGGTGACTTCACAGATCACTAGTTCTGGGGCAGCAAC CAGTACAACTGTTCCAACTTTGACTCATTCTCCTGGTATGCC AGAGACCACAGCCTTATTGAGCACCCATCCCAGAACAGAGA CAAGTAAAACATTTCCTGCTTCAACTGTGTTTCCTCAAGTAT CAGAGACCACAGCCTCACTCACCATTAGACCTGGTGCAGAG ACTAGCACAGCTCTCCCAACTCAGACAACATCCTCTCTCTTC ACCCTACTTGTAACTGGAACCAGCAGAGTTGATCTAAGTCCA ACTGCTTCACCTGGTGTTTCTGCAAAAACAGCCCCACTTTCC ACCCATCCAGGGACAGAAACCAGCACAATGATTCCAACTTC

[0970]

		AACTCTTTCCCTTGGTTTACTAGAGACTACAGGCTTACTGGC CACCAGCTCTTCAGCAGAGACCAGCACGAGTACTCTAACTC TGACTGTTTCCCCTGCTGTCTCTGGGCTTTCCAGTGCCTCTAT AACAACTGATAAGCCCCAAACTGTGACCTCCTGGAACACAG AAACCTCACCATCTGTAACTTCAGTTGGACCCCCAGAATTTT CCAGGACTGTCACAGGCACCACTATGACCTTGATACCATCAG AGATGCCAACACCACCTAAAACCAGTCATGGAGAAGGAGTG AGTCCAACCACTATCTTGAGAACTACAATGGTTGAAGCCACT AATTTAGCTACCACAGGTTCCAGTCCCACTGTGGCCAAGACA ACAACCACCTTCAATACACTGGCTGGAAGCCTCTTTACTCCT CTGACCACACCTGGGATGTCCACCTTGGCCTCTGAGAGTGT GACCTCAAGAACAAGTTATAACCATCGGTCCTGGATCTCCAC CACCAGCAGTTATAACCGTCGGTACTGGACCCCTGCCACCAG CACTCCAGTGACTTCTACATTCTCCCCAGGGATTTCCACATC CTCCATCCCCAGCTCCACAGCAGCCACAGTCCCATTCATGGT GCCATTCACCCTCAACTTCACCATCACCAACCTGCAGTACGA GGAGGACATGCGGCACCCTGGTTCCAGGAAGTTCAACGCCA CAGAGAGAGAACTGCAGGGTCTGCTCAAACCCTTGTTCAGG AATAGCAGTCTGGAATACCTCTATTCAGGCTGCAGACTAGCC TCACTCAGGCCAGAGAAGGATAGCTCAGCCACGGCAGTGGA TGCCATCTGCACACATCGCCCTGACCCTGAAGACCTCGGACT GGACAGAGAGCGACTGTACTGGGAGCTGAGCAATCTGACAA ATGGCATCCAGGAGCTGGGCCCCTACACCCTGGACCGGAAC AGTCTCTATGTCAATGGTTTCACCCATCGAAGCTCTATGCCCA CCACCAGCACTCCTGGGACCTCCACAGTGGATGTGGGAACC TCAGGGACTCCATCCTCCAGCCCCAGCCCCACGACTGCTGG CCCTCTCCTGATGCCGTTCACCCTCAACTTCACCATCACCAA CCTGCAGTACGAGGAGGACATGCGTCGCACTGGCTCCAGGA AGTTCAACACCATGGAGAGTGTCCTGCAGGGTCTGCTCAAG CCCTTGTTCAAGAACACCAGTGTTGGCCCTCTGTACTCTGGC TGCAGATTGACCTTGCTCAGGCCCGAGAAAGATGGGGCAGC CACTGGAGTGGATGCCATCTGCACCCACCGCCTTGACCCCA AAAGCCCTGGACTCAACAGGGAGCAGCTGTACTGGGAGCTA AGCAAACTGACCAATGACATTGAAGAGCTGGGCCCCTACAC CCTGGACAGGAACAGTCTCTATGTCAATGGTTTCACCCATCA GAGCTCTGTGTCCACCACCAGCACTCCTGGGACCTCCACAG TGGATCTCAGAACCTCAGGGACTCCATCCTCCCTCTCCAGCC CCACAATTATGGCTGCTGGCCCTCTCCTGGTACCATTCACCCT CAACTTCACCATCACCAACCTGCAGTATGGGGAGGACATGG GTCACCCTGGCTCCAGGAAGTTCAACACCACAGAGAGGGTC CTGCAGGGTCTGCTTGGTCCCATATTCAAGAACACCAGTGTT GGCCCTCTGTACTCTGGCTGCAGACTGACCTCTCTCAGGTCT GAGAAGGATGGAGCAGCCACTGGAGTGGATGCCATCTGCAT CCATCATCTTGACCCCAAAAGCCCTGGACTCAACAGAGAGC GGCTGTACTGGGAGCTGAGCCAACTGACCAATGGCATCAAA GAGCTGGGCCCCTACACCCTGGACAGGAACAGTCTCTATGT CAATGGTTTCACCCATCGGACCTCTGTGCCCACCAGCAGCAC TCCTGGGACCTCCACAGTGGACCTTGGAACCTCAGGGACTC CATTCTCCCTCCCAAGCCCCGCAACTGCTGGCCCTCTCCTGG TGCTGTTCACCCTCAACTTCACCATCACCAACCTGAAGTATG AGGAGGACATGCATCGCCCTGGCTCCAGGAAGTTCAACACC

[0971]

		ACTGAGAGGGTCCTGCAGACTCTGCTTGGTCCTATGTTCAAG AACACCAGTGTTGGCCTTCTGTACTCTGGCTGCAGACTGACC TTGCTCAGGTCCGAGAAGGATGGAGCAGCCACTGGAGTGGA TGCCATCTGCACCCACCGTCTTGACCCCAAAAGCCCTGGAG TGGACAGGGAGCAGCTATACTGGGAGCTGAGCCAGCTGACC AATGGCATCAAAGAGCTGGGCCCCTACACCCTGGACAGGAA CAGTCTCTATGTCAATGGTTTCACCCATTGGATCCCTGTGCCC ACCAGCAGCACTCCTGGGACCTCCACAGTGGACCTTGGGTC AGGGACTCCATCCTCCCTCCCCAGCCCCACAACTGCTGGCCC TCTCCTGGTGCCGTTCACCCTCAACTTCACCATCACCAACCT GAAGTACGAGGAGGACATGCATTGCCCTGGCTCCAGGAAGT TCAACACCACAGAGAGAGTCCTGCAGAGTCTGCTTGGTCCC ATGTTCAAGAACACCAGTGTTGGCCCTCTGTACTCTGGCTGC AGACTGACCTTGCTCAGGTCCGAGAAGGATGGAGCAGCCAC TGGAGTGGATGCCATCTGCACCCACCGTCTTGACCCCAAAA GCCCTGGAGTGGACAGGGAGCAGCTATACTGGGAGCTGAGC CAGCTGACCAATGGCATCAAAGAGCTGGGTCCCTACACCCT GGACAGAAACAGTCTCTATGTCAATGGTTTCACCCATCAGAC CTCTGCGCCCAACACCAGCACTCCTGGGACCTCCACAGTGG ACCTTGGGACCTCAGGGACTCCATCCTCCCTCCCCAGCCCTA CATCTGCTGGCCCTCTCCTGGTGCCATTCACCCTCAACTTCA CCATCACCAACCTGCAGTACGAGGAGGACATGCATCACCCA GGCTCCAGGAAGTTCAACACCACGGAGCGGGTCCTGCAGG GTCTGCTTGGTCCCATGTTCAAGAACACCAGTGTCGGCCTTC TGTACTCTGGCTGCAGACTGACCTTGCTCAGGCCTGAGAAG AATGGGGCAGCCACTGGAATGGATGCCATCTGCAGCCACCG TCTTGACCCCAAAAGCCCTGGACTCAACAGAGAGCAGCTGT ACTGGGAGCTGAGCCAGCTGACCCATGGCATCAAAGAGCTG GGCCCCTACACCCTGGACAGGAACAGTCTCTATGTCAATGGT TTCACCCATCGGAGCTCTGTGGCCCCCACCAGCACTCCTGGG ACCTCCACAGTGGACCTTGGGACCTCAGGGACTCCATCCTC CCTCCCCAGCCCCACAACAGCTGTTCCTCTCCTGGTGCCGTT CACCCTCAACTTTACCATCACCAATCTGCAGTATGGGGAGGA CATGCGTCACCCTGGCTCCAGGAAGTTCAACACCACAGAGA GGGTCCTGCAGGGTCTGCTTGGTCCCTTGTTCAAGAACTCCA GTGTCGGCCCTCTGTACTCTGGCTGCAGACTGATCTCTCTCA GGTCTGAGAAGGATGGGGCAGCCACTGGAGTGGATGCCATC TGCACCCACCACCTTAACCCTCAAAGCCCTGGACTGGACAG GGAGCAGCTGTACTGGCAGCTGAGCCAGATGACCAATGGCA TCAAAGAGCTGGGCCCCTACACCCTGGACCGGAACAGTCTC TACGTCAATGGTTTCACCCATCGGAGCTCTGGGCTCACCACC AGCACTCCTTGGACTTCCACAGTTGACCTTGGAACCTCAGG GACTCCATCCCCCGTCCCCAGCCCCACAACCACCGGCCCTCT CCTGGTGCCATTCACACTCAACTTCACCATCACTAACCTACA GTATGAGGAGAACATGGGTCACCCTGGCTCCAGGAAGTTCA ACATCACGGAGAGTGTTCTGCAGGGTCTGCTCAAGCCCTTG TTCAAGAGCACCAGTGTTGGCCCTCTGTATTCTGGCTGCAGA CTGACCTTGCTCAGGCCTGAGAAGGATGGAGTAGCCACCAG AGTGGACGCCATCTGCACCCACCGCCCTGACCCCAAAATCC CTGGGCTAGACAGACAGCAGCTATACTGGGAGCTGAGCCAG CTGACCCACAGCATCACTGAGCTGGGACCCTACACCCTGGAT

[0972]

		AGGGACAGTCTCTATGTCAATGGTTTCACCCAGCGGAGCTCT GTGCCCACCACCAGCACTCCTGGGACTTTCACAGTACAGCC GGAAACCTCTGAGACTCCATCATCCCTCCCTGGCCCCACAGC CACTGGCCCTGTCCTGCTGCCATTCACCCTCAATTTTACCATC ACTAACCTGCAGTATGAGGAGGACATGCGTCGCCCTGGCTCC AGGAAGTTCAACACCACGGAGAGGGTCCTTCAGGGTCTGCT TATGCCCTTGTTCAAGAACACCAGTGTCAGCTCTCTGTACTC TGGTTGCAGACTGACCTTGCTCAGGCCTGAGAAGGATGGGG CAGCCACCAGAGTGGATGCTGTCTGCACCCATCGTCCTGACC CCAAAAGCCCTGGACTGGACAGAGAGCGGCTGTACTGGAA GCTGAGCCAGCTGACCCACGGCATCACTGAGCTGGGCCCCT ACACCCTGGACAGGCACAGTCTCTATGTCAATGGTTTCACCC ATCAGAGCTCTATGACGACCACCAGAACTCCTGATACCTCCA CAATGCACCTGGCAACCTCGAGAACTCCAGCCTCCCTGTCT GGACCCATGACCGCCAGCCCTCTCCTGGTGCTATTCACAATT AACTTCACCATCACTAACCTGCGGTATGAGGAGAACATGCAT CACCCTGGCTCTAGAAAGTTTAACACCACGGAGAGAGTCCT TCAGGGTCTGCTCAGGCCTGTGTTCAAGAACACCAGTGTTG GCCCTCTGTACTCTGGCTGCAGACTGACCTTGCTCAGGCCCA AGAAGGATGGGGCAGCCACCAAAGTGGATGCCATCTGCACC TACCGCCCTGATCCCAAAAGCCCTGGACTGGACAGAGAGCA GCTATACTGGGAGCTGAGCCAGCTGACCCACAGCATCACTG AGCTGGGCCCCTACACCCTGGACAGGGACAGTCTCTATGTC AATGGTTTCACACAGCGGAGCTCTGTGCCCACCACTAGCATT CCTGGGACCCCCACAGTGGACCTGGGAACATCTGGGACTCC AGTTTCTAAACCTGGTCCCTCGGCTGCCAGCCCTCTCCTGGT GCTATTCACTCTCAACTTCACCATCACCAACCTGCGGTATGA GGAGAACATGCAGCACCCTGGCTCCAGGAAGTTCAACACCA CGGAGAGGGTCCTTCAGGGCCTGCTCAGGTCCCTGTTCAAG AGCACCAGTGTTGGCCCTCTGTACTCTGGCTGCAGACTGACT TTGCTCAGGCCTGAAAAGGATGGGACAGCCACTGGAGTGGA TGCCATCTGCACCCACCACCCTGACCCCAAAAGCCCTAGGC TGGACAGAGAGCAGCTGTATTGGGAGCTGAGCCAGCTGACC CACAATATCACTGAGCTGGGCCCCTATGCCCTGGACAACGAC AGCCTCTTTGTCAATGGTTTCACTCATCGGAGCTCTGTGTCC ACCACCAGCACTCCTGGGACCCCCACAGTGTATCTGGGAGC ATCTAAGACTCCAGCCTCGATATTTGGCCCTTCAGCTGCCAG CCATCTCCTGATACTATTCACCCTCAACTTCACCATCACTAAC CTGCGGTATGAGGAGAACATGTGGCCTGGCTCCAGGAAGTT CAACACTACAGAGAGGGTCCTTCAGGGCCTGCTAAGGCCCT TGTTCAAGAACACCAGTGTTGGCCCTCTGTACTCTGGCTGCA GGCTGACCTTGCTCAGGCCAGAGAAAGATGGGGAAGCCACC GGAGTGGATGCCATCTGCACCCACCGCCCTGACCCCACAGG CCCTGGGCTGGACAGAGAGCAGCTGTATTTGGAGCTGAGCC AGCTGACCCACAGCATCACTGAGCTGGGCCCCTACACACTG GACAGGGACAGTCTCTATGTCAATGGTTTCACCCATCGGAGC TCTGTACCCACCACCAGCACCGGGGTGGTCAGCGAGGAGCC ATTCACACTGAACTTCACCATCAACAACCTGCGCTACATGGC GGACATGGGCCAACCCGGCTCCCTCAAGTTCAACATCACAG ACAACGTCATGCAGCACCTGCTCAGTCCTTTGTTCCAGAGG AGCAGCCTGGGTGCACGGTACACAGGCTGCAGGGTCATCGC

[0973]

		ACTAAGGTCTGTGAAGAACGGTGCTGAGACACGGGTGGACC TCCTCTGCACCTACCTGCAGCCCCTCAGCGGCCCAGGTCTGC CTATCAAGCAGGTGTTCCATGAGCTGAGCCAGCAGACCCAT GGCATCACCCGGCTGGGCCCCTACTCTCTGGACAAAGACAG CCTCTACCTTAACGGTTACAATGAACCTGGTCCAGATGAGCC TCCTACAACTCCCAAGCCAGCCACCACATTCCTGCCTCCTCT GTCAGAAGCCACAACAGCCATGGGGTACCACCTGAAGACCC TCACACTCAACTTCACCATCTCCAATCTCCAGTATTCACCAG ATATGGGCAAGGGCTCAGCTACATTCAACTCCACCGAGGGG GTCCTTCAGCACCTGCTCAGACCCTTGTTCCAGAAGAGCAG CATGGGCCCCTTCTACTTGGGTTGCCAACTGATCTCCCTCAG GCCTGAGAAGGATGGGGCAGCCACTGGTGTGGACACCACCT GCACCTACCACCCTGACCCTGTGGGCCCCGGGCTGGACATA CAGCAGCTTTACTGGGAGCTGAGTCAGCTGACCCATGGTGT CACCCAACTGGGCTTCTATGTCCTGGACAGGGATAGCCTCTT CATCAATGGCTATGCACCCCAGAATTTATCAATCCGGGGCGA GTACCAGATAAATTTCCACATTGTCAACTGGAACCTCAGTAA TCCAGACCCCACATCCTCAGAGTACATCACCCTGCTGAGGG ACATCCAGGACAAGGTCACCACACTCTACAAAGGCAGTCAA CTACATGACACATTCCGCTTCTGCCTGGTCACCAACTTGACG ATGGACTCCGTGTTGGTCACTGTCAAGGCATTGTTCTCCTCC AATTTGGACCCCAGCCTGGTGGAGCAAGTCTTTCTAGATAAG ACCCTGAATGCCTCATTCCATTGGCTGGGCTCCACCTACCAG TTGGTGGACATCCATGTGACAGAAATGGAGTCATCAGTTTAT CAACCAACAAGCAGCTCCAGCACCCAGCACTTCTACCTGAA TTTCACCATCACCAACCTACCATATTCCCAGGACAAAGCCCA GCCAGGCACCACCAATTACCAGAGGAACAAAAGGAATATTG AGGATGCGCTCAACCAACTCTTCCGAAACAGCAGCATCAAG AGTTATTTTTCTGACTGTCAAGTTTCAACATTCAGGTCTGTCC CCAACAGGCACCACACCGGGGTGGACTCCCTGTGTAACTTC TCGCCACTGGCTCGGAGAGTAGACAGAGTTGCCATCTATGA GGAATTTCTGCGGATGACCCGGAATGGTACCCAGCTGCAGA ACTTCACCCTGGACAGGAGCAGTGTCCTTGTGGATGGGTATT CTCCCAACAGAAATGAGCCCTTAACTGGGAATTCTGACCTTC CCTTCTGGGCTGTCATCCTCATCGGCTTGGCAGGACTCCTGG GAGTCATCACATGCCTGATCTGCGGTGTCCTGGTGACCACCC GCCGGCGGAAGAAGGAAGGAGAATACAACGTCCAGCAACA GTGCCCAGGCTACTACCAGTCACACCTAGACCTGGAGGATCT GCAATGACTGGAACTTGCCGGTGCCTGGGGTGCCTTTCCCCC AGCCAGGGTCCAAAGAAGCTTGGCTGGGGCAGAAATAAAC CATATTGGTCGGA
138	双特异性	EIVMTQTPATLSVSAGERVTITCKASQSVSNDVTWYQQKPGQA PRLLIYSASNRYSGVPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFC QQDYSSFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSG GGGSQVQLVQSGGGLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGECGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKA SGYTFTRYTMHWVRQAPGKCLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKD RFTISRDNSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYCLDY

[0974]

		WGQGTPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPS RFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWSSNPFTFGCGTKL QITR
139	MUC16c114-N3	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQAFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRR KKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
140	10C6 VH 核酸	CAGGTAACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCC TCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCA CTGAACACTCTTGGTATGGGTGTAGGCTGGATTCGGCAGCCT TCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTTGGTGGGA TGATGATAAGTACTATAACCCAGCCCTGAAGAGTCGGCTCAC AATCTCCAAGGATTCCTCCAAAAACCAGGTTTTCCTCAAGAT CGCCAATGTGGACACTGCAGATATTGCCACATACTACTGTTC TCGAATCGGGACAGCTCAGGCTACGGATGCTCTGGACTACTG GGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
141	10C6 VL 核酸	GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTC TGGGGCAGAGGGCCACCATCTCATACAGGGCCAGCAAAAGT GTCAGTACATCTGGCTATAGTTATATGCACTGGAACCAACAG AAACCAGGACAGCCACCCAGACTCCTCATCTATCTTGTATCC AACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGG AGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACATTAGGGAGC TTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAC
142	7B12 VH 核酸	CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCC TCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCA CTGAGCACTGTTGGTATGGGTGTAGGCTGGAGTCGTCAGCCC TCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATCTGGTGGGA TGATGAAGATAAGTATTATAATCCAGCCCTGAAGAGTCGGCT CACAATCTCCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTTCCTCAA GATCGCCAATGTGGACACTGCAGATAGTGCCACATACTACTG TACTCGAATCGGGACAGCTCAGGCTACGGATGCTTTGGACTA CTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
143	7B12 VL 核酸	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTATCTGTCACTC CTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTC TTCGGAAAAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTCCTGC AGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCGCCTGATATATTATATGTC CAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGAG GGTCAGGAACTGATTTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGAG GCTGAAGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAAAGTCTAGAAT ATCCTCTCACGTTCGGAGGGGGGACTAAGCTAAAAATAAAA
144	19C11 VH 核酸	CAGGTTAATCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGAAATTGCAGCC CTCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTC ACTGAGCACTCTTGGTATGGGTGTAGGTTGGATTCGTCAGTC TTCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTTGGTGGG ATGATGATAAGTACTATAACCCAGCCCTGAAGAGTCGGCTCA CAATCTCCAGGGCTACCTCCAAAAACCAGGTTTTCCTCAAGA TCGTCAATGTGGGCACTGCAGATACTGCCACATATTACTGTG CTCGAATCGGGACAGCTCAGGCTACGGATGCTTTGGACTATT GGGGTCAGGGAACCTCAGTCACCGTTTCCTCA
145	19C11 VL 核	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTATCCCTGTCACTC

[0975]

	酸	CTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTC TTCTGCATAGTAATGGCAACACTTATTTGTATTGGTTCCTGCA GAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCGCCTGATATATTATATGTCC AACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGAGG GTCAGGAACTGATTTCACACTGAAAATCAGTAGAGTGGAGG CTGGGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAGGGTCTAGAGC ATCCTCTCACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA
146	16C5 VH 核酸	CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGAATATTGCAGCCC TCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCA CTGAACACTCTTGGTATGGGTGTAGGCTGGATTCGTCAGCCT TCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTTGGTGGGA TGATGATAAGTACTATTACCCAGCCCTGAAGAGTCGGCTCAC AATCTCCAGGGATACCTCCAAAAACCAGGTATTCCTCAAGAT CGCCAATGTGGACACTGCAGATACTGCCACATACTACTGTGC TCGAATCGGGACAGCTCAGGCTACGGATGCTCTGGACTACTG GGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
147	16C5 VL 核酸	GAGCTCGATATGACCCAGACTCCACCCTCCCTGTCTGCATCT GTGGGAGAAACTGTCAGGATTAGGTGCCTGGCCAGTGAGGA CATTTATAGTGGTATATCCTGGTATCAACAGAAGCCAGGGAA ACCTCCTACACTCCTGATCTATGGTGCATCCAATTTAGAATCT GGGGTCCCACCACGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGA TTACACCCTCACCATTGGCGGCGTGCAGGCTGAAGATGCTGC CACCTACTACTGTCTAGGCGGTTATAGTTATAGTAGTACCTTG ACTTTTGGAGCTGGCACCAATGTGGAAATCAAA
148	18C6 VH 核酸	CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCC TCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCA CTGAGCACTGTTGGTATGGGTGTAGGCTGGAGTCGTCAGCCT TCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTTGGTGGGA TGATGAGGATAAGTATTATAACCCAGCCCTGAAGAGTCGGCT CACAATCTCCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTATTCCTCAA GATCGCCAATGTGGACACTGCAGATACTGCCACATACTACTG TACTCGAATCGGGACAGCTCAGGCTACGGATGCTTTGGACTA CTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
149	18C6 VL 核酸	GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACT CCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGT CTTCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTCCTGC AGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCGCCTGATATATTATATGTC CAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGAG GGTCAGGAACTGATTTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGAG GCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAAAGTCTAGAAT ATCCTCTCACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA
150	成熟人 MUC16 氨基酸序列	DKTLASPTSSVVGRTTQSLGVMSSALPESTSRGMTHSEQRTSPS LSPQVNGTPSRNYPATSMVSGLSSPRTRTSSTEGNFTKEASTYTL TVETTSGPVTEKYTVPTETSTTEGDSTETPWDTRYIPVKITSPM KTFADSTASKENAPVSMTPAETTVTDSHTPGRTNPSFGTLYSSF LDLSPKGTPNSRGETSLELILSTTGYPFSSPEPGSAGHSRISTSAP LSSSASVLDNKISETSIFSGQSLTSPLSPGVPEARASTMPNSAIPF SMTLSNAETSAERVRSTISSLGTPSISTKQTAETILTFHAFAETMD IPSTHIAKTLASEWLGSPGTLGGTSTSALTTTSPSTTLVSEETNT HHSTSGKETEGTLNTSMTPLETSAPGEESEMTATLVPTLGFTTL DSKIRSPSQVSSSHPTRELRTTGSTSGRQSSSTAAHGSSDILRATT

[0976]

		SSTSKASSWTSESTAQQFSEPQHTQWVETSPSMKTERPPASTSV AAPITTSVPSVVSGFTTLKTSSTKGIWLEETSADTLIGESTAGPT THQFAVPTGISMTGGSSTRGSQGTTHLLTRATASSETSADLTLAT NGVPVSVSPAVSKTAAGSSPPGGTKPSYTMVSSVIPETSSLQSSA FREGTSLGLTPLNTRHPFSSPEPDSAGHTKISTSIPLLSSASVLED KVSATSTFSHHKATSSITTGTPEISTKTKPSSAVLSSMTLSNAATS PERVRNATSPLTHPSPSGEETAGSVLTLSTSAETTDSPNIHPTGTL TSESSESPSTLSLPSVSGVKTTFSSSTPSTHLFTSGEETEETSNPS VSQPETSVSRVRTTLASTSVPTPVFPTMDTWPTRSAQFSSSHLV SELRATSSTSVTNSTGSALPKISHLTGTATMSQTNRDTFNDSAAP QSTTWPETSPRFKTGLPSATTTVSTSATSLSATVMVSKFTSPATS SMEATSIREPSTTILTTETTNGPGSMAVASTNIPIGKGYITEGRLD TSHLPIGTTASSETSMDFTMAKESVSMSVSPSQSMDAAGSSTPG RTSQFVDTFSDDVYHLTSREITIPRDGTSSALTPQMTATHPPSPD PGSARSTWLGILSSSPSSPTPKVTMSSTFSTQRVTTSMIMDTVET SRWNMPNLPSTTSLTPSNIPTSGAIGKSTLVPLDTPSPATSLEASE GGLPTLSTYPESTNTPSIHLGAHASSESPSTIKLTMASVVKPGSY TPLTFPSIETHIHVSTARMAYSSGSSPEMTAPGETNTGSTWDPTT YITTTDPKDTSSAQVSTPHSVRTLRTTENHPKTESATPAAYSGSP KISSSPNLTSPATKAWTITDTTEHSTQLHYTKLAEKSSGFETQSA PGPVSVVIPTSPTIGSSTLELTSDVPGEPLVLAPSEQTTITLPMAT WLSTSLTEEMASTDLDISSPSSPMSTFAIFPPMSTPSHELSKSEA DTSAIRNTDSTTLDQHLGIRSLGRTGDLTTVPITPLTTTWTSVIE HSTQAQDTLSATMSPTHVTQSLKDQTSIPASASPSHLTEVYPEL GTQGRSSSEATTFWKPSTDTLSREIETGPTNIQSTPPMDNTTTGS SSSGVTLGIAHLPIGTSSPAETSTNMALERRSSTATVSMAGTMG LLVTSAPGRSISQSLGRVSSVLSESTTEGVTDSSKGSSPRLNTQG NTALSSSLEPSYAEGSQMSTSIPLTSSPTTPDVEFIGGSTFWTKEV TTVMTSDISKSSARTESSSATLMSTALGSTENTGKEKLRTASMD LPSPTPSMEVTPWISLTLSNAPNTTDSLDLSHGVHTSSAGTLAT DRSLNTGVTRASRLENGSDTSSKSLSMGNSTHTSMTYTEKSEV SSSIHPRPETSAPGAETTLTSTPGNRAISLTLPFSSIPVEEVISTGIT SGPDINSAPMTHSPITPPTIVWTSTGTIEQSTQPLHAVSSEKVSV QTQSTPYVNSVAVSASPTHENSVSSGSSTSSPYSSASLESLDSTIS RRNAITSWLWDLTTSLPTTTWPSTSLSEALSSGHSGVSNPSSTT TEFPLFSAASTSAAKQRNPETETHGPQNTAASTLNTDASSVTGL SETPVGASISSEVPLPMAITSRSDVSGLTSESTANPSLGTASSAGT KLTRTISLPTSESLVSFRMNKDPWTVSIPLGSHPTTNTETSIPVNS AGPPGLSTVASDVIDTPSDGAESIPTVSFSPSPDTEVTTISHFPEK TTHSFRTISSLTHELTSRVTPIPGDWMSSAMSTKPTGASPSITLGE RRTITSAAPTTSPIVLTASFTETSTVSLDNETTVKTSDILDARKTN ELPSDSSSSSDLINTSIASSTMDVTKTASISPTSISGMTASSSPSLF SSDRPQVPTSTTETNTATSPSVSSNTYSLDGGSNVGGTPSTLPPF TITHPVETSSALLAWSRPVRTFSTMVSTDTASGENPTSSNSVVT SVPAPGTWTSVGSTTDLPAMGFLKTSPAGEAHSLLASTIEPATAF TPHLSAAVVTGSSATSEASLLTTSESKAIHSSPQTPTTPTSGANW ETSATPESLLVVTETSDTTLTSKILVTDTILFSTVSTPPSKFPSTGT LSGASFPTLLPDTPAIPLTATEPTSSLATSFDSTPLVTIASDSLGTV PETTLTMSETSNGDALVLKTVSNPDRSIPGITIQGVTESPLHPSST SPSKIVAPRNTTYEGSITVALSTLPAGTTGSLVFSQSSENSETTAL VDSSAGLERASVMPLTTGSQGMASSGGIRSGSTHSTGTKTFSSL

[0977]

		PLTMNPGEVTAMSEITTNRLTATQSTAPKGIPVKPTSAESGLLTP VSASSSPSKAFASLTTAPPTWGIPQSTLTFEFSEVPSLDTKSASLP TPGQSLNTIPDSDASTASSSLSKSPEKNPRARMMTSTKAISASSF QSTGFTETPEGSASPSMAGHEPRVPTSGTGDPRYASESMSYPDP SKASSAMTSTSLASKLTTLFSTGQAARSGSSSSPISLSTEKETSFL SPTASTSRKTSLFLGPSMARQPNILVHLQTSALTLSPTSTLNMSQ EEPPELTSSQTIAEEEGTTAETQTLTFTPSETPTSLLPVSSPTEPTA RRKSSPETWASSISVPAKTSLVETTDGTLVTTIKMSSQAAQGNS TWPAPAEETGSSPAGTSPGSPEMSTTLKIMSSKEPSISPEIRSTVR NSPWKTPETTVPMETTVEPVTLQSTALGSGSTSISHLPTGTTSPT KSPTENMLATERVSLSPSPPEAWTNLYSGTPGGTRQSLATMSSV SLESPTARSITGTGQQSSPELVSKTTGMEFSMWHGSTGGTTGDT HVSLSTSSNILEDPVTSPNSVSSLTDKSKHKTETWVSTTAIPSTV LNNKIMAAEQQTSRSVDEAYSSTSSWSDQTSGSDITLGASPDV TNTLYITSTAQTTSLVSLPSGDQGITSLTNPSGGKTSSASSVTSPS IGLETLRANVSAVKSDIAPTAGHLSQTSSPAEVSILDVTTAPTPGI STTITTMGTNSISTTTPNPEVGMSTMDSTPATERRTTSTEHPSTW SSTAASDSWTVTDMTSNLKVARSPGTISTMHTTSFLASSTELDS MSTPHGRITVIGTSLVTPSSDASAVKTETSTSERTLSPSDTTASTP ISTFSRVQRMSISVPDILSTSWTPSSTEAEDVPVSMVSTDHASTK TDPNTPLSTFLFDSLSTLDWDTGRSLSSATATTSAPQGATTPQEL TLETMISPATSQLPFSIGHITSAVTPAAMARSSGVTFSRPDPTSKK AEQTSTQLPTTTSAHPGQVPRSAATTLDVIPHTAKTPDATFQRQ GQTALTTEARATSDSWNEKEKSTPSAPWITEMMNSVSEDTIKE VTSSSSVLRTLNTLDINLESGTTSSPSWKSSPYERIAPSESTTDKE AIHPSTNTVETTGWVTSSEHASHSTIPAHSASSKLTSPVVTTSTR EQAIVSMSTTTWPESTRARTEPNSFLTIELRDVSPYMDTSSTTQ TSIISSPGSTAITKGPRTEITSSKRISSSFLAQSMRSSDSPSEAITRL SNFPAMTESGGMILAMQTSPPGATSLSAPTLDTSATASWTGTPL ATTQRFTYSEKTTLFSKGPEDTSQPSPPSVEETSSSSSLVPIHATT SPSNILLTSQGHSPSSTPPVTSVFLSETSGLGKTTDMSRISLEPGT SLPPNLSSTAGEALSTYEASRDTKAIHHSADTAVTNMEATSSEY SPIPGHTKPSKATSPLVTSHIMGDITSSTSVFGSSETTEIETVSSV NQGLQERSTSQVASSATETSTVITHVSSGDATTHVTKTQATFSS GTSISSPHQFITSTNTFTDVSTNPSTSLIMTESSGVTITTQTGPTG AATQGPYLLDTSTMPYLTETPLAVTPDFMQSEKTTLISKGPKDV SWTSPPSVAETSYPSSLTPFLVTTIPPATSTLQGQHTSSPVSATSVL TSGLVKTTDMLNTSMEPVTNSPQNLNNPSNEILATLAATTDIETI HPSINKAVTNMGTASSAHVLHSTLPVSSEPSTATSPMVPASSMG DALASISIPGSETTDIEGEPTSSLTAGRKENSTLQEMNSTTESNII LSNVSVGAITEATKMEVPSFDATFIPTPAQSTKFPDIFSVASSRLS NSPPMTISTHMTTTQTGSSGATSKIPLALDTSTLETSAGTPSVVT EGFAHSKITTAMNNDVKDVSQTNPPFQDEASSPSSQAPVLVTTL PSSVAFTPQWHSTSSPVSMSSVLTSSLVKTAGKVDTSLETVTSSP QSMSNTLDDISVTSAATTDIETTHPSINTVVTNVGTTGSAFESHS TVSAYPEPSKVTSPNVTTSTMEDTTISRSIPKSSKTTRTETETTSS LTPKLRETSISQEITSSTETSTVPYKELTGATTEVSRTDVTSSSSTS FPGPDQSTVSLDISTETNTRLSTSPIMTESAEITITTQTGPHGATS QDTFTMDPSNTTPQAGIHSAMTHGFSQLDVTTLMSRIPQDVSW TSPPSVDKTSSPSSFLSSPAMTTPSLISSTLPEDKLSSPMTSLLTSG LVKITDILRTRLEPVTSSLPNFSSTSDKILATSKDSKDTKEIFPSIN

[0978]

		TEETNVKANNSGHESHSPALADSETPKATTQMVITTTVGDPAPS TSMPVHGSSETTNIKREPTYFLTPRLRETSTSQESSFPTDTSFLLS KVPTGTITEVSSTGVNSSSKISTPDHDKSTVPPDTFTGEIPRVFTS SIKTKSAEMTITTQASPPESASHSTLPLDTSTTLSQGGTHSTVTQ GFPYSEVTTLMGMGPGNVSWMTTPPVEETSSVSSLMSSPAMTS PSPVSSTSPQSIPSSPLPVTALPTSVLVTTTDVLGTTSPESVTSSPP NLSSITHERPATYKDTAHTEAAMHHSTNTAVTNVGTSGSGHKS QSSVLADSETSKATPLMSTTSTLGDTSVSTSTPNISQTNQIQTEP TASLSPRLRESSTSEKTSSTTETNTAFSYVPTGAITQASRTEISSS RTSISDLDRPTIAPDISTGMITRLFTSPIMTKSAEMTVTTQTTTPG ATSQGILPWDTSTTLFQGGTHSTVSQGFPHSEITTLRSRTPGDVS WMTTPPVEETSSGFSLMSPSMTSPSPVSSTSPESIPSSPLPVTALL TSVLVTTTNVLGTTSPEPVTSSPPNLSSPTQERLTTYKDTAHTEA MHASMHTNTAVANVGTSISGHESQSSVPADSHTSKATSPMGITF AMGDTSVSTSTPAFFETRIQTESTSSLIPGLRDTRTSEEINTVTET STVLSEVPTTTTTEVSRTEVITSSRTTISGPDHSKMSPYISTETITR LSTFPFVTGSTEMAITNQTGPIGTISQATLTLDTSSTASWEGTHS PVTQRFPHSEETTTMSRSTKGVSWQSPPSVEETSSPSSPVPLPAI TSHSSLYSAVSGSSPTSALPVTSLLTSGRRKTIDMLDTHSELVTS SLPSASSFSGEILTSEASTNTETIHFSENTAETNMGTTNSMHKLH SSVSIHSQPSGHTPPKVTGSMMEDAIVSTSTPGSPETKNVDRDS TSPLTPELKEDSTALVMNSTTESNTVFSSVSLDAATEVSRAEVT YYDPTFMPASAQSTKSPDISPEASSSHSNSPPLTISTHKTIATQTG PSGVTSLGQLTLDTSTIATSAGTPSARTQDFVDSETTSVMNNDL NDVLKTSPFSAEEANSLSSQAPLLVTTSPSPVTSTLQEHSTSSLV SVTSVPTPTLAKITDMDTNLEPVTRSPQNLRNTLATSEATTDTH TMHPSINTAVANVGTTSSPNEFYFTVSPDSDPYKATSAVVITSTS GDSIVSTSMPRSSAMKKIESETTFSLIFRLRETSTSQKIGSSSDTS TVFDKAFTAATTEVSRTELTSSSRTSIQGTEKPTMSPDTSTRSVT MLSTFAGLTKSEERTIATQTGPHRATSQGTLTWDTSITTSQAGT HSAMTHGFSQLDLSTLTSRVPEYISGTSPPSVEKTSSSSSLLSLPA ITSPSPVPTTLPESRPSSPVHLTSLPTSGLVKTTDMLASVASLPPN LGSTSHKIPTTSEDIKDTEKMYPSTNIAVTNVGTTTSEKESYSSV PAYSEPPKVTSPMVTSFNIRDTIVSTSMPGSSEITRIEMESTFSLA HGLKGTSTSQDPIVSTEKSAVLHKLTTGATETSRTEVASSRRTSI PGPDHSTESPDISTEVIPSLPISLGITESSNMTIITRTGPPLGSTSQG TFTLDTPTTSSRAGTHSMATQEFPHSEMTTVMNKDPEILSWTIP PSIEKTSFSSSLMPSPAMTSPPVSSTLPKTIHTTPSPMTSLLTPSLV MTTDTLGTSPEPTTSSPPNLSSTSHEILTTDEDTTAIEAMHPSTST AATNVETTSSGHGSQSSVLADSEKTKATAPMDTTSTMGHTTVS TSMSVSSETTKIKRESTYSLTPGLRETSISQNASFSTDTSIVLSEV PTGTTAEVSRTEVTSSGRTSIPGPSQSTVLPEISTRTMTRLFASPT MTESAEMTIPTQTGPSGSTSQDTLTLDTSTTKSQAKTHSTLTQR FPHSEMTTLMSRGPGDMSWQSSPSLENPSSLPSLLSLPATTSPPP ISSTLPVTISSSPLPVTSLLTSSPVTTTDMLHTSPELVTSSPPKLSH TSDERLTTGKDTTNTEAVHPSTNTAASNVEIPSSGHESPSSALA DSETSKATSPMFITSTQEDTTVAISTPHFLETSRIQKESISSLSPKL RETGSSVETSSAIETSAVLSEVSIGATTEISRTEVTSSSRTSISGSA ESTMLPEISTTRKIIKFPTSPILAESSEMTIKTQTSPPGSTSESTFTL DTSTTPSLVITHSTMTQRLPHSEITTLVSRGAGDVPRPSSLPVEE TSPPSSQLSLSAMISPSPVSSTLPASSHSSSASVTSLLTPGQVKTT

[0979]

		EVLDASAEPETSSPPSLSSTSVEILATSEVTTDTEKIHPFSNTAVT KVGTSSSGHESPSSVLPDSETTKATSAMGTISIMGDTSVSTLTPA LSNTRKIQSEPASSLTTRLRETSTSEETSLATEANTVLSKVSTGA TTEVSRTEAISFSRTSMSGPEQSTMSQDISIGTIPRISASSVLTESA KMTITTQTGPSESTLESTLNLNTATTPSWVETHSIVIQGFPHPEM TTSMGRGPGGVSWPSPPFVKETSPPSSPLSLPAVTSPHPVSTTFL AHIPPSPLPVTSLLTSGPATTTDILGTSTEPGTSSSSSLSTTSHERL TTYKDTAHTEAVHPSTNTGGTNVATTSSGYKSQSSVLADSSPM CTTSTMGDTSVLTSTPAFLETRRIQTELASSLTPGLRESSGSEGT SSGTKMSTVLSKVPTGATTEISKEDVTSIPGPAQSTISPDISTRTV SWFSTSPVMTESAEITMNTHTSPLGATTQGTSTLDTSSTTSLTM THSTISQGFSHSQMSTLMRRGPEDVSWMSPPLLEKTRPSFSLMS SPATTSPSPVSSTLPESISSSPLPVTSLLTSGLAKTTDMLHKSSEP VTNSPANLSSTSVEILATSEVTTDTEKTHPSSNRTVTDVGTSSSG HESTSFVLADSQTSKVTSPMVITSTMEDTSVSTSTPGFFETSRIQ TEPTSSLTLGLRKTSSSEGTSLATEMSTVLSGVPTGATAEVSRTE VTSSSRTSISGFAQLTVSPETSTETITRLPTSSIMTESAEMMIKTQ TDPPGSTPESTHTVDISTTPNWVETHSTVTQRFSHSEMTTLVSR SPGDMLWPSQSSVEETSSASSLLSLPATTSPSPVSSTLVEDFPSAS LPVTSLLNPGLVITTDRMGISREPGTSSTSNLSSTSHERLTTLEDT VDTEDMQPSTHTAVTNVRTSISGHESQSSVLSDSETPKATSPMG TTYTMGETSVSISTSDFFETSRIQIEPTSSLTSGLRETSSSERISSA TEGSTVLSEVPSGATTEVSRTEVISSRGTSMSGPDQFTISPDISTE AITRLSTSPIMTESAESAITIETGSPGATSEGTLTLDTSTTTFWSG THSTASPGFSHSEMTTLMSRTPGDVPWPSLPSVEEASSVSSSLSS PAMTSTSFFSTLPESISSSPHPVTALLTLGPVKTTDMLRTSSEPET SSPPNLSSTSAEILATSEVTKDREKIHPSSNTPVVNVGTVIYKHL SPSSVLADLVTTKPTSPMATTSTLGNTSVSTSTPAFPETMMTQP TSSLTSGLREISTSQETSSATERSASLSGMPTGATTKVSRTEALSL GRTSTPGPAQSTISPEISTETITRISTPLTTTGSAEMTITPKTGHSG ASSQGTFTLDTSSRASWPGTHSAATHRSPHSGMTTPMSRGPED VSWPSRPSVEKTSPPSSLVSLSAVTSPSPLYSTPSESSHSSPLRVT SLFTPVMMKTTDMLDTSLEPVTTSPPSMNITSDESLATSKATME TEAIQLSENTAVTQMGTISARQEFYSSYPGLPEPSKVTSPVVTSS TIKDIVSTTIPASSEITRIEMESTSTLTPTPRETSTSQEIHSATKPST VPYKALTSATIEDSMTQVMSSSRGPSPDQSTMSQDISTEVITRLS TSPIKTESTEMTITTQTGSPGATSRGTLTLDTSTTFMSGTHSTAS QGFSHSQMTALMSRTPGDVPWLSHPSVEEASSASFSLSSPVMT SSSPVSSTLPDSIHSSSLPVTSLLTSGLVKTTELLGTSSEPETSSPP NLSSTSAEILAITEVTTDTEKLEMTNVVTSGYTHESPSSVLADS VTTKATSSMGITYPTGDTNVLTSTPAFSDTSRIQTKSKLSLTPGL METSISEETSSATEKSTVLSSVPTGATTEVSRTEAISSSRTSIPGPA QSTMSSDTSMETITRISTPLTRKESTDMAITPKTGPSGATSQGTF TLDSSSTASWPGTHSATTQRFPQSVVTTPMSRGPEDVSWPSPLS VEKNSPPSSLVSSSSVTSPSPLYSTPSGSSHSSPVPVTSLFTSIMM KATDMLDASLEPETTSAPNMNITSDESLAASKATTETEAIHVFE NTAASHVETTSATEELYSSSPGFSEPTKVISPVVTSSSIRDNMVS TTMPGSSGITRIEIESMSSLTPGLRETRTSQDITSSTETSTVLYKM PSGATPEVSRTEVMPSSRTSIPGPAQSTMSLDISDEVVTRLSTSPI MTESAEITITTQTGYSLATSQVTLPLGTSMTFLSGTHSTMSQGL SHSEMTNLMSRGPESLSWTSPRFVETTRSSSSLTSLPLTTSLSPV

[0980]

		SSTLLDSSPSSPLPVTSLILPGLVKTTEVLDTSSEPKTSSSPNLSST SVEIPATSEIMTDTEKIHPSSNTAVAKVRTSSSVHESHSSVLADSE TTITIPSMGITSAVDDTTVFTSNPAFSETRRIPTEPTFSLTPGFRET STSEETTSITETSAVLYGVPTSATTEVSMTEIMSSNRIHIPDSDQS TMSPDIITEVITRLSSSSMMSESTQMTITTQKSSPGATAQSTLTLA TTTAPLARTHSTVPPRFLHSEMTTLMSRSPENPSWKSSLFVEKT SSSSSLLSLPVTTSPSVSSTLPQSIPSSSFSVTSLLTPGMVKTTDTS TEPGTSLSPNLSGTSVEILAASEVTTDTEKIHPSSSMAVTNVGTT SSGHELYSSVSIHSEPSKATYPVGTPSSMAETSISTSMPANFETT GFEAEPFSHLTSGFRKTNMSLDTSSVTPTNTPSSPGSTHLLQSSK TDFTSSAKTSSPDWPPASQYTEIPVDIITPFNASPSITESTGITSFP ESRFTMSVTESTHHLSTDLLPSAETISTGTVMPSLSEAMTSFATT GVPRAISGSGSPFSRTESGPGDATLSTIAESLPSSTPVPFSSSTFTT TDSSTIPALHEITSSSATPYRVDTSLGTESSTTEGRLVMVSTLDTS SQPGRTSSSPILDTRMTESVELGTVTSAYQVPSLSTRLTRTDGIM EHITKIPNEAAHRGTIRPVKGPQTSTSPASPKGLHTGGTKRMET TTTALKTTTTALKTTSRATLTTSVYTPTLGTLTPLNASMQMAST IPTEMMITTPYVFPDVPETTSSLATSLGAETSTALPRTTPSVFNR ESETTASLVSRSGAERSPVIQTLDVSSSEPDTTASWVIHPAETIPT VSKTTPNFFHSELDTVSSTATSHGADVSSAIPTNISPSELDALTPL VTISGTDTSTTFPTLTKSPHETETRTTWLTHPAETSSTIPRTIPNFS HHESDATPSIATSPGAETSSAIPIMTVSPGAEDLVTSQVTSSGTD RNMTIPTLTLSPGEPKTIASLVTHPEAQTSSAIPTSTISPAVSRLVT SMVTSLAAKTSTTNRALTNSPGEPATTVSLVTHPAQTSPTVPWT TSIFFHSKSDTTPSMTTSHGAESSSAVPTPTVSTEVPGVVTPLVT SSRAVISTTIPILTLSPGEPETTPSMATSHGEEASSAIPTPTVSPGV PGVVTSLVTSSRAVTSTTIPILTFSLGEPETTPSMATSHGTEAGSA VPTVLPEVPGMVTSLVASSRAVTSTTLPTLTLSPGEPETTPSMAT SHGAEASSTVPTVSPEVPGVVTSLVTSSSGVNSTSIPTLILSPGEL ETTPSMATSHGAEASSAVPTPTVSPGVSGVVTPLVTSSRAVTST TIPILTLSSSEPETTPSMATSHGVEASSAVLTVSPEVPGMVTSLVT SSRAVTSTTIPTLTISSDEPETTTSLVTHSEAKMISAIPTLAVSPTV QGLVTSLVTSSGSETSAFSNLTVASSQPETIDSWVAHPGTEASSV VPTLTVSTGEPFTNISLVTHPAESSSTLPRTTSRFSHSELDTMPST VTSPEAESSSAISTTISPGIPGVLTSLVTSSGRDISATFPTVPESPHE SEATASWVTHPAVTSTTVPRTTPNYSHSEPDTTPSIATSPGAEAT SDFPTITVSPDVPDMVTSQVTSSGTDTSITIPTLTLSSGEPETTTS FITYSETHTSSAIPTLPVSPGASKMLTSLVISSGTDSTTTFPTLTET PYEPETTAIQLIHPAETNTMVPRTTPKFSHSKSDTTLPVAITSPGP EASSAVSTTTISPDMSDLVTSLVPSSGTDTSTTFPTLSETPYEPET TATWLTHPAETSTTVSGTIPNFSHRGSDTAPSMVTSPGVDTRSG VPTTTIPPSIPGVVTSQVTSSATDTSTAIPTLTPSPGEPETTASSAT HPGTQTGFTVPIRTVPSSEPDTMASWVTHPPQTSTPVSRTTSSFS HSSPDATPVMATSPRTEASSAVLTTISPGAPEMVTSQITSSGAAT STTVPTLTHSPGMPETTALLSTHPRTETSKTFPASTVFPQVSETT ASLTIRPGAETSTALPTQTTSSLFTLLVTGTSRVDLSPTASPGVSA KTAPLSTHPGTETSTMIPTSTLSLGLLETTGLLATSSSAETSTSTL TLTVSPAVSGLSSASITTDKPQTVTSWNTETSPSVTSVGPPEFSR TVTGTTMTLIPSEMPTPPKTSHGEGVSPTTILRTTMVEATNLATT GSSPTVAKTTTTFNTLAGSLFTPLTTPGMSTLASESVTSRTSYNH RSWISTTSSYNRRYWTPATSTPVTSTFSPGISTSSIPSSTAATVPF

[0981]

		MVPFTLNFTITNLQYEEDMRHPGSRKFNATERELQGLLKPLFR NSSLEYLYSGCRLASLRPEKDSSATAVDAICTHRPDPEDLGLDR ERLYWELSNLTNGIQELGPYTLDRNSLYVNGFTHRSSMPTTSTP GTSTVDVGTSGTPSSSPSPTTAGPLLMPFTLNFTITNLQYEEDM RRTGSRKFNTMESVLQGLLKPLFKNTSVGPLYSGCRLTLLRPEK DGAATGVDAICTHRLDPKSPGLNREQLYWELSKLTNDIEELGP YTLDRNSLYVNGFTHQSSVSTTSTPGTSTVDLRTSGTPSSLSSPT IMAAGPLLVPFTLNFTITNLQYGEDMGHPGSRKFNTTERVLQG LLGPIFKNTSVGPLYSGCRLTSLRSEKDGAATGVDAICIHHLDP KSPGLNRERLYWELSQLTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHRTS VPTSSTPGTSTVDLGTSGTPFSLPSPATAGPLLVLFTLNFTITNLK YEEDMHRPGSRKFNTTERVLQTLLGPMFKNTSVGLLYSGCRLT LLRSEKDGAATGVDAICTHRLDPKSPGVDREQLYWELSQLTNG IKELGPYTLDRNSLYVNGFTHWIPVPTSSTPGTSTVDLGSGTPSS LPSPTTAGPLLVPFTLNFTITNLKYEEDMHCPGSRKFNTTERVL QSLLGPMFKNTSVGPLYSGCRLTLLRSEKDGAATGVDAICTHR LDPKSPGVDREQLYWELSQLTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFT HQTSAPNTSTPGTSTVDLGTSGTPSSLPSPTSAGPLLVPFTLNFTI TNLQYEEDMHHPGSRKFNTTERVLQGLLGPMFKNTSVGLLYS GCRLTLLRPEKNGAATGMDAICSHRLDPKSPGLNREQLYWELS QLTHGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHRSSVAPTSTPGTSTVDLG TSGTPSSLPSPTTAVPLLVPFTLNFTITNLQYGEDMRHPGSRKFN TTERVLQGLLGPLFKNSSVGPLYSGCRLISLRSEKDGAATGVDA ICTHHLNPQSPGLDREQLYWQLSQMTNGIKELGPYTLDRNSLY VNGFTHRSSGLTTSTPWTSTVDLGTSGTPSPVPSPTTTGPLLVPF TLNFTITNLQYEENMGHPGSRKFNITESVLQGLLKPLFKSTSVG PLYSGCRLTLLRPEKDGVATRVDAICTHRPDPKIPGLDRQQLYW ELSQLTHSITELGPYTLDRDSLYVNGFTQRSSVPTTSTPGTFTVQ PETSETPSSLPGPTATGPVLLPFTLNFTITNLQYEEDMRRPGSRK FNTTERVLQGLLMPLFKNTSVSSLYSGCRLTLLRPEKDGAATRV DAVCTHRPDPKSPGLDRERLYWKLSQLTHGITELGPYTLDRHSL YVNGFTHQSSMTTTRTPDTSTMHLATSRTPASLSGPMTASPLLV LFTINFTITNLRYEENMHHPGSRKFNTTERVLQGLLRPVFKNTS VGPLYSGCRLTLLRPKKDGAATKVDAICTYRPDPKSPGLDREQ LYWELSQLTHSITELGPYTLDRDSLYVNGFTQRSSVPTTSIPGTP TVDLGTSGTPVSKPGPSAASPLLVLFTLNFTITNLRYEENMQHP GSRKFNTTERVLQGLLRSLFKSTSVGPLYSGCRLTLLRPEKDGT ATGVDAICTHHPDPKSPRLDREQLYWELSQLTHNITELGPYALD NDSLFVNGFTHRSSVSTTSTPGTPTVYLGASKTPASIFGPSAASH LLILFTLNFTITNLRYEENMWPGSRKFNTTERVLQGLLRPLFKN TSVGPLYSGCRLTLLRPEKDGEATGVDAICTHRPDPTGPGLDRE QLYLELSQLTHSITELGPYTLDRDSLYVNGFTHRSSVPTTSTGV VSEEPFTLNFTINNLRYMADMGQPGSLKFNITDNVMQHLLSPL FQRSSLGARYTGCRVIALRSVKNGAETRVDLLCTYLQPLSGPG LPIKQVFHELSQQTHGITRLGPYSLDKDSLYLNGYNEPGPDEPP TTPKPATTFLPPLSEATTAMGYHLKTLTLNFTISNLQYSPDMGK GSATFNSTEGVLQHLLRPLFQKSSMGPFYLGCQLISLRPEKDGA ATGVDTTCTYHPDPVGPGLDIQQLYWELSQLTHGVTQLGFYVL DRDSLFINGYAPQNLSIRGEYQINFHIVNWNLSNPDPTSSEYITL LRDIQDKVTTLYKGSQLHDTFRFCLVTNLTMDSVLVTVKALFS SNLDPSLVEQVFLDKTLNASFHWLGSTYQLVDIHVTEMESSVY

[0982]

		QPTSSSSTQHFYLNFTITNLPYSQDKAQPGTTNYQRNKRNIEDA LNQLFRNSSIKSYFSDCQVSTFRVPNRHHTGVDSLCNFSPLARR VDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPL TGNSDLPFWAVILIGLAGLLGVITCLICGVLVTTRRRKKEGEYN VQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
151	MUC16c114-N1	AFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRR KKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
152	MUC16c114-N2	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRAGTQLQNFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRR KKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
153	MUC16c114-N12	AFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRAGTQLQNFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRR KKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
154	MUC16c114-N123	AFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRAGTQLQAFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRR KKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
155	MUC16c344 第一串联重复的 N 端	WELSQL
156	MUC16c344 第一串联重复的 C 端	TGVDSLC
157	MUC16c344 胞外域 N 端	NFSPLAR
158	MUC16c344 胞外域 C 端	TGNSDLP
159	跨膜	FWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLV
160	胞质尾区	TTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
161	MUC16c114 胞外域	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLP
162	MUC16c80 胞外域	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMDLP
163	MUC16c86 胞外域	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLP
164	MUC16c86 跨膜	FWAVILIGLAGLLGLITCLICG
165	MUC16c86 胞质	DLEDLQ
166	MUC16 3(N 至 A)c114 胞外域	AFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRAGTQLQAFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLP
167	LGALS3 糖结合域	PYNLPLPGGVVPRMLITILGTVKPNANRIALDFQRGNDVAFHF NPRFNENNRRVIVCNTKLDNNWGREERQSVFPFESGKPFKIQV LVEPDHFKVAVNDAHLLQYNHRVKKLNEISKLGISGDIDLTS
168	MUC16 非糖	CTLDRSSVLVDGYSPNRNE

[0983]

	基化的肽 2	
169	MUC16 无关肽 18-mer	GAVPRSATINVSRIATGP
170	18-mer (无 C)	TRNGTQLQNFTLDRSSV
171	15-mer (无 C)	GTQLQNFTLDRSSV
172	MUC16c114-N23	NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRAGTQLQAFTLDRSSVLVDGY SPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRR KKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
173	N24 mut c344	WELSQLTHGVTQLGFYVLDRDSLFINGYAPQNLSIRGEYQINFH IVNQNLSNPDPTSSEYITLLRDIQDKVTTLYKGSQLHDTFRFCLV TNLTMDSVLVTVKALFSSNLDPSLVEQVFLDKTLNASFHQLGS TYQLVDIHVTEMESSVYQPTSSSSTQHFYLNFTITNLPYSQDKA QPGTTNYQRNKRNIEDALNQLFRNSSIKSYFSDCQVSTFRVPNR HHTGVDSLCNFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRAGTQLQNFTLD RSSVLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLIC GVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
174	N30 mut c344	WELSQLTHGVTQLGFYVLDRDSLFINGYAPQNLSIRGEYQINFH IVNQNLSNPDPTSSEYITLLRDIQDKVTTLYKGSQLHDTFRFCLV TNLTMDSVLVTVKALFSSNLDPSLVEQVFLDKTLNASFHQLGS TYQLVDIHVTEMESSVYQPTSSSSTQHFYLNFTITNLPYSQDKA QPGTTNYQRNKRNIEDALNQLFRNSSIKSYFSDCQVSTFRVPNR HHTGVDSLCNFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQAFTLD RSSVLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLIC GVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ
175	N24-N30 mut c344	WELSQLTHGVTQLGFYVLDRDSLFINGYAPQNLSIRGEYQINFH IVNQNLSNPDPTSSEYITLLRDIQDKVTTLYKGSQLHDTFRFCLV TNLTMDSVLVTVKALFSSNLDPSLVEQVFLDKTLNASFHQLGS TYQLVDIHVTEMESSVYQPTSSSSTQHFYLNFTITNLPYSQDKA QPGTTNYQRNKRNIEDALNQLFRNSSIKSYFSDCQVSTFRVPNR HHTGVDSLCNFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRAGTQLQAFTLD RSSVLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLIC GVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ

[0984] 8.等同

[0985] 在本说明书中引用的所有出版物、专利和专利申请通过引用并入本文，如同每个单独的出版物或专利申请被具体和单独地指示通过引用并入。虽然为了清楚理解的目的，已经通过说明和示例的方式对前述发明进行了一些详细的描述，但是根据本发明的教导，对于本领域的普通技术人员将显而易见的是，可以在不脱离所附权利要求书的精神或范围的情况下做出对其的某些改变和修改。

[0001] 序列表

[0002] <110> 纪念斯隆-凯特林癌症中心

[0003] <120> 抗MUC16抗体及其应用

[0004] <130> 13542-016-228

[0005] <150> 62/134,402

[0006] <151> 2015-03-17

[0007] <160> 175

[0008] <170> FastSEQ for Windows Version 4.0

[0009] <210> 1

[0010] <211> 122

[0011] <212> PRT

[0012] <213> 人工序列

[0013] <220>

[0014] <223> 10C6 VH

[0015] <400> 1

[0016] Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln

[0017] 1 5 10 15

[0018] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Leu

[0019] 20 25 30

[0020] Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu

[0021] 35 40 45

[0022] Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala

[0023] 50 55 60

[0024] Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln Val

[0025] 65 70 75 80

[0026] Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr

[0027] 85 90 95

[0028] Cys Ser Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr Trp

[0029] 100 105 110

[0030] Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

[0031] 115 120

[0032] <210> 2

[0033] <211> 109

[0034] <212> PRT

[0035] <213> 人工序列

[0036] <220>

[0037] <223> 10C6 VL

[0038] <400> 2

[0039] Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

[0040] 1 5 10 15

[0041] Gln Arg Ala Thr Ile Ser Tyr Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

[0042] 20 25 30

[0043] Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

[0044] 35 40 45

[0045] Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala

[0046] 50 55 60

[0047] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His

[0048] 65 70 75 80

[0049] Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ile Arg

[0050] 85 90 95

[0051] Glu Leu Thr Arg Ser Glu Gly Gly Pro Ser Trp Lys Asn

[0052] 100 105

[0053] <210> 3

[0054] <211> 7

[0055] <212> PRT

[0056] <213> 人工序列

[0057] <220>

[0058] <223> 10C6 HCDR1 (KABAT)

[0059] <400> 3

[0060] Thr Leu Gly Met Gly Val Gly

[0061] 1 5

[0062] <210> 4

[0063] <211> 16

[0064] <212> PRT

[0065] <213> 人工序列

[0066] <220>

[0067] <223> 10C6 HCDR2 (KABAT)

[0068] <400> 4

[0069] His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser

[0070] 1 5 10 15

[0071] <210> 5

[0072] <211> 12

[0073] <212> PRT

[0074] <213> 人工序列

[0075] <220>

[0076] <223> 10C6 HCDR3 (KABAT)

[0077] <400> 5

[0078] Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr

[0079] 1 5 10

[0080] <210> 6

[0081] <211> 15

[0082] <212> PRT

[0083] <213> 人工序列

[0084] <220>

[0085] <223> 10C6 LCDR1 (KABAT)

[0086] <400> 6

[0087] Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His

[0088] 1 5 10 15

[0089] <210> 7

[0090] <211> 7

[0091] <212> PRT

[0092] <213> 人工序列

[0093] <220>

[0094] <223> 10C6 LCDR2 (KABAT)

[0095] <400> 7

[0096] Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser

[0097] 1 5

[0098] <210> 8

[0099] <211> 9

[0100] <212> PRT

[0101] <213> 人工序列

[0102] <220>

[0103] <223> 10C6 LCDR3 (KABAT)

[0104] <400> 8

[0105] Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser

[0106] 1 5

[0107] <210> 9

[0108] <211> 9

[0109] <212> PRT

[0110] <213> 人工序列

[0111] <220>

[0112] <223> 10C6 HCDR1 (CHOTHIA)

[0113] <400> 9

[0114] Gly Phe Ser Leu Asn Thr Leu Gly Met

[0115] 1 5

[0116] <210> 10

[0117] <211> 3

[0118] <212> PRT

[0119] <213> 人工序列

[0120] <220>

[0121] <223> 10C6 HCDR2 (CHOTHIA)

[0122] <400> 10

[0123] Trp Asp Asp

[0124] 1

[0125] <210> 11

[0126] <211> 10
[0127] <212> PRT
[0128] <213> 人工序列
[0129] <220>
[0130] <223> 10C6 HCDR3 (CHOTHIA)
[0131] <400> 11
[0132] Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp
[0133] 1 5 10
[0134] <210> 12
[0135] <211> 11
[0136] <212> PRT
[0137] <213> 人工序列
[0138] <220>
[0139] <223> 10C6 LCDR1 (CHOTHIA)
[0140] <400> 12
[0141] Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
[0142] 1 5 10
[0143] <210> 13
[0144] <211> 3
[0145] <212> PRT
[0146] <213> 人工序列
[0147] <220>
[0148] <223> 10C6 LCDR2 (CHOTHIA)
[0149] <400> 13
[0150] Leu Val Ser
[0151] 1
[0152] <210> 14
[0153] <211> 6
[0154] <212> PRT
[0155] <213> 人工序列
[0156] <220>
[0157] <223> 10C6 LCDR3 (CHOTHIA)
[0158] <400> 14
[0159] Ile Arg Glu Leu Thr Arg
[0160] 1 5
[0161] <210> 15
[0162] <211> 10
[0163] <212> PRT
[0164] <213> 人工序列
[0165] <220>
[0166] <223> 10C6 HCDR1 (IMGT)
[0167] <400> 15

[0168] Gly Phe Ser Leu Asn Thr Leu Gly Met Gly
[0169] 1 5 10
[0170] <210> 16
[0171] <211> 7
[0172] <212> PRT
[0173] <213> 人工序列
[0174] <220>
[0175] <223> 10C6 HCDR2 (IMGT)
[0176] <400> 16
[0177] Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys
[0178] 1 5
[0179] <210> 17
[0180] <211> 14
[0181] <212> PRT
[0182] <213> 人工序列
[0183] <220>
[0184] <223> 10C6 HCDR3 (IMGT)
[0185] <400> 17
[0186] Ser Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[0187] 1 5 10
[0188] <210> 18
[0189] <211> 10
[0190] <212> PRT
[0191] <213> 人工序列
[0192] <220>
[0193] <223> 10C6 LCDR1 (IMGT)
[0194] <400> 18
[0195] Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
[0196] 1 5 10
[0197] <210> 19
[0198] <211> 3
[0199] <212> PRT
[0200] <213> 人工序列
[0201] <220>
[0202] <223> 10C6 LCDR2 (IMGT)
[0203] <400> 19
[0204] Leu Val Ser
[0205] 1
[0206] <210> 20
[0207] <211> 9
[0208] <212> PRT
[0209] <213> 人工序列

[0210] <220>
[0211] <223> 10C6 LCDR3 (IMGT)
[0212] <400> 20
[0213] Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser
[0214] 1 5
[0215] <210> 21
[0216] <211> 123
[0217] <212> PRT
[0218] <213> 人工序列
[0219] <220>
[0220] <223> 7B12 VH
[0221] <400> 21
[0222] Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
[0223] 1 5 10 15
[0224] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Val
[0225] 20 25 30
[0226] Gly Met Gly Val Gly Trp Ser Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
[0227] 35 40 45
[0228] Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Glu Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro
[0229] 50 55 60
[0230] Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln
[0231] 65 70 75 80
[0232] Val Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Ser Ala Thr Tyr
[0233] 85 90 95
[0234] Tyr Cys Thr Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[0235] 100 105 110
[0236] Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[0237] 115 120
[0238] <210> 22
[0239] <211> 112
[0240] <212> PRT
[0241] <213> 人工序列
[0242] <220>
[0243] <223> 7B12 VL
[0244] <400> 22
[0245] Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Ser Val Thr Pro Gly
[0246] 1 5 10 15
[0247] Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Arg Lys Ser
[0248] 20 25 30
[0249] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
[0250] 35 40 45
[0251] Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro

[0252] 50 55 60

[0253] Asp Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile

[0254] 65 70 75 80

[0255] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser

[0256] 85 90 95

[0257] Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Lys Ile Lys

[0258] 100 105 110

[0259] <210> 23

[0260] <211> 7

[0261] <212> PRT

[0262] <213> 人工序列

[0263] <220>

[0264] <223> 7B12 HCDR1 (KABAT)

[0265] <400> 23

[0266] Thr Val Gly Met Gly Val Gly

[0267] 1 5

[0268] <210> 24

[0269] <211> 17

[0270] <212> PRT

[0271] <213> 人工序列

[0272] <220>

[0273] <223> 7B12 HCDR2 (KABAT)

[0274] <400> 24

[0275] His Ile Trp Trp Asp Asp Glu Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys

[0276] 1 5 10 15

[0277] Ser

[0278] <210> 25

[0279] <211> 12

[0280] <212> PRT

[0281] <213> 人工序列

[0282] <220>

[0283] <223> 7B12 HCDR3 (KABAT)

[0284] <400> 25

[0285] Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr

[0286] 1 5 10

[0287] <210> 26

[0288] <211> 16

[0289] <212> PRT

[0290] <213> 人工序列

[0291] <220>

[0292] <223> 7B12 LCDR1 (KABAT)

[0293] <400> 26

[0294] Arg Ser Ser Lys Ser Leu Arg Lys Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr

[0295] 1 5 10 15

[0296] <210> 27

[0297] <211> 7

[0298] <212> PRT

[0299] <213> 人工序列

[0300] <220>

[0301] <223> 7B12 LCDR2 (KABAT)

[0302] <400> 27

[0303] Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser

[0304] 1 5

[0305] <210> 28

[0306] <211> 9

[0307] <212> PRT

[0308] <213> 人工序列

[0309] <220>

[0310] <223> 7B12 LCDR3 (KABAT)

[0311] <400> 28

[0312] Met Gln Ser Leu Glu Tyr Pro Leu Thr

[0313] 1 5

[0314] <210> 29

[0315] <211> 9

[0316] <212> PRT

[0317] <213> 人工序列

[0318] <220>

[0319] <223> 7B12 HCDR1 (CHOTHIA)

[0320] <400> 29

[0321] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Val Gly Met

[0322] 1 5

[0323] <210> 30

[0324] <211> 4

[0325] <212> PRT

[0326] <213> 人工序列

[0327] <220>

[0328] <223> 7B12 HCDR2 (CHOTHIA)

[0329] <400> 30

[0330] Trp Asp Asp Glu

[0331] 1

[0332] <210> 31

[0333] <211> 10

[0334] <212> PRT

[0335] <213> 人工序列

[0336] <220>

[0337] <223> 7B12 HCDR3 (CHOTHIA)

[0338] <400> 31

[0339] Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp

[0340] 1 5 10

[0341] <210> 32

[0342] <211> 12

[0343] <212> PRT

[0344] <213> 人工序列

[0345] <220>

[0346] <223> 7B12 LCDR1 (CHOTHIA)

[0347] <400> 32

[0348] Ser Lys Ser Leu Arg Lys Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

[0349] 1 5 10

[0350] <210> 33

[0351] <211> 3

[0352] <212> PRT

[0353] <213> 人工序列

[0354] <220>

[0355] <223> 7B12 LCDR2 (CHOTHIA)

[0356] <400> 33

[0357] Tyr Met Ser

[0358] 1

[0359] <210> 34

[0360] <211> 6

[0361] <212> PRT

[0362] <213> 人工序列

[0363] <220>

[0364] <223> 7B12 LCDR3 (CHOTHIA)

[0365] <400> 34

[0366] Ser Leu Glu Tyr Pro Leu

[0367] 1 5

[0368] <210> 35

[0369] <211> 10

[0370] <212> PRT

[0371] <213> 人工序列

[0372] <220>

[0373] <223> 7B12 HCDR1 (IMGT)

[0374] <400> 35

[0375] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Val Gly Met Gly

[0376] 1 5 10

[0377] <210> 36

[0378] <211> 8
[0379] <212> PRT
[0380] <213> 人工序列
[0381] <220>
[0382] <223> 7B12 HCDR2 (IMGT)
[0383] <400> 36
[0384] Ile Trp Trp Asp Asp Glu Asp Lys
[0385] 1 5
[0386] <210> 37
[0387] <211> 14
[0388] <212> PRT
[0389] <213> 人工序列
[0390] <220>
[0391] <223> 7B12 HCDR3 (IMGT)
[0392] <400> 37
[0393] Thr Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[0394] 1 5 10
[0395] <210> 38
[0396] <211> 11
[0397] <212> PRT
[0398] <213> 人工序列
[0399] <220>
[0400] <223> 7B12 LCDR1 (IMGT)
[0401] <400> 38
[0402] Lys Ser Leu Arg Lys Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
[0403] 1 5 10
[0404] <210> 39
[0405] <211> 3
[0406] <212> PRT
[0407] <213> 人工序列
[0408] <220>
[0409] <223> 7B12 LCDR2 (IMGT)
[0410] <400> 39
[0411] Tyr Met Ser
[0412] 1
[0413] <210> 40
[0414] <211> 9
[0415] <212> PRT
[0416] <213> 人工序列
[0417] <220>
[0418] <223> 7B12 LCDR3 (IMGT)
[0419] <400> 40

[0420] Met Gln Ser Leu Glu Tyr Pro Leu Thr
[0421] 1 5
[0422] <210> 41
[0423] <211> 122
[0424] <212> PRT
[0425] <213> 人工序列
[0426] <220>
[0427] <223> 19C11 VH
[0428] <400> 41
[0429] Gln Val Asn Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Lys Leu Gln Pro Ser Gln
[0430] 1 5 10 15
[0431] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Leu
[0432] 20 25 30
[0433] Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Ser Ser Gly Lys Gly Leu Glu
[0434] 35 40 45
[0435] Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
[0436] 50 55 60
[0437] Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Ala Thr Ser Lys Asn Gln Val
[0438] 65 70 75 80
[0439] Phe Leu Lys Ile Val Asn Val Gly Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
[0440] 85 90 95
[0441] Cys Ala Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr Trp
[0442] 100 105 110
[0443] Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[0444] 115 120
[0445] <210> 42
[0446] <211> 112
[0447] <212> PRT
[0448] <213> 人工序列
[0449] <220>
[0450] <223> 19C11 VL
[0451] <400> 42
[0452] Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Ile Pro Val Thr Pro Gly
[0453] 1 5 10 15
[0454] Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
[0455] 20 25 30
[0456] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
[0457] 35 40 45
[0458] Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
[0459] 50 55 60
[0460] Asp Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[0461] 65 70 75 80

[0462] Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
[0463] 85 90 95
[0464] Leu Glu His Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0465] 100 105 110
[0466] <210> 43
[0467] <211> 7
[0468] <212> PRT
[0469] <213> 人工序列
[0470] <220>
[0471] <223> 19C11 HCDR1 (KABAT)
[0472] <400> 43
[0473] Thr Leu Gly Met Gly Val Gly
[0474] 1 5
[0475] <210> 44
[0476] <211> 16
[0477] <212> PRT
[0478] <213> 人工序列
[0479] <220>
[0480] <223> 19C11 HCDR2 (KABAT)
[0481] <400> 44
[0482] His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
[0483] 1 5 10 15
[0484] <210> 45
[0485] <211> 12
[0486] <212> PRT
[0487] <213> 人工序列
[0488] <220>
[0489] <223> 19C11 HCDR3 (KABAT)
[0490] <400> 45
[0491] Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[0492] 1 5 10
[0493] <210> 46
[0494] <211> 16
[0495] <212> PRT
[0496] <213> 人工序列
[0497] <220>
[0498] <223> 19C11 LCDR1 (KABAT)
[0499] <400> 46
[0500] Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
[0501] 1 5 10 15
[0502] <210> 47
[0503] <211> 7

[0504] <212> PRT
[0505] <213> 人工序列
[0506] <220>
[0507] <223> 19C11 LCDR2 (KABAT)
[0508] <400> 47
[0509] Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser
[0510] 1 5
[0511] <210> 48
[0512] <211> 9
[0513] <212> PRT
[0514] <213> 人工序列
[0515] <220>
[0516] <223> 19C11 LCDR3 (KABAT)
[0517] <400> 48
[0518] Met Gln Gly Leu Glu His Pro Leu Thr
[0519] 1 5
[0520] <210> 49
[0521] <211> 9
[0522] <212> PRT
[0523] <213> 人工序列
[0524] <220>
[0525] <223> 19C11 HCDR1 (CHOTHIA)
[0526] <400> 49
[0527] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Leu Gly Met
[0528] 1 5
[0529] <210> 50
[0530] <211> 3
[0531] <212> PRT
[0532] <213> 人工序列
[0533] <220>
[0534] <223> 19C11 HCDR2 (CHOTHIA)
[0535] <400> 50
[0536] Trp Asp Asp
[0537] 1
[0538] <210> 51
[0539] <211> 10
[0540] <212> PRT
[0541] <213> 人工序列
[0542] <220>
[0543] <223> 19C11 HCDR3 (CHOTHIA)
[0544] <400> 51
[0545] Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp

[0546] 1 5 10

[0547] <210> 52

[0548] <211> 12

[0549] <212> PRT

[0550] <213> 人工序列

[0551] <220>

[0552] <223> 19C11 LCDR1 (CHOTHIA)

[0553] <400> 52

[0554] Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

[0555] 1 5 10

[0556] <210> 53

[0557] <211> 3

[0558] <212> PRT

[0559] <213> 人工序列

[0560] <220>

[0561] <223> 19C11 LCDR2 (CHOTHIA)

[0562] <400> 53

[0563] Tyr Met Ser

[0564] 1

[0565] <210> 54

[0566] <211> 6

[0567] <212> PRT

[0568] <213> 人工序列

[0569] <220>

[0570] <223> 19C11 LCDR3 (CHOTHIA)

[0571] <400> 54

[0572] Gly Leu Glu His Pro Leu

[0573] 1 5

[0574] <210> 55

[0575] <211> 10

[0576] <212> PRT

[0577] <213> 人工序列

[0578] <220>

[0579] <223> 19C11 HCDR1 (IMGT)

[0580] <400> 55

[0581] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Leu Gly Met Gly

[0582] 1 5 10

[0583] <210> 56

[0584] <211> 7

[0585] <212> PRT

[0586] <213> 人工序列

[0587] <220>

[0588] <223> 19C11 HCDR2 (IMGT)

[0589] <400> 56

[0590] Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys

[0591] 1 5

[0592] <210> 57

[0593] <211> 14

[0594] <212> PRT

[0595] <213> 人工序列

[0596] <220>

[0597] <223> 19C11 HCDR3 (IMGT)

[0598] <400> 57

[0599] Ala Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr

[0600] 1 5 10

[0601] <210> 58

[0602] <211> 11

[0603] <212> PRT

[0604] <213> 人工序列

[0605] <220>

[0606] <223> 19C11 LCDR1 (IMGT)

[0607] <400> 58

[0608] Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

[0609] 1 5 10

[0610] <210> 59

[0611] <211> 3

[0612] <212> PRT

[0613] <213> 人工序列

[0614] <220>

[0615] <223> 19C11 LCDR2 (IMGT)

[0616] <400> 59

[0617] Tyr Met Ser

[0618] 1

[0619] <210> 60

[0620] <211> 9

[0621] <212> PRT

[0622] <213> 人工序列

[0623] <220>

[0624] <223> 19C11 LCDR3 (IMGT)

[0625] <400> 60

[0626] Met Gln Gly Leu Glu His Pro Leu Thr

[0627] 1 5

[0628] <210> 61

[0629] <211> 122

[0630] <212> PRT
[0631] <213> 人工序列
[0632] <220>
[0633] <223> 16C5 VH
[0634] <400> 61
[0635] Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
[0636] 1 5 10 15
[0637] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Leu
[0638] 20 25 30
[0639] Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
[0640] 35 40 45
[0641] Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Tyr Pro Ala
[0642] 50 55 60
[0643] Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
[0644] 65 70 75 80
[0645] Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
[0646] 85 90 95
[0647] Cys Ala Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr Trp
[0648] 100 105 110
[0649] Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[0650] 115 120
[0651] <210> 62
[0652] <211> 109
[0653] <212> PRT
[0654] <213> 人工序列
[0655] <220>
[0656] <223> 16C5 VL
[0657] <400> 62
[0658] Glu Leu Asp Met Thr Gln Thr Pro Pro Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0659] 1 5 10 15
[0660] Glu Thr Val Arg Ile Arg Cys Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly
[0661] 20 25 30
[0662] Ile Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Thr Leu Leu Ile
[0663] 35 40 45
[0664] Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe Ser Gly
[0665] 50 55 60
[0666] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Gly Gly Val Gln Ala
[0667] 65 70 75 80
[0668] Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Tyr Ser Tyr Ser Ser
[0669] 85 90 95
[0670] Thr Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Asn Val Glu Ile Lys
[0671] 100 105

[0672] <210> 63
[0673] <211> 7
[0674] <212> PRT
[0675] <213> 人工序列
[0676] <220>
[0677] <223> 16C5 HCDR1 (KABAT)
[0678] <400> 63
[0679] Thr Leu Gly Met Gly Val Gly
[0680] 1 5
[0681] <210> 64
[0682] <211> 16
[0683] <212> PRT
[0684] <213> 人工序列
[0685] <220>
[0686] <223> 16C5 HCDR2 (KABAT)
[0687] <400> 64
[0688] His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Tyr Pro Ala Leu Lys Ser
[0689] 1 5 10 15
[0690] <210> 65
[0691] <211> 12
[0692] <212> PRT
[0693] <213> 人工序列
[0694] <220>
[0695] <223> 16C5 HCDR3 (KABAT)
[0696] <400> 65
[0697] Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[0698] 1 5 10
[0699] <210> 66
[0700] <211> 11
[0701] <212> PRT
[0702] <213> 人工序列
[0703] <220>
[0704] <223> 16C5 LCDR1 (KABAT)
[0705] <400> 66
[0706] Leu Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Ile Ser
[0707] 1 5 10
[0708] <210> 67
[0709] <211> 7
[0710] <212> PRT
[0711] <213> 人工序列
[0712] <220>
[0713] <223> 16C5 LCDR2 (KABAT)

[0714] <400> 67
[0715] Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser
[0716] 1 5
[0717] <210> 68
[0718] <211> 11
[0719] <212> PRT
[0720] <213> 人工序列
[0721] <220>
[0722] <223> 16C5 LCDR3 (KABAT)
[0723] <400> 68
[0724] Leu Gly Gly Tyr Ser Tyr Ser Ser Thr Leu Thr
[0725] 1 5 10
[0726] <210> 69
[0727] <211> 9
[0728] <212> PRT
[0729] <213> 人工序列
[0730] <220>
[0731] <223> 16C5 HCDR1 (CHOTHIA)
[0732] <400> 69
[0733] Gly Phe Ser Leu Asn Thr Leu Gly Met
[0734] 1 5
[0735] <210> 70
[0736] <211> 3
[0737] <212> PRT
[0738] <213> 人工序列
[0739] <220>
[0740] <223> 16C5 HCDR2 (CHOTHIA)
[0741] <400> 70
[0742] Trp Asp Asp
[0743] 1
[0744] <210> 71
[0745] <211> 10
[0746] <212> PRT
[0747] <213> 人工序列
[0748] <220>
[0749] <223> 16C5 HCDR3 (CHOTHIA)
[0750] <400> 71
[0751] Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp
[0752] 1 5 10
[0753] <210> 72
[0754] <211> 7
[0755] <212> PRT

[0756] <213> 人工序列
[0757] <220>
[0758] <223> 16C5 LCDR1 (CHOTHIA)
[0759] <400> 72
[0760] Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly
[0761] 1 5
[0762] <210> 73
[0763] <211> 3
[0764] <212> PRT
[0765] <213> 人工序列
[0766] <220>
[0767] <223> 16C5 LCDR2 (CHOTHIA)
[0768] <400> 73
[0769] Gly Ala Ser
[0770] 1
[0771] <210> 74
[0772] <211> 8
[0773] <212> PRT
[0774] <213> 人工序列
[0775] <220>
[0776] <223> 16C5 LCDR3 (CHOTHIA)
[0777] <400> 74
[0778] Gly Tyr Ser Tyr Ser Ser Thr Leu
[0779] 1 5
[0780] <210> 75
[0781] <211> 10
[0782] <212> PRT
[0783] <213> 人工序列
[0784] <220>
[0785] <223> 16C5 HCDR1 (IMGT)
[0786] <400> 75
[0787] Gly Phe Ser Leu Asn Thr Leu Gly Met Gly
[0788] 1 5 10
[0789] <210> 76
[0790] <211> 7
[0791] <212> PRT
[0792] <213> 人工序列
[0793] <220>
[0794] <223> 16C5 HCDR2 (IMGT)
[0795] <400> 76
[0796] Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys
[0797] 1 5

[0798] <210> 77
[0799] <211> 14
[0800] <212> PRT
[0801] <213> 人工序列
[0802] <220>
[0803] <223> 16C5 HCDR3 (IMGT)
[0804] <400> 77
[0805] Ala Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[0806] 1 5 10
[0807] <210> 78
[0808] <211> 6
[0809] <212> PRT
[0810] <213> 人工序列
[0811] <220>
[0812] <223> 16C5 LCDR1 (IMGT)
[0813] <400> 78
[0814] Glu Asp Ile Tyr Ser Gly
[0815] 1 5
[0816] <210> 79
[0817] <211> 3
[0818] <212> PRT
[0819] <213> 人工序列
[0820] <220>
[0821] <223> 16C5 LCDR2 (IMGT)
[0822] <400> 79
[0823] Gly Ala Ser
[0824] 1
[0825] <210> 80
[0826] <211> 11
[0827] <212> PRT
[0828] <213> 人工序列
[0829] <220>
[0830] <223> 16C5 LCDR3 (IMGT)
[0831] <400> 80
[0832] Leu Gly Gly Tyr Ser Tyr Ser Ser Thr Leu Thr
[0833] 1 5 10
[0834] <210> 81
[0835] <211> 123
[0836] <212> PRT
[0837] <213> 人工序列
[0838] <220>
[0839] <223> 18C6 VH

[0840] <400> 81

[0841] Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln

[0842] 1 5 10 15

[0843] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Val

[0844] 20 25 30

[0845] Gly Met Gly Val Gly Trp Ser Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu

[0846] 35 40 45

[0847] Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Glu Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro

[0848] 50 55 60

[0849] Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln

[0850] 65 70 75 80

[0851] Val Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr

[0852] 85 90 95

[0853] Tyr Cys Thr Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr

[0854] 100 105 110

[0855] Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

[0856] 115 120

[0857] <210> 82

[0858] <211> 112

[0859] <212> PRT

[0860] <213> 人工序列

[0861] <220>

[0862] <223> 18C6 VL

[0863] <400> 82

[0864] Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly

[0865] 1 5 10 15

[0866] Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

[0867] 20 25 30

[0868] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

[0869] 35 40 45

[0870] Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro

[0871] 50 55 60

[0872] Asp Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile

[0873] 65 70 75 80

[0874] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser

[0875] 85 90 95

[0876] Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0877] 100 105 110

[0878] <210> 83

[0879] <211> 7

[0880] <212> PRT

[0881] <213> 人工序列

[0882] <220>
[0883] <223> 18C6 HCDR1 (KABAT)
[0884] <400> 83
[0885] Thr Val Gly Met Gly Val Gly
[0886] 1 5
[0887] <210> 84
[0888] <211> 17
[0889] <212> PRT
[0890] <213> 人工序列
[0891] <220>
[0892] <223> 18C6 HCDR2 (KABAT)
[0893] <400> 84
[0894] His Ile Trp Trp Asp Asp Glu Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys
[0895] 1 5 10 15
[0896] Ser
[0897] <210> 85
[0898] <211> 12
[0899] <212> PRT
[0900] <213> 人工序列
[0901] <220>
[0902] <223> 18C6 HCDR3 (KABAT)
[0903] <400> 85
[0904] Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[0905] 1 5 10
[0906] <210> 86
[0907] <211> 16
[0908] <212> PRT
[0909] <213> 人工序列
[0910] <220>
[0911] <223> 18C6 LCDR1 (KABAT)
[0912] <400> 86
[0913] Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
[0914] 1 5 10 15
[0915] <210> 87
[0916] <211> 7
[0917] <212> PRT
[0918] <213> 人工序列
[0919] <220>
[0920] <223> 18C6 LCDR2 (KABAT)
[0921] <400> 87
[0922] Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser
[0923] 1 5

[0924] <210> 88
[0925] <211> 9
[0926] <212> PRT
[0927] <213> 人工序列
[0928] <220>
[0929] <223> 18C6 LCDR3 (KABAT)
[0930] <400> 88
[0931] Met Gln Ser Leu Glu Tyr Pro Leu Thr
[0932] 1 5
[0933] <210> 89
[0934] <211> 9
[0935] <212> PRT
[0936] <213> 人工序列
[0937] <220>
[0938] <223> 18C6 HCDR1 (CHOTHIA)
[0939] <400> 89
[0940] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Val Gly Met
[0941] 1 5
[0942] <210> 90
[0943] <211> 4
[0944] <212> PRT
[0945] <213> 人工序列
[0946] <220>
[0947] <223> 18C6 HCDR2 (CHOTHIA)
[0948] <400> 90
[0949] Trp Asp Asp Glu
[0950] 1
[0951] <210> 91
[0952] <211> 10
[0953] <212> PRT
[0954] <213> 人工序列
[0955] <220>
[0956] <223> 18C6 HCDR3 (CHOTHIA)
[0957] <400> 91
[0958] Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp
[0959] 1 5 10
[0960] <210> 92
[0961] <211> 12
[0962] <212> PRT
[0963] <213> 人工序列
[0964] <220>
[0965] <223> 18C6 LCDR1 (CHOTHIA)

[0966] <400> 92

[0967] Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

[0968] 1 5 10

[0969] <210> 93

[0970] <211> 3

[0971] <212> PRT

[0972] <213> 人工序列

[0973] <220>

[0974] <223> 18C6 LCDR2 (CHOTHIA)

[0975] <400> 93

[0976] Tyr Met Ser

[0977] 1

[0978] <210> 94

[0979] <211> 6

[0980] <212> PRT

[0981] <213> 人工序列

[0982] <220>

[0983] <223> 18C6 LCDR3 (CHOTHIA)

[0984] <400> 94

[0985] Ser Leu Glu Tyr Pro Leu

[0986] 1 5

[0987] <210> 95

[0988] <211> 10

[0989] <212> PRT

[0990] <213> 人工序列

[0991] <220>

[0992] <223> 18C6 HCDR1 (IMGT)

[0993] <400> 95

[0994] Gly Phe Ser Leu Ser Thr Val Gly Met Gly

[0995] 1 5 10

[0996] <210> 96

[0997] <211> 8

[0998] <212> PRT

[0999] <213> 人工序列

[1000] <220>

[1001] <223> 18C6 HCDR2 (IMGT)

[1002] <400> 96

[1003] Ile Trp Trp Asp Asp Glu Asp Lys

[1004] 1 5

[1005] <210> 97

[1006] <211> 14

[1007] <212> PRT

[1008] <213> 人工序列
[1009] <220>
[1010] <223> 18C6 HCDR3 (IMGT)
[1011] <400> 97
[1012] Thr Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[1013] 1 5 10
[1014] <210> 98
[1015] <211> 11
[1016] <212> PRT
[1017] <213> 人工序列
[1018] <220>
[1019] <223> 18C6 LCDR1 (IMGT)
[1020] <400> 98
[1021] Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
[1022] 1 5 10
[1023] <210> 99
[1024] <211> 3
[1025] <212> PRT
[1026] <213> 人工序列
[1027] <220>
[1028] <223> 18C6 LCDR2 (IMGT)
[1029] <400> 99
[1030] Tyr Met Ser
[1031] 1
[1032] <210> 100
[1033] <211> 9
[1034] <212> PRT
[1035] <213> 人工序列
[1036] <220>
[1037] <223> 18C6 LCDR3 (IMGT)
[1038] <400> 100
[1039] Met Gln Ser Leu Glu Tyr Pro Leu Thr
[1040] 1 5
[1041] <210> 101
[1042] <211> 123
[1043] <212> PRT
[1044] <213> 人工序列
[1045] <220>
[1046] <223> 10C6-18C6 VH共同序列
[1047] <220>
[1048] <221> 变体
[1049] <222> 3

[1050] <223> Xaa = Thr或Asn
[1051] <220>
[1052] <221> 变体
[1053] <222> 11
[1054] <223> Xaa = Ile或Lys
[1055] <220>
[1056] <221> 变体
[1057] <222> 30
[1058] <223> Xaa = Asn或Ser
[1059] <220>
[1060] <221> 变体
[1061] <222> 32
[1062] <223> Xaa = Val或Leu
[1063] <220>
[1064] <221> 变体
[1065] <222> 39
[1066] <223> Xaa = Ser或Ile
[1067] <220>
[1068] <221> 变体
[1069] <222> 42
[1070] <223> Xaa = Pro或Ser
[1071] <220>
[1072] <221> 变体
[1073] <222> 58
[1074] <223> Xaa = Glu或不存在
[1075] <220>
[1076] <221> 变体
[1077] <222> 63
[1078] <223> Xaa = Asn或Tyr
[1079] <220>
[1080] <221> 变体
[1081] <222> 74
[1082] <223> Xaa = Lys或Arg
[1083] <220>
[1084] <221> 变体
[1085] <222> 75
[1086] <223> Xaa = Ala或Asp
[1087] <220>
[1088] <221> 变体
[1089] <222> 76
[1090] <223> Xaa = Thr或Ser
[1091] <220>

[1092] <221> 变体
[1093] <222> 86
[1094] <223> Xaa = Val或Ala
[1095] <220>
[1096] <221> 变体
[1097] <222> 89
[1098] <223> Xaa = Gly或Asp
[1099] <220>
[1100] <221> 变体
[1101] <222> 93
[1102] <223> Xaa = Thr, Ile或Ser
[1103] <220>
[1104] <221> 变体
[1105] <222> 99
[1106] <223> Xaa = Thr, Ser或Ala
[1107] <400> 101
[1108] Gln Val Xaa Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Xaa Leu Gln Pro Ser Gln
[1109] 1 5 10 15
[1110] Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Xaa Thr Xaa
[1111] 20 25 30
[1112] Gly Met Gly Val Gly Trp Xaa Arg Gln Xaa Ser Gly Lys Gly Leu Glu
[1113] 35 40 45
[1114] Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Xaa Asp Lys Tyr Tyr Xaa Pro
[1115] 50 55 60
[1116] Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Xaa Xaa Xaa Ser Lys Asn Gln
[1117] 65 70 75 80
[1118] Val Phe Leu Lys Ile Xaa Asn Val Xaa Thr Ala Asp Xaa Ala Thr Tyr
[1119] 85 90 95
[1120] Tyr Cys Xaa Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[1121] 100 105 110
[1122] Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[1123] 115 120
[1124] <210> 102
[1125] <211> 112
[1126] <212> PRT
[1127] <213> 人工序列
[1128] <220>
[1129] <223> 7B12, 19C11, 18C6 VL共同序列
[1130] <220>
[1131] <221> 变体
[1132] <222> 11
[1133] <223> Xaa = Ile或Val

[1134] <220>
[1135] <221> 变体
[1136] <222> 12
[1137] <223> Xaa = Pro或Ser
[1138] <220>
[1139] <221> 变体
[1140] <222> 30
[1141] <223> Xaa = Arg或Leu
[1142] <220>
[1143] <221> 变体
[1144] <222> 31
[1145] <223> Xaa = Lys或His
[1146] <220>
[1147] <221> 变体
[1148] <222> 79
[1149] <223> Xaa = Arg或Lys
[1150] <220>
[1151] <221> 变体
[1152] <222> 86
[1153] <223> Xaa = Glu或Gly
[1154] <220>
[1155] <221> 变体
[1156] <222> 96
[1157] <223> Xaa = Ser或Gly
[1158] <220>
[1159] <221> 变体
[1160] <222> 99
[1161] <223> Xaa = Tyr或His
[1162] <400> 102
[1163] Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Xaa Xaa Val Thr Pro Gly
[1164] 1 5 10 15
[1165] Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Xaa Xaa Ser
[1166] 20 25 30
[1167] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
[1168] 35 40 45
[1169] Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
[1170] 50 55 60
[1171] Asp Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Xaa Ile
[1172] 65 70 75 80
[1173] Ser Arg Val Glu Ala Xaa Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Xaa
[1174] 85 90 95
[1175] Leu Glu Xaa Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[1176] 100 105 110

[1177] <210> 103

[1178] <211> 7

[1179] <212> PRT

[1180] <213> 人工序列

[1181] <220>

[1182] <223> HCDR1 KABAT共同序列

[1183] <220>

[1184] <221> 变体

[1185] <222> 2

[1186] <223> Xaa = Lue或Val

[1187] <400> 103

[1188] Thr Xaa Gly Met Gly Val Gly

[1189] 1 5

[1190] <210> 104

[1191] <211> 17

[1192] <212> PRT

[1193] <213> 人工序列

[1194] <220>

[1195] <223> HCDR2 KABAT共同序列

[1196] <220>

[1197] <221> 变体

[1198] <222> 7

[1199] <223> Xaa = Glu或不存在

[1200] <220>

[1201] <221> 变体

[1202] <222> 12

[1203] <223> Xaa = Tyr或Asn

[1204] <400> 104

[1205] His Ile Trp Trp Asp Asp Xaa Asp Lys Tyr Tyr Xaa Pro Ala Leu Lys

[1206] 1 5 10 15

[1207] Ser

[1208] <210> 105

[1209] <211> 12

[1210] <212> PRT

[1211] <213> 人工序列

[1212] <220>

[1213] <223> HCDR3 KABAT共同序列

[1214] <400> 105

[1215] Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr

[1216] 1 5 10

[1217] <210> 106

[1218] <211> 16
[1219] <212> PRT
[1220] <213> 人工序列
[1221] <220>
[1222] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR2 KABAT共同序列
[1223] <220>
[1224] <221> 变体
[1225] <222> 7
[1226] <223> Xaa = Arg或Leu
[1227] <220>
[1228] <221> 变体
[1229] <222> 8
[1230] <223> Xaa = Lys或His
[1231] <400> 106
[1232] Arg Ser Ser Lys Ser Leu Xaa Xaa Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
[1233] 1 5 10 15
[1234] <210> 107
[1235] <211> 7
[1236] <212> PRT
[1237] <213> 人工序列
[1238] <220>
[1239] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR2 KABAT共同序列
[1240] <400> 107
[1241] Tyr Met Ser Asn Leu Ala Ser
[1242] 1 5
[1243] <210> 108
[1244] <211> 9
[1245] <212> PRT
[1246] <213> 人工序列
[1247] <220>
[1248] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR3 KABAT共同序列
[1249] <220>
[1250] <221> 变体
[1251] <222> 3
[1252] <223> Xaa = Gly或Ser
[1253] <220>
[1254] <221> 变体
[1255] <222> 6
[1256] <223> Xaa = His或Tyr
[1257] <400> 108
[1258] Met Gln Xaa Leu Glu Xaa Pro Leu Thr
[1259] 1 5

[1260] <210> 109
[1261] <211> 9
[1262] <212> PRT
[1263] <213> 人工序列
[1264] <220>
[1265] <223> 10C6-18C6 HCDR1 CHOTHIA共同序列
[1266] <220>
[1267] <221> 变体
[1268] <222> 5
[1269] <223> Xaa = Asn或Ser
[1270] <220>
[1271] <221> 变体
[1272] <222> 7
[1273] <223> Xaa = Leu或Val
[1274] <400> 109
[1275] Gly Phe Ser Leu Xaa Thr Xaa Gly Met
[1276] 1 5
[1277] <210> 110
[1278] <211> 4
[1279] <212> PRT
[1280] <213> 人工序列
[1281] <220>
[1282] <223> 10C6-18C6 HCDR2 CHOTHIA共同序列
[1283] <220>
[1284] <221> 变体
[1285] <222> 4
[1286] <223> Xaa = Glu或不存在
[1287] <400> 110
[1288] Trp Asp Asp Xaa
[1289] 1
[1290] <210> 111
[1291] <211> 10
[1292] <212> PRT
[1293] <213> 人工序列
[1294] <220>
[1295] <223> 10C6-18C6 HCDR3 CHOTHIA共同序列
[1296] <400> 111
[1297] Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp
[1298] 1 5 10
[1299] <210> 112
[1300] <211> 12
[1301] <212> PRT

[1302] <213> 人工序列
[1303] <220>
[1304] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR1 CHOTHIA共同序列
[1305] <220>
[1306] <221> 变体
[1307] <222> 5
[1308] <223> Xaa = Leu或Arg
[1309] <220>
[1310] <221> 变体
[1311] <222> 6
[1312] <223> Xaa = His或Lys
[1313] <400> 112
[1314] Ser Lys Ser Leu Xaa Xaa Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
[1315] 1 5 10
[1316] <210> 113
[1317] <211> 3
[1318] <212> PRT
[1319] <213> 人工序列
[1320] <220>
[1321] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR2 CHOTHIA共同序列
[1322] <400> 113
[1323] Tyr Met Ser
[1324] 1
[1325] <210> 114
[1326] <211> 6
[1327] <212> PRT
[1328] <213> 人工序列
[1329] <220>
[1330] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR3 CHOTHIA共同序列
[1331] <220>
[1332] <221> 变体
[1333] <222> 1
[1334] <223> Xaa = Gly或Ser
[1335] <220>
[1336] <221> 变体
[1337] <222> 4
[1338] <223> Xaa = His或Tyr
[1339] <400> 114
[1340] Xaa Leu Glu Xaa Pro Leu
[1341] 1 5
[1342] <210> 115
[1343] <211> 10

[1344] <212> PRT
[1345] <213> 人工序列
[1346] <220>
[1347] <223> 10C6-18C6 HCDR1 IMGT共同序列
[1348] <220>
[1349] <221> 变体
[1350] <222> 5
[1351] <223> Xaa = Asn或Ser
[1352] <220>
[1353] <221> 变体
[1354] <222> 7
[1355] <223> Xaa = Val或Leu
[1356] <400> 115
[1357] Gly Phe Ser Leu Xaa Thr Xaa Gly Met Gly
[1358] 1 5 10
[1359] <210> 116
[1360] <211> 8
[1361] <212> PRT
[1362] <213> 人工序列
[1363] <220>
[1364] <223> 10C6-18C6 HCDR2 IMGT共同序列
[1365] <220>
[1366] <221> 变体
[1367] <222> 6
[1368] <223> Xaa = Glu或不存在
[1369] <400> 116
[1370] Ile Trp Trp Asp Asp Xaa Asp Lys
[1371] 1 5
[1372] <210> 117
[1373] <211> 14
[1374] <212> PRT
[1375] <213> 人工序列
[1376] <220>
[1377] <223> 10C6-18C6 HCDR3 IMGT共同序列
[1378] <220>
[1379] <221> 变体
[1380] <222> 1
[1381] <223> Xaa = Thr, Ala或Ser
[1382] <400> 117
[1383] Xaa Arg Ile Gly Thr Ala Gln Ala Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
[1384] 1 5 10
[1385] <210> 118

[1386] <211> 11
[1387] <212> PRT
[1388] <213> 人工序列
[1389] <220>
[1390] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR1 IMGT共同序列
[1391] <220>
[1392] <221> 变体
[1393] <222> 4
[1394] <223> Xaa = Val或Leu
[1395] <220>
[1396] <221> 变体
[1397] <222> 5
[1398] <223> Xaa = His或Lys
[1399] <400> 118
[1400] Lys Ser Leu Xaa Xaa Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
[1401] 1 5 10
[1402] <210> 119
[1403] <211> 3
[1404] <212> PRT
[1405] <213> 人工序列
[1406] <220>
[1407] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR2 IMGT共同序列
[1408] <400> 119
[1409] Tyr Met Ser
[1410] 1
[1411] <210> 120
[1412] <211> 9
[1413] <212> PRT
[1414] <213> 人工序列
[1415] <220>
[1416] <223> 7B12, 19C11, 18C6 LCDR3 IMGT共同序列
[1417] <400> 120
[1418] Met Gln Ser Leu Glu Tyr Pro Leu Thr
[1419] 1 5
[1420] <210> 121
[1421] <211> 42
[1422] <212> PRT
[1423] <213> 人工序列
[1424] <220>
[1425] <223> MUC16c114 F引物
[1426] <400> 121
[1427] Cys Cys Ala Thr Gly Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Gly Cys Cys Ala

[1428] 1 5 10 15
[1429] Cys Cys Ala Thr Gly Gly Thr Gly Ala Ala Cys Thr Thr Cys Thr Cys
[1430] 20 25 30
[1431] Gly Cys Cys Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr
[1432] 35 40
[1433] <210> 122
[1434] <211> 34
[1435] <212> PRT
[1436] <213> 人工序列
[1437] <220>
[1438] <223> MUC16c114 R引物
[1439] <400> 122
[1440] Thr Ala Cys Gly Gly Cys Gly Gly Cys Cys Gly Cys Thr Thr Gly Cys
[1441] 1 5 10 15
[1442] Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Thr Ala
[1443] 20 25 30
[1444] Gly Gly
[1445] <210> 123
[1446] <211> 45
[1447] <212> PRT
[1448] <213> 人工序列
[1449] <220>
[1450] <223> MUC16c344 F引物
[1451] <400> 123
[1452] Cys Cys Ala Thr Gly Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Gly Cys Cys Ala
[1453] 1 5 10 15
[1454] Cys Cys Ala Thr Gly Gly Thr Gly Ala Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys
[1455] 20 25 30
[1456] Thr Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala
[1457] 35 40 45
[1458] <210> 124
[1459] <211> 34
[1460] <212> PRT
[1461] <213> 人工序列
[1462] <220>
[1463] <223> MUC16c344 R引物
[1464] <400> 124
[1465] Thr Ala Cys Gly Gly Cys Gly Gly Cys Cys Gly Cys Thr Thr Gly Cys
[1466] 1 5 10 15
[1467] Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Thr Ala
[1468] 20 25 30
[1469] Gly Gly

[1470] <210> 125
[1471] <211> 31
[1472] <212> PRT
[1473] <213> 人工序列
[1474] <220>
[1475] <223> MUC16c57-114 F引物
[1476] <400> 125
[1477] Cys Cys Ala Thr Gly Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Ala Ala Ala Cys
[1478] 1 5 10 15
[1479] Thr Thr Cys Thr Cys Gly Cys Cys Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr
[1480] 20 25 30
[1481] <210> 126
[1482] <211> 33
[1483] <212> PRT
[1484] <213> 人工序列
[1485] <220>
[1486] <223> MUC16c57-114 R引物
[1487] <400> 126
[1488] Ala Gly Ala Thr Cys Thr Ala Ala Cys Cys Ala Thr Gly Gly Gly Ala
[1489] 1 5 10 15
[1490] Ala Gly Gly Thr Cys Ala Gly Ala Ala Thr Thr Cys Cys Cys Ala Gly
[1491] 20 25 30
[1492] Thr
[1493] <210> 127
[1494] <211> 31
[1495] <212> PRT
[1496] <213> 人工序列
[1497] <220>
[1498] <223> 117-244LGALS3 F引物
[1499] <400> 127
[1500] Cys Cys Ala Thr Gly Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Ala Cys Cys Thr
[1501] 1 5 10 15
[1502] Thr Ala Thr Ala Ala Cys Cys Thr Gly Cys Cys Thr Thr Thr Gly
[1503] 20 25 30
[1504] <210> 128
[1505] <211> 30
[1506] <212> PRT
[1507] <213> 人工序列
[1508] <220>
[1509] <223> 117-244LGALS3 R引物
[1510] <400> 128
[1511] Ala Gly Ala Thr Cys Thr Ala Ala Cys Cys Ala Thr Gly Gly Thr Ala

[1512] 1 5 10 15
[1513] Thr Ala Thr Gly Ala Ala Gly Cys Ala Cys Thr Gly Gly Thr
[1514] 20 25 30
[1515] <210> 129
[1516] <211> 55
[1517] <212> PRT
[1518] <213> 人工序列
[1519] <220>
[1520] <223> 55mer免疫肽
[1521] <400> 129
[1522] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[1523] 1 5 10 15
[1524] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr
[1525] 20 25 30
[1526] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[1527] 35 40 45
[1528] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser
[1529] 50 55
[1530] <210> 130
[1531] <211> 18
[1532] <212> PRT
[1533] <213> 人工序列
[1534] <220>
[1535] <223> 18mer免疫肽
[1536] <400> 130
[1537] Cys Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser
[1538] 1 5 10 15
[1539] Ser Val
[1540] <210> 131
[1541] <211> 15
[1542] <212> PRT
[1543] <213> 人工序列
[1544] <220>
[1545] <223> 15mer免疫肽
[1546] <400> 131
[1547] Cys Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val
[1548] 1 5 10 15
[1549] <210> 132
[1550] <211> 344
[1551] <212> PRT
[1552] <213> 人工序列
[1553] <220>

[1554] <223> MUC16c344

[1555] <400> 132

[1556] Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe Tyr
[1557] 1 5 10 15
[1558] Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro Gln Asn
[1559] 20 25 30
[1560] Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile Val Asn Gln
[1561] 35 40 45
[1562] Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr Ile Thr Leu Leu
[1563] 50 55 60
[1564] Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr Lys Gly Ser Gln Leu
[1565] 65 70 75 80
[1566] His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr Asn Leu Thr Met Asp Ser
[1567] 85 90 95
[1568] Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser
[1569] 100 105 110
[1570] Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His
[1571] 115 120 125
[1572] Gln Leu Gly Ser Thr Tyr Gln Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met
[1573] 130 135 140
[1574] Glu Ser Ser Val Tyr Gln Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe
[1575] 145 150 155 160
[1576] Tyr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala
[1577] 165 170 175
[1578] Gln Pro Gly Thr Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp
[1579] 180 185 190
[1580] Ala Leu Asn Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser
[1581] 195 200 205
[1582] Asp Cys Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr
[1583] 210 215 220
[1584] Gly Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp
[1585] 225 230 235 240
[1586] Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr
[1587] 245 250 255
[1588] Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly
[1589] 260 265 270
[1590] Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro
[1591] 275 280 285
[1592] Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile
[1593] 290 295 300
[1594] Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys
[1595] 305 310 315 320

[1596] Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser
[1597] 325 330 335
[1598] His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln
[1599] 340
[1600] <210> 133
[1601] <211> 114
[1602] <212> PRT
[1603] <213> 人工序列
[1604] <220>
[1605] <223> MUC16c114
[1606] <400> 133
[1607] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[1608] 1 5 10 15
[1609] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr
[1610] 20 25 30
[1611] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[1612] 35 40 45
[1613] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu
[1614] 50 55 60
[1615] Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[1616] 65 70 75 80
[1617] Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val
[1618] 85 90 95
[1619] Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp
[1620] 100 105 110
[1621] Leu Gln
[1622] <210> 134
[1623] <211> 80
[1624] <212> PRT
[1625] <213> 人工序列
[1626] <220>
[1627] <223> MUC16c86
[1628] <400> 134
[1629] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[1630] 1 5 10 15
[1631] Glu Phe Leu Arg Met Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly
[1632] 20 25 30
[1633] Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu
[1634] 35 40 45
[1635] Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln
[1636] 50 55 60
[1637] Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln

[1638] 65 70 75 80
[1639] <210> 135
[1640] <211> 86
[1641] <212> PRT
[1642] <213> 人工序列
[1643] <220>
[1644] <223> MUC16c80
[1645] <400> 135
[1646] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[1647] 1 5 10 15
[1648] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr
[1649] 20 25 30
[1650] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[1651] 35 40 45
[1652] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu
[1653] 50 55 60
[1654] Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[1655] 65 70 75 80
[1656] Asp Leu Glu Asp Leu Gln
[1657] 85
[1658] <210> 136
[1659] <211> 14507
[1660] <212> PRT
[1661] <213> 智人
[1662] <220>
[1663] <223> 不成熟的人MUC16氨基酸序列 (NP_078966.2)
[1664] <400> 136
[1665] Met Leu Lys Pro Ser Gly Leu Pro Gly Ser Ser Ser Pro Thr Arg Ser
[1666] 1 5 10 15
[1667] Leu Met Thr Gly Ser Arg Ser Thr Lys Ala Thr Pro Glu Met Asp Ser
[1668] 20 25 30
[1669] Gly Leu Thr Gly Ala Thr Leu Ser Pro Lys Thr Ser Thr Gly Ala Ile
[1670] 35 40 45
[1671] Val Val Thr Glu His Thr Leu Pro Phe Thr Ser Pro Asp Lys Thr Leu
[1672] 50 55 60
[1673] Ala Ser Pro Thr Ser Ser Val Val Gly Arg Thr Thr Gln Ser Leu Gly
[1674] 65 70 75 80
[1675] Val Met Ser Ser Ala Leu Pro Glu Ser Thr Ser Arg Gly Met Thr His
[1676] 85 90 95
[1677] Ser Glu Gln Arg Thr Ser Pro Ser Leu Ser Pro Gln Val Asn Gly Thr
[1678] 100 105 110
[1679] Pro Ser Arg Asn Tyr Pro Ala Thr Ser Met Val Ser Gly Leu Ser Ser

[1680] 115 120 125
[1681] Pro Arg Thr Arg Thr Ser Ser Thr Glu Gly Asn Phe Thr Lys Glu Ala
[1682] 130 135 140
[1683] Ser Thr Tyr Thr Leu Thr Val Glu Thr Thr Ser Gly Pro Val Thr Glu
[1684] 145 150 155 160
[1685] Lys Tyr Thr Val Pro Thr Glu Thr Ser Thr Thr Glu Gly Asp Ser Thr
[1686] 165 170 175
[1687] Glu Thr Pro Trp Asp Thr Arg Tyr Ile Pro Val Lys Ile Thr Ser Pro
[1688] 180 185 190
[1689] Met Lys Thr Phe Ala Asp Ser Thr Ala Ser Lys Glu Asn Ala Pro Val
[1690] 195 200 205
[1691] Ser Met Thr Pro Ala Glu Thr Thr Val Thr Asp Ser His Thr Pro Gly
[1692] 210 215 220
[1693] Arg Thr Asn Pro Ser Phe Gly Thr Leu Tyr Ser Ser Phe Leu Asp Leu
[1694] 225 230 235 240
[1695] Ser Pro Lys Gly Thr Pro Asn Ser Arg Gly Glu Thr Ser Leu Glu Leu
[1696] 245 250 255
[1697] Ile Leu Ser Thr Thr Gly Tyr Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Gly Ser
[1698] 260 265 270
[1699] Ala Gly His Ser Arg Ile Ser Thr Ser Ala Pro Leu Ser Ser Ser Ala
[1700] 275 280 285
[1701] Ser Val Leu Asp Asn Lys Ile Ser Glu Thr Ser Ile Phe Ser Gly Gln
[1702] 290 295 300
[1703] Ser Leu Thr Ser Pro Leu Ser Pro Gly Val Pro Glu Ala Arg Ala Ser
[1704] 305 310 315 320
[1705] Thr Met Pro Asn Ser Ala Ile Pro Phe Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala
[1706] 325 330 335
[1707] Glu Thr Ser Ala Glu Arg Val Arg Ser Thr Ile Ser Ser Leu Gly Thr
[1708] 340 345 350
[1709] Pro Ser Ile Ser Thr Lys Gln Thr Ala Glu Thr Ile Leu Thr Phe His
[1710] 355 360 365
[1711] Ala Phe Ala Glu Thr Met Asp Ile Pro Ser Thr His Ile Ala Lys Thr
[1712] 370 375 380
[1713] Leu Ala Ser Glu Trp Leu Gly Ser Pro Gly Thr Leu Gly Gly Thr Ser
[1714] 385 390 395 400
[1715] Thr Ser Ala Leu Thr Thr Thr Ser Pro Ser Thr Thr Leu Val Ser Glu
[1716] 405 410 415
[1717] Glu Thr Asn Thr His His Ser Thr Ser Gly Lys Glu Thr Glu Gly Thr
[1718] 420 425 430
[1719] Leu Asn Thr Ser Met Thr Pro Leu Glu Thr Ser Ala Pro Gly Glu Glu
[1720] 435 440 445
[1721] Ser Glu Met Thr Ala Thr Leu Val Pro Thr Leu Gly Phe Thr Thr Leu

[1722] 450 455 460
[1723] Asp Ser Lys Ile Arg Ser Pro Ser Gln Val Ser Ser Ser His Pro Thr
[1724] 465 470 475 480
[1725] Arg Glu Leu Arg Thr Thr Gly Ser Thr Ser Gly Arg Gln Ser Ser Ser
[1726] 485 490 495
[1727] Thr Ala Ala His Gly Ser Ser Asp Ile Leu Arg Ala Thr Thr Ser Ser
[1728] 500 505 510
[1729] Thr Ser Lys Ala Ser Ser Trp Thr Ser Glu Ser Thr Ala Gln Gln Phe
[1730] 515 520 525
[1731] Ser Glu Pro Gln His Thr Gln Trp Val Glu Thr Ser Pro Ser Met Lys
[1732] 530 535 540
[1733] Thr Glu Arg Pro Pro Ala Ser Thr Ser Val Ala Ala Pro Ile Thr Thr
[1734] 545 550 555 560
[1735] Ser Val Pro Ser Val Val Ser Gly Phe Thr Thr Leu Lys Thr Ser Ser
[1736] 565 570 575
[1737] Thr Lys Gly Ile Trp Leu Glu Glu Thr Ser Ala Asp Thr Leu Ile Gly
[1738] 580 585 590
[1739] Glu Ser Thr Ala Gly Pro Thr Thr His Gln Phe Ala Val Pro Thr Gly
[1740] 595 600 605
[1741] Ile Ser Met Thr Gly Gly Ser Ser Thr Arg Gly Ser Gln Gly Thr Thr
[1742] 610 615 620
[1743] His Leu Leu Thr Arg Ala Thr Ala Ser Ser Glu Thr Ser Ala Asp Leu
[1744] 625 630 635 640
[1745] Thr Leu Ala Thr Asn Gly Val Pro Val Ser Val Ser Pro Ala Val Ser
[1746] 645 650 655
[1747] Lys Thr Ala Ala Gly Ser Ser Pro Pro Gly Gly Thr Lys Pro Ser Tyr
[1748] 660 665 670
[1749] Thr Met Val Ser Ser Val Ile Pro Glu Thr Ser Ser Leu Gln Ser Ser
[1750] 675 680 685
[1751] Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ser Leu Gly Leu Thr Pro Leu Asn Thr Arg
[1752] 690 695 700
[1753] His Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Asp Ser Ala Gly His Thr Lys Ile
[1754] 705 710 715 720
[1755] Ser Thr Ser Ile Pro Leu Leu Ser Ser Ala Ser Val Leu Glu Asp Lys
[1756] 725 730 735
[1757] Val Ser Ala Thr Ser Thr Phe Ser His His Lys Ala Thr Ser Ser Ile
[1758] 740 745 750
[1759] Thr Thr Gly Thr Pro Glu Ile Ser Thr Lys Thr Lys Pro Ser Ser Ala
[1760] 755 760 765
[1761] Val Leu Ser Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala Ala Thr Ser Pro Glu Arg
[1762] 770 775 780
[1763] Val Arg Asn Ala Thr Ser Pro Leu Thr His Pro Ser Pro Ser Gly Glu

[1764] 785 790 795 800
[1765] Glu Thr Ala Gly Ser Val Leu Thr Leu Ser Thr Ser Ala Glu Thr Thr
[1766] 805 810 815
[1767] Asp Ser Pro Asn Ile His Pro Thr Gly Thr Leu Thr Ser Glu Ser Ser
[1768] 820 825 830
[1769] Glu Ser Pro Ser Thr Leu Ser Leu Pro Ser Val Ser Gly Val Lys Thr
[1770] 835 840 845
[1771] Thr Phe Ser Ser Ser Thr Pro Ser Thr His Leu Phe Thr Ser Gly Glu
[1772] 850 855 860
[1773] Glu Thr Glu Glu Thr Ser Asn Pro Ser Val Ser Gln Pro Glu Thr Ser
[1774] 865 870 875 880
[1775] Val Ser Arg Val Arg Thr Thr Leu Ala Ser Thr Ser Val Pro Thr Pro
[1776] 885 890 895
[1777] Val Phe Pro Thr Met Asp Thr Trp Pro Thr Arg Ser Ala Gln Phe Ser
[1778] 900 905 910
[1779] Ser Ser His Leu Val Ser Glu Leu Arg Ala Thr Ser Ser Thr Ser Val
[1780] 915 920 925
[1781] Thr Asn Ser Thr Gly Ser Ala Leu Pro Lys Ile Ser His Leu Thr Gly
[1782] 930 935 940
[1783] Thr Ala Thr Met Ser Gln Thr Asn Arg Asp Thr Phe Asn Asp Ser Ala
[1784] 945 950 955 960
[1785] Ala Pro Gln Ser Thr Thr Trp Pro Glu Thr Ser Pro Arg Phe Lys Thr
[1786] 965 970 975
[1787] Gly Leu Pro Ser Ala Thr Thr Thr Val Ser Thr Ser Ala Thr Ser Leu
[1788] 980 985 990
[1789] Ser Ala Thr Val Met Val Ser Lys Phe Thr Ser Pro Ala Thr Ser Ser
[1790] 995 1000 1005
[1791] Met Glu Ala Thr Ser Ile Arg Glu Pro Ser Thr Thr Ile Leu Thr
[1792] 1010 1015 1020
[1793] Thr Glu Thr Thr Asn Gly Pro Gly Ser Met Ala Val Ala Ser Thr
[1794] 1025 1030 1035
[1795] Asn Ile Pro Ile Gly Lys Gly Tyr Ile Thr Glu Gly Arg Leu Asp
[1796] 1040 1045 1050
[1797] Thr Ser His Leu Pro Ile Gly Thr Thr Ala Ser Ser Glu Thr Ser
[1798] 1055 1060 1065
[1799] Met Asp Phe Thr Met Ala Lys Glu Ser Val Ser Met Ser Val Ser
[1800] 1070 1075 1080
[1801] Pro Ser Gln Ser Met Asp Ala Ala Gly Ser Ser Thr Pro Gly Arg
[1802] 1085 1090 1095
[1803] Thr Ser Gln Phe Val Asp Thr Phe Ser Asp Asp Val Tyr His Leu
[1804] 1100 1105 1110
[1805] Thr Ser Arg Glu Ile Thr Ile Pro Arg Asp Gly Thr Ser Ser Ala

[1806] 1115 1120 1125

[1807] Leu Thr Pro Gln Met Thr Ala Thr His Pro Pro Ser Pro Asp Pro

[1808] 1130 1135 1140

[1809] Gly Ser Ala Arg Ser Thr Trp Leu Gly Ile Leu Ser Ser Ser Pro

[1810] 1145 1150 1155

[1811] Ser Ser Pro Thr Pro Lys Val Thr Met Ser Ser Thr Phe Ser Thr

[1812] 1160 1165 1170

[1813] Gln Arg Val Thr Thr Ser Met Ile Met Asp Thr Val Glu Thr Ser

[1814] 1175 1180 1185

[1815] Arg Trp Asn Met Pro Asn Leu Pro Ser Thr Thr Ser Leu Thr Pro

[1816] 1190 1195 1200

[1817] Ser Asn Ile Pro Thr Ser Gly Ala Ile Gly Lys Ser Thr Leu Val

[1818] 1205 1210 1215

[1819] Pro Leu Asp Thr Pro Ser Pro Ala Thr Ser Leu Glu Ala Ser Glu

[1820] 1220 1225 1230

[1821] Gly Gly Leu Pro Thr Leu Ser Thr Tyr Pro Glu Ser Thr Asn Thr

[1822] 1235 1240 1245

[1823] Pro Ser Ile His Leu Gly Ala His Ala Ser Ser Glu Ser Pro Ser

[1824] 1250 1255 1260

[1825] Thr Ile Lys Leu Thr Met Ala Ser Val Val Lys Pro Gly Ser Tyr

[1826] 1265 1270 1275

[1827] Thr Pro Leu Thr Phe Pro Ser Ile Glu Thr His Ile His Val Ser

[1828] 1280 1285 1290

[1829] Thr Ala Arg Met Ala Tyr Ser Ser Gly Ser Ser Pro Glu Met Thr

[1830] 1295 1300 1305

[1831] Ala Pro Gly Glu Thr Asn Thr Gly Ser Thr Trp Asp Pro Thr Thr

[1832] 1310 1315 1320

[1833] Tyr Ile Thr Thr Thr Asp Pro Lys Asp Thr Ser Ser Ala Gln Val

[1834] 1325 1330 1335

[1835] Ser Thr Pro His Ser Val Arg Thr Leu Arg Thr Thr Glu Asn His

[1836] 1340 1345 1350

[1837] Pro Lys Thr Glu Ser Ala Thr Pro Ala Ala Tyr Ser Gly Ser Pro

[1838] 1355 1360 1365

[1839] Lys Ile Ser Ser Ser Pro Asn Leu Thr Ser Pro Ala Thr Lys Ala

[1840] 1370 1375 1380

[1841] Trp Thr Ile Thr Asp Thr Thr Glu His Ser Thr Gln Leu His Tyr

[1842] 1385 1390 1395

[1843] Thr Lys Leu Ala Glu Lys Ser Ser Gly Phe Glu Thr Gln Ser Ala

[1844] 1400 1405 1410

[1845] Pro Gly Pro Val Ser Val Val Ile Pro Thr Ser Pro Thr Ile Gly

[1846] 1415 1420 1425

[1847] Ser Ser Thr Leu Glu Leu Thr Ser Asp Val Pro Gly Glu Pro Leu

[1848] 1430 1435 1440

[1849] Val Leu Ala Pro Ser Glu Gln Thr Thr Ile Thr Leu Pro Met Ala

[1850] 1445 1450 1455

[1851] Thr Trp Leu Ser Thr Ser Leu Thr Glu Glu Met Ala Ser Thr Asp

[1852] 1460 1465 1470

[1853] Leu Asp Ile Ser Ser Pro Ser Ser Pro Met Ser Thr Phe Ala Ile

[1854] 1475 1480 1485

[1855] Phe Pro Pro Met Ser Thr Pro Ser His Glu Leu Ser Lys Ser Glu

[1856] 1490 1495 1500

[1857] Ala Asp Thr Ser Ala Ile Arg Asn Thr Asp Ser Thr Thr Leu Asp

[1858] 1505 1510 1515

[1859] Gln His Leu Gly Ile Arg Ser Leu Gly Arg Thr Gly Asp Leu Thr

[1860] 1520 1525 1530

[1861] Thr Val Pro Ile Thr Pro Leu Thr Thr Thr Trp Thr Ser Val Ile

[1862] 1535 1540 1545

[1863] Glu His Ser Thr Gln Ala Gln Asp Thr Leu Ser Ala Thr Met Ser

[1864] 1550 1555 1560

[1865] Pro Thr His Val Thr Gln Ser Leu Lys Asp Gln Thr Ser Ile Pro

[1866] 1565 1570 1575

[1867] Ala Ser Ala Ser Pro Ser His Leu Thr Glu Val Tyr Pro Glu Leu

[1868] 1580 1585 1590

[1869] Gly Thr Gln Gly Arg Ser Ser Ser Glu Ala Thr Thr Phe Trp Lys

[1870] 1595 1600 1605

[1871] Pro Ser Thr Asp Thr Leu Ser Arg Glu Ile Glu Thr Gly Pro Thr

[1872] 1610 1615 1620

[1873] Asn Ile Gln Ser Thr Pro Pro Met Asp Asn Thr Thr Thr Gly Ser

[1874] 1625 1630 1635

[1875] Ser Ser Ser Gly Val Thr Leu Gly Ile Ala His Leu Pro Ile Gly

[1876] 1640 1645 1650

[1877] Thr Ser Ser Pro Ala Glu Thr Ser Thr Asn Met Ala Leu Glu Arg

[1878] 1655 1660 1665

[1879] Arg Ser Ser Thr Ala Thr Val Ser Met Ala Gly Thr Met Gly Leu

[1880] 1670 1675 1680

[1881] Leu Val Thr Ser Ala Pro Gly Arg Ser Ile Ser Gln Ser Leu Gly

[1882] 1685 1690 1695

[1883] Arg Val Ser Ser Val Leu Ser Glu Ser Thr Thr Glu Gly Val Thr

[1884] 1700 1705 1710

[1885] Asp Ser Ser Lys Gly Ser Ser Pro Arg Leu Asn Thr Gln Gly Asn

[1886] 1715 1720 1725

[1887] Thr Ala Leu Ser Ser Ser Leu Glu Pro Ser Tyr Ala Glu Gly Ser

[1888] 1730 1735 1740

[1889] Gln Met Ser Thr Ser Ile Pro Leu Thr Ser Ser Pro Thr Thr Pro

[1890] 1745 1750 1755

[1891] Asp Val Glu Phe Ile Gly Gly Ser Thr Phe Trp Thr Lys Glu Val

[1892] 1760 1765 1770

[1893] Thr Thr Val Met Thr Ser Asp Ile Ser Lys Ser Ser Ala Arg Thr

[1894] 1775 1780 1785

[1895] Glu Ser Ser Ser Ala Thr Leu Met Ser Thr Ala Leu Gly Ser Thr

[1896] 1790 1795 1800

[1897] Glu Asn Thr Gly Lys Glu Lys Leu Arg Thr Ala Ser Met Asp Leu

[1898] 1805 1810 1815

[1899] Pro Ser Pro Thr Pro Ser Met Glu Val Thr Pro Trp Ile Ser Leu

[1900] 1820 1825 1830

[1901] Thr Leu Ser Asn Ala Pro Asn Thr Thr Asp Ser Leu Asp Leu Ser

[1902] 1835 1840 1845

[1903] His Gly Val His Thr Ser Ser Ala Gly Thr Leu Ala Thr Asp Arg

[1904] 1850 1855 1860

[1905] Ser Leu Asn Thr Gly Val Thr Arg Ala Ser Arg Leu Glu Asn Gly

[1906] 1865 1870 1875

[1907] Ser Asp Thr Ser Ser Lys Ser Leu Ser Met Gly Asn Ser Thr His

[1908] 1880 1885 1890

[1909] Thr Ser Met Thr Tyr Thr Glu Lys Ser Glu Val Ser Ser Ser Ile

[1910] 1895 1900 1905

[1911] His Pro Arg Pro Glu Thr Ser Ala Pro Gly Ala Glu Thr Thr Leu

[1912] 1910 1915 1920

[1913] Thr Ser Thr Pro Gly Asn Arg Ala Ile Ser Leu Thr Leu Pro Phe

[1914] 1925 1930 1935

[1915] Ser Ser Ile Pro Val Glu Glu Val Ile Ser Thr Gly Ile Thr Ser

[1916] 1940 1945 1950

[1917] Gly Pro Asp Ile Asn Ser Ala Pro Met Thr His Ser Pro Ile Thr

[1918] 1955 1960 1965

[1919] Pro Pro Thr Ile Val Trp Thr Ser Thr Gly Thr Ile Glu Gln Ser

[1920] 1970 1975 1980

[1921] Thr Gln Pro Leu His Ala Val Ser Ser Glu Lys Val Ser Val Gln

[1922] 1985 1990 1995

[1923] Thr Gln Ser Thr Pro Tyr Val Asn Ser Val Ala Val Ser Ala Ser

[1924] 2000 2005 2010

[1925] Pro Thr His Glu Asn Ser Val Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ser Ser

[1926] 2015 2020 2025

[1927] Pro Tyr Ser Ser Ala Ser Leu Glu Ser Leu Asp Ser Thr Ile Ser

[1928] 2030 2035 2040

[1929] Arg Arg Asn Ala Ile Thr Ser Trp Leu Trp Asp Leu Thr Thr Ser

[1930] 2045 2050 2055

[1931] Leu Pro Thr Thr Thr Trp Pro Ser Thr Ser Leu Ser Glu Ala Leu

[1932] 2060 2065 2070
[1933] Ser Ser Gly His Ser Gly Val Ser Asn Pro Ser Ser Thr Thr Thr
[1934] 2075 2080 2085
[1935] Glu Phe Pro Leu Phe Ser Ala Ala Ser Thr Ser Ala Ala Lys Gln
[1936] 2090 2095 2100
[1937] Arg Asn Pro Glu Thr Glu Thr His Gly Pro Gln Asn Thr Ala Ala
[1938] 2105 2110 2115
[1939] Ser Thr Leu Asn Thr Asp Ala Ser Ser Val Thr Gly Leu Ser Glu
[1940] 2120 2125 2130
[1941] Thr Pro Val Gly Ala Ser Ile Ser Ser Glu Val Pro Leu Pro Met
[1942] 2135 2140 2145
[1943] Ala Ile Thr Ser Arg Ser Asp Val Ser Gly Leu Thr Ser Glu Ser
[1944] 2150 2155 2160
[1945] Thr Ala Asn Pro Ser Leu Gly Thr Ala Ser Ser Ala Gly Thr Lys
[1946] 2165 2170 2175
[1947] Leu Thr Arg Thr Ile Ser Leu Pro Thr Ser Glu Ser Leu Val Ser
[1948] 2180 2185 2190
[1949] Phe Arg Met Asn Lys Asp Pro Trp Thr Val Ser Ile Pro Leu Gly
[1950] 2195 2200 2205
[1951] Ser His Pro Thr Thr Asn Thr Glu Thr Ser Ile Pro Val Asn Ser
[1952] 2210 2215 2220
[1953] Ala Gly Pro Pro Gly Leu Ser Thr Val Ala Ser Asp Val Ile Asp
[1954] 2225 2230 2235
[1955] Thr Pro Ser Asp Gly Ala Glu Ser Ile Pro Thr Val Ser Phe Ser
[1956] 2240 2245 2250
[1957] Pro Ser Pro Asp Thr Glu Val Thr Thr Ile Ser His Phe Pro Glu
[1958] 2255 2260 2265
[1959] Lys Thr Thr His Ser Phe Arg Thr Ile Ser Ser Leu Thr His Glu
[1960] 2270 2275 2280
[1961] Leu Thr Ser Arg Val Thr Pro Ile Pro Gly Asp Trp Met Ser Ser
[1962] 2285 2290 2295
[1963] Ala Met Ser Thr Lys Pro Thr Gly Ala Ser Pro Ser Ile Thr Leu
[1964] 2300 2305 2310
[1965] Gly Glu Arg Arg Thr Ile Thr Ser Ala Ala Pro Thr Thr Ser Pro
[1966] 2315 2320 2325
[1967] Ile Val Leu Thr Ala Ser Phe Thr Glu Thr Ser Thr Val Ser Leu
[1968] 2330 2335 2340
[1969] Asp Asn Glu Thr Thr Val Lys Thr Ser Asp Ile Leu Asp Ala Arg
[1970] 2345 2350 2355
[1971] Lys Thr Asn Glu Leu Pro Ser Asp Ser Ser Ser Ser Ser Asp Leu
[1972] 2360 2365 2370
[1973] Ile Asn Thr Ser Ile Ala Ser Ser Thr Met Asp Val Thr Lys Thr

[1974] 2375 2380 2385
[1975] Ala Ser Ile Ser Pro Thr Ser Ile Ser Gly Met Thr Ala Ser Ser
[1976] 2390 2395 2400
[1977] Ser Pro Ser Leu Phe Ser Ser Asp Arg Pro Gln Val Pro Thr Ser
[1978] 2405 2410 2415
[1979] Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Asn
[1980] 2420 2425 2430
[1981] Thr Tyr Ser Leu Asp Gly Gly Ser Asn Val Gly Gly Thr Pro Ser
[1982] 2435 2440 2445
[1983] Thr Leu Pro Pro Phe Thr Ile Thr His Pro Val Glu Thr Ser Ser
[1984] 2450 2455 2460
[1985] Ala Leu Leu Ala Trp Ser Arg Pro Val Arg Thr Phe Ser Thr Met
[1986] 2465 2470 2475
[1987] Val Ser Thr Asp Thr Ala Ser Gly Glu Asn Pro Thr Ser Ser Asn
[1988] 2480 2485 2490
[1989] Ser Val Val Thr Ser Val Pro Ala Pro Gly Thr Trp Thr Ser Val
[1990] 2495 2500 2505
[1991] Gly Ser Thr Thr Asp Leu Pro Ala Met Gly Phe Leu Lys Thr Ser
[1992] 2510 2515 2520
[1993] Pro Ala Gly Glu Ala His Ser Leu Leu Ala Ser Thr Ile Glu Pro
[1994] 2525 2530 2535
[1995] Ala Thr Ala Phe Thr Pro His Leu Ser Ala Ala Val Val Thr Gly
[1996] 2540 2545 2550
[1997] Ser Ser Ala Thr Ser Glu Ala Ser Leu Leu Thr Thr Ser Glu Ser
[1998] 2555 2560 2565
[1999] Lys Ala Ile His Ser Ser Pro Gln Thr Pro Thr Thr Pro Thr Ser
[2000] 2570 2575 2580
[2001] Gly Ala Asn Trp Glu Thr Ser Ala Thr Pro Glu Ser Leu Leu Val
[2002] 2585 2590 2595
[2003] Val Thr Glu Thr Ser Asp Thr Thr Leu Thr Ser Lys Ile Leu Val
[2004] 2600 2605 2610
[2005] Thr Asp Thr Ile Leu Phe Ser Thr Val Ser Thr Pro Pro Ser Lys
[2006] 2615 2620 2625
[2007] Phe Pro Ser Thr Gly Thr Leu Ser Gly Ala Ser Phe Pro Thr Leu
[2008] 2630 2635 2640
[2009] Leu Pro Asp Thr Pro Ala Ile Pro Leu Thr Ala Thr Glu Pro Thr
[2010] 2645 2650 2655
[2011] Ser Ser Leu Ala Thr Ser Phe Asp Ser Thr Pro Leu Val Thr Ile
[2012] 2660 2665 2670
[2013] Ala Ser Asp Ser Leu Gly Thr Val Pro Glu Thr Thr Leu Thr Met
[2014] 2675 2680 2685
[2015] Ser Glu Thr Ser Asn Gly Asp Ala Leu Val Leu Lys Thr Val Ser

[2016] 2690 2695 2700
[2017] Asn Pro Asp Arg Ser Ile Pro Gly Ile Thr Ile Gln Gly Val Thr
[2018] 2705 2710 2715
[2019] Glu Ser Pro Leu His Pro Ser Ser Thr Ser Pro Ser Lys Ile Val
[2020] 2720 2725 2730
[2021] Ala Pro Arg Asn Thr Thr Tyr Glu Gly Ser Ile Thr Val Ala Leu
[2022] 2735 2740 2745
[2023] Ser Thr Leu Pro Ala Gly Thr Thr Gly Ser Leu Val Phe Ser Gln
[2024] 2750 2755 2760
[2025] Ser Ser Glu Asn Ser Glu Thr Thr Ala Leu Val Asp Ser Ser Ala
[2026] 2765 2770 2775
[2027] Gly Leu Glu Arg Ala Ser Val Met Pro Leu Thr Thr Gly Ser Gln
[2028] 2780 2785 2790
[2029] Gly Met Ala Ser Ser Gly Gly Ile Arg Ser Gly Ser Thr His Ser
[2030] 2795 2800 2805
[2031] Thr Gly Thr Lys Thr Phe Ser Ser Leu Pro Leu Thr Met Asn Pro
[2032] 2810 2815 2820
[2033] Gly Glu Val Thr Ala Met Ser Glu Ile Thr Thr Asn Arg Leu Thr
[2034] 2825 2830 2835
[2035] Ala Thr Gln Ser Thr Ala Pro Lys Gly Ile Pro Val Lys Pro Thr
[2036] 2840 2845 2850
[2037] Ser Ala Glu Ser Gly Leu Leu Thr Pro Val Ser Ala Ser Ser Ser
[2038] 2855 2860 2865
[2039] Pro Ser Lys Ala Phe Ala Ser Leu Thr Thr Ala Pro Pro Thr Trp
[2040] 2870 2875 2880
[2041] Gly Ile Pro Gln Ser Thr Leu Thr Phe Glu Phe Ser Glu Val Pro
[2042] 2885 2890 2895
[2043] Ser Leu Asp Thr Lys Ser Ala Ser Leu Pro Thr Pro Gly Gln Ser
[2044] 2900 2905 2910
[2045] Leu Asn Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ala Ser Thr Ala Ser Ser Ser
[2046] 2915 2920 2925
[2047] Leu Ser Lys Ser Pro Glu Lys Asn Pro Arg Ala Arg Met Met Thr
[2048] 2930 2935 2940
[2049] Ser Thr Lys Ala Ile Ser Ala Ser Ser Phe Gln Ser Thr Gly Phe
[2050] 2945 2950 2955
[2051] Thr Glu Thr Pro Glu Gly Ser Ala Ser Pro Ser Met Ala Gly His
[2052] 2960 2965 2970
[2053] Glu Pro Arg Val Pro Thr Ser Gly Thr Gly Asp Pro Arg Tyr Ala
[2054] 2975 2980 2985
[2055] Ser Glu Ser Met Ser Tyr Pro Asp Pro Ser Lys Ala Ser Ser Ala
[2056] 2990 2995 3000
[2057] Met Thr Ser Thr Ser Leu Ala Ser Lys Leu Thr Thr Leu Phe Ser

[2058] 3005 3010 3015

[2059] Thr Gly Gln Ala Ala Arg Ser Gly Ser Ser Ser Ser Pro Ile Ser

[2060] 3020 3025 3030

[2061] Leu Ser Thr Glu Lys Glu Thr Ser Phe Leu Ser Pro Thr Ala Ser

[2062] 3035 3040 3045

[2063] Thr Ser Arg Lys Thr Ser Leu Phe Leu Gly Pro Ser Met Ala Arg

[2064] 3050 3055 3060

[2065] Gln Pro Asn Ile Leu Val His Leu Gln Thr Ser Ala Leu Thr Leu

[2066] 3065 3070 3075

[2067] Ser Pro Thr Ser Thr Leu Asn Met Ser Gln Glu Glu Pro Pro Glu

[2068] 3080 3085 3090

[2069] Leu Thr Ser Ser Gln Thr Ile Ala Glu Glu Glu Gly Thr Thr Ala

[2070] 3095 3100 3105

[2071] Glu Thr Gln Thr Leu Thr Phe Thr Pro Ser Glu Thr Pro Thr Ser

[2072] 3110 3115 3120

[2073] Leu Leu Pro Val Ser Ser Pro Thr Glu Pro Thr Ala Arg Arg Lys

[2074] 3125 3130 3135

[2075] Ser Ser Pro Glu Thr Trp Ala Ser Ser Ile Ser Val Pro Ala Lys

[2076] 3140 3145 3150

[2077] Thr Ser Leu Val Glu Thr Thr Asp Gly Thr Leu Val Thr Thr Ile

[2078] 3155 3160 3165

[2079] Lys Met Ser Ser Gln Ala Ala Gln Gly Asn Ser Thr Trp Pro Ala

[2080] 3170 3175 3180

[2081] Pro Ala Glu Glu Thr Gly Ser Ser Pro Ala Gly Thr Ser Pro Gly

[2082] 3185 3190 3195

[2083] Ser Pro Glu Met Ser Thr Thr Leu Lys Ile Met Ser Ser Lys Glu

[2084] 3200 3205 3210

[2085] Pro Ser Ile Ser Pro Glu Ile Arg Ser Thr Val Arg Asn Ser Pro

[2086] 3215 3220 3225

[2087] Trp Lys Thr Pro Glu Thr Thr Val Pro Met Glu Thr Thr Val Glu

[2088] 3230 3235 3240

[2089] Pro Val Thr Leu Gln Ser Thr Ala Leu Gly Ser Gly Ser Thr Ser

[2090] 3245 3250 3255

[2091] Ile Ser His Leu Pro Thr Gly Thr Thr Ser Pro Thr Lys Ser Pro

[2092] 3260 3265 3270

[2093] Thr Glu Asn Met Leu Ala Thr Glu Arg Val Ser Leu Ser Pro Ser

[2094] 3275 3280 3285

[2095] Pro Pro Glu Ala Trp Thr Asn Leu Tyr Ser Gly Thr Pro Gly Gly

[2096] 3290 3295 3300

[2097] Thr Arg Gln Ser Leu Ala Thr Met Ser Ser Val Ser Leu Glu Ser

[2098] 3305 3310 3315

[2099] Pro Thr Ala Arg Ser Ile Thr Gly Thr Gly Gln Gln Ser Ser Pro

[2100] 3320 3325 3330
[2101] Glu Leu Val Ser Lys Thr Thr Gly Met Glu Phe Ser Met Trp His
[2102] 3335 3340 3345
[2103] Gly Ser Thr Gly Gly Thr Thr Gly Asp Thr His Val Ser Leu Ser
[2104] 3350 3355 3360
[2105] Thr Ser Ser Asn Ile Leu Glu Asp Pro Val Thr Ser Pro Asn Ser
[2106] 3365 3370 3375
[2107] Val Ser Ser Leu Thr Asp Lys Ser Lys His Lys Thr Glu Thr Trp
[2108] 3380 3385 3390
[2109] Val Ser Thr Thr Ala Ile Pro Ser Thr Val Leu Asn Asn Lys Ile
[2110] 3395 3400 3405
[2111] Met Ala Ala Glu Gln Gln Thr Ser Arg Ser Val Asp Glu Ala Tyr
[2112] 3410 3415 3420
[2113] Ser Ser Thr Ser Ser Trp Ser Asp Gln Thr Ser Gly Ser Asp Ile
[2114] 3425 3430 3435
[2115] Thr Leu Gly Ala Ser Pro Asp Val Thr Asn Thr Leu Tyr Ile Thr
[2116] 3440 3445 3450
[2117] Ser Thr Ala Gln Thr Thr Ser Leu Val Ser Leu Pro Ser Gly Asp
[2118] 3455 3460 3465
[2119] Gln Gly Ile Thr Ser Leu Thr Asn Pro Ser Gly Gly Lys Thr Ser
[2120] 3470 3475 3480
[2121] Ser Ala Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Ile Gly Leu Glu Thr Leu
[2122] 3485 3490 3495
[2123] Arg Ala Asn Val Ser Ala Val Lys Ser Asp Ile Ala Pro Thr Ala
[2124] 3500 3505 3510
[2125] Gly His Leu Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ala Glu Val Ser Ile Leu
[2126] 3515 3520 3525
[2127] Asp Val Thr Thr Ala Pro Thr Pro Gly Ile Ser Thr Thr Ile Thr
[2128] 3530 3535 3540
[2129] Thr Met Gly Thr Asn Ser Ile Ser Thr Thr Thr Pro Asn Pro Glu
[2130] 3545 3550 3555
[2131] Val Gly Met Ser Thr Met Asp Ser Thr Pro Ala Thr Glu Arg Arg
[2132] 3560 3565 3570
[2133] Thr Thr Ser Thr Glu His Pro Ser Thr Trp Ser Ser Thr Ala Ala
[2134] 3575 3580 3585
[2135] Ser Asp Ser Trp Thr Val Thr Asp Met Thr Ser Asn Leu Lys Val
[2136] 3590 3595 3600
[2137] Ala Arg Ser Pro Gly Thr Ile Ser Thr Met His Thr Thr Ser Phe
[2138] 3605 3610 3615
[2139] Leu Ala Ser Ser Thr Glu Leu Asp Ser Met Ser Thr Pro His Gly
[2140] 3620 3625 3630
[2141] Arg Ile Thr Val Ile Gly Thr Ser Leu Val Thr Pro Ser Ser Asp

[2142] 3635 3640 3645
[2143] Ala Ser Ala Val Lys Thr Glu Thr Ser Thr Ser Glu Arg Thr Leu
[2144] 3650 3655 3660
[2145] Ser Pro Ser Asp Thr Thr Ala Ser Thr Pro Ile Ser Thr Phe Ser
[2146] 3665 3670 3675
[2147] Arg Val Gln Arg Met Ser Ile Ser Val Pro Asp Ile Leu Ser Thr
[2148] 3680 3685 3690
[2149] Ser Trp Thr Pro Ser Ser Thr Glu Ala Glu Asp Val Pro Val Ser
[2150] 3695 3700 3705
[2151] Met Val Ser Thr Asp His Ala Ser Thr Lys Thr Asp Pro Asn Thr
[2152] 3710 3715 3720
[2153] Pro Leu Ser Thr Phe Leu Phe Asp Ser Leu Ser Thr Leu Asp Trp
[2154] 3725 3730 3735
[2155] Asp Thr Gly Arg Ser Leu Ser Ser Ala Thr Ala Thr Thr Ser Ala
[2156] 3740 3745 3750
[2157] Pro Gln Gly Ala Thr Thr Pro Gln Glu Leu Thr Leu Glu Thr Met
[2158] 3755 3760 3765
[2159] Ile Ser Pro Ala Thr Ser Gln Leu Pro Phe Ser Ile Gly His Ile
[2160] 3770 3775 3780
[2161] Thr Ser Ala Val Thr Pro Ala Ala Met Ala Arg Ser Ser Gly Val
[2162] 3785 3790 3795
[2163] Thr Phe Ser Arg Pro Asp Pro Thr Ser Lys Lys Ala Glu Gln Thr
[2164] 3800 3805 3810
[2165] Ser Thr Gln Leu Pro Thr Thr Thr Ser Ala His Pro Gly Gln Val
[2166] 3815 3820 3825
[2167] Pro Arg Ser Ala Ala Thr Thr Leu Asp Val Ile Pro His Thr Ala
[2168] 3830 3835 3840
[2169] Lys Thr Pro Asp Ala Thr Phe Gln Arg Gln Gly Gln Thr Ala Leu
[2170] 3845 3850 3855
[2171] Thr Thr Glu Ala Arg Ala Thr Ser Asp Ser Trp Asn Glu Lys Glu
[2172] 3860 3865 3870
[2173] Lys Ser Thr Pro Ser Ala Pro Trp Ile Thr Glu Met Met Asn Ser
[2174] 3875 3880 3885
[2175] Val Ser Glu Asp Thr Ile Lys Glu Val Thr Ser Ser Ser Ser Val
[2176] 3890 3895 3900
[2177] Leu Arg Thr Leu Asn Thr Leu Asp Ile Asn Leu Glu Ser Gly Thr
[2178] 3905 3910 3915
[2179] Thr Ser Ser Pro Ser Trp Lys Ser Ser Pro Tyr Glu Arg Ile Ala
[2180] 3920 3925 3930
[2181] Pro Ser Glu Ser Thr Thr Asp Lys Glu Ala Ile His Pro Ser Thr
[2182] 3935 3940 3945
[2183] Asn Thr Val Glu Thr Thr Gly Trp Val Thr Ser Ser Glu His Ala

[2184] 3950 3955 3960

[2185] Ser His Ser Thr Ile Pro Ala His Ser Ala Ser Ser Lys Leu Thr

[2186] 3965 3970 3975

[2187] Ser Pro Val Val Thr Thr Ser Thr Arg Glu Gln Ala Ile Val Ser

[2188] 3980 3985 3990

[2189] Met Ser Thr Thr Thr Trp Pro Glu Ser Thr Arg Ala Arg Thr Glu

[2190] 3995 4000 4005

[2191] Pro Asn Ser Phe Leu Thr Ile Glu Leu Arg Asp Val Ser Pro Tyr

[2192] 4010 4015 4020

[2193] Met Asp Thr Ser Ser Thr Thr Gln Thr Ser Ile Ile Ser Ser Pro

[2194] 4025 4030 4035

[2195] Gly Ser Thr Ala Ile Thr Lys Gly Pro Arg Thr Glu Ile Thr Ser

[2196] 4040 4045 4050

[2197] Ser Lys Arg Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Gln Ser Met Arg Ser

[2198] 4055 4060 4065

[2199] Ser Asp Ser Pro Ser Glu Ala Ile Thr Arg Leu Ser Asn Phe Pro

[2200] 4070 4075 4080

[2201] Ala Met Thr Glu Ser Gly Gly Met Ile Leu Ala Met Gln Thr Ser

[2202] 4085 4090 4095

[2203] Pro Pro Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Pro Thr Leu Asp Thr Ser

[2204] 4100 4105 4110

[2205] Ala Thr Ala Ser Trp Thr Gly Thr Pro Leu Ala Thr Thr Gln Arg

[2206] 4115 4120 4125

[2207] Phe Thr Tyr Ser Glu Lys Thr Thr Leu Phe Ser Lys Gly Pro Glu

[2208] 4130 4135 4140

[2209] Asp Thr Ser Gln Pro Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser

[2210] 4145 4150 4155

[2211] Ser Ser Ser Leu Val Pro Ile His Ala Thr Thr Ser Pro Ser Asn

[2212] 4160 4165 4170

[2213] Ile Leu Leu Thr Ser Gln Gly His Ser Pro Ser Ser Thr Pro Pro

[2214] 4175 4180 4185

[2215] Val Thr Ser Val Phe Leu Ser Glu Thr Ser Gly Leu Gly Lys Thr

[2216] 4190 4195 4200

[2217] Thr Asp Met Ser Arg Ile Ser Leu Glu Pro Gly Thr Ser Leu Pro

[2218] 4205 4210 4215

[2219] Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ala Gly Glu Ala Leu Ser Thr Tyr Glu

[2220] 4220 4225 4230

[2221] Ala Ser Arg Asp Thr Lys Ala Ile His His Ser Ala Asp Thr Ala

[2222] 4235 4240 4245

[2223] Val Thr Asn Met Glu Ala Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Pro Ile Pro

[2224] 4250 4255 4260

[2225] Gly His Thr Lys Pro Ser Lys Ala Thr Ser Pro Leu Val Thr Ser

[2226] 4265 4270 4275
[2227] His Ile Met Gly Asp Ile Thr Ser Ser Thr Ser Val Phe Gly Ser
[2228] 4280 4285 4290
[2229] Ser Glu Thr Thr Glu Ile Glu Thr Val Ser Ser Val Asn Gln Gly
[2230] 4295 4300 4305
[2231] Leu Gln Glu Arg Ser Thr Ser Gln Val Ala Ser Ser Ala Thr Glu
[2232] 4310 4315 4320
[2233] Thr Ser Thr Val Ile Thr His Val Ser Ser Gly Asp Ala Thr Thr
[2234] 4325 4330 4335
[2235] His Val Thr Lys Thr Gln Ala Thr Phe Ser Ser Gly Thr Ser Ile
[2236] 4340 4345 4350
[2237] Ser Ser Pro His Gln Phe Ile Thr Ser Thr Asn Thr Phe Thr Asp
[2238] 4355 4360 4365
[2239] Val Ser Thr Asn Pro Ser Thr Ser Leu Ile Met Thr Glu Ser Ser
[2240] 4370 4375 4380
[2241] Gly Val Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro Thr Gly Ala Ala Thr
[2242] 4385 4390 4395
[2243] Gln Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Thr Met Pro Tyr Leu Thr
[2244] 4400 4405 4410
[2245] Glu Thr Pro Leu Ala Val Thr Pro Asp Phe Met Gln Ser Glu Lys
[2246] 4415 4420 4425
[2247] Thr Thr Leu Ile Ser Lys Gly Pro Lys Asp Val Ser Trp Thr Ser
[2248] 4430 4435 4440
[2249] Pro Pro Ser Val Ala Glu Thr Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Thr Pro
[2250] 4445 4450 4455
[2251] Phe Leu Val Thr Thr Ile Pro Pro Ala Thr Ser Thr Leu Gln Gly
[2252] 4460 4465 4470
[2253] Gln His Thr Ser Ser Pro Val Ser Ala Thr Ser Val Leu Thr Ser
[2254] 4475 4480 4485
[2255] Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Asn Thr Ser Met Glu Pro
[2256] 4490 4495 4500
[2257] Val Thr Asn Ser Pro Gln Asn Leu Asn Asn Pro Ser Asn Glu Ile
[2258] 4505 4510 4515
[2259] Leu Ala Thr Leu Ala Ala Thr Thr Asp Ile Glu Thr Ile His Pro
[2260] 4520 4525 4530
[2261] Ser Ile Asn Lys Ala Val Thr Asn Met Gly Thr Ala Ser Ser Ala
[2262] 4535 4540 4545
[2263] His Val Leu His Ser Thr Leu Pro Val Ser Ser Glu Pro Ser Thr
[2264] 4550 4555 4560
[2265] Ala Thr Ser Pro Met Val Pro Ala Ser Ser Met Gly Asp Ala Leu
[2266] 4565 4570 4575
[2267] Ala Ser Ile Ser Ile Pro Gly Ser Glu Thr Thr Asp Ile Glu Gly

[2268] 4580 4585 4590

[2269] Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ala Gly Arg Lys Glu Asn Ser Thr

[2270] 4595 4600 4605

[2271] Leu Gln Glu Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser Asn Ile Ile Leu Ser

[2272] 4610 4615 4620

[2273] Asn Val Ser Val Gly Ala Ile Thr Glu Ala Thr Lys Met Glu Val

[2274] 4625 4630 4635

[2275] Pro Ser Phe Asp Ala Thr Phe Ile Pro Thr Pro Ala Gln Ser Thr

[2276] 4640 4645 4650

[2277] Lys Phe Pro Asp Ile Phe Ser Val Ala Ser Ser Arg Leu Ser Asn

[2278] 4655 4660 4665

[2279] Ser Pro Pro Met Thr Ile Ser Thr His Met Thr Thr Thr Gln Thr

[2280] 4670 4675 4680

[2281] Gly Ser Ser Gly Ala Thr Ser Lys Ile Pro Leu Ala Leu Asp Thr

[2282] 4685 4690 4695

[2283] Ser Thr Leu Glu Thr Ser Ala Gly Thr Pro Ser Val Val Thr Glu

[2284] 4700 4705 4710

[2285] Gly Phe Ala His Ser Lys Ile Thr Thr Ala Met Asn Asn Asp Val

[2286] 4715 4720 4725

[2287] Lys Asp Val Ser Gln Thr Asn Pro Pro Phe Gln Asp Glu Ala Ser

[2288] 4730 4735 4740

[2289] Ser Pro Ser Ser Gln Ala Pro Val Leu Val Thr Thr Leu Pro Ser

[2290] 4745 4750 4755

[2291] Ser Val Ala Phe Thr Pro Gln Trp His Ser Thr Ser Ser Pro Val

[2292] 4760 4765 4770

[2293] Ser Met Ser Ser Val Leu Thr Ser Ser Leu Val Lys Thr Ala Gly

[2294] 4775 4780 4785

[2295] Lys Val Asp Thr Ser Leu Glu Thr Val Thr Ser Ser Pro Gln Ser

[2296] 4790 4795 4800

[2297] Met Ser Asn Thr Leu Asp Asp Ile Ser Val Thr Ser Ala Ala Thr

[2298] 4805 4810 4815

[2299] Thr Asp Ile Glu Thr Thr His Pro Ser Ile Asn Thr Val Val Thr

[2300] 4820 4825 4830

[2301] Asn Val Gly Thr Thr Gly Ser Ala Phe Glu Ser His Ser Thr Val

[2302] 4835 4840 4845

[2303] Ser Ala Tyr Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Asn Val Thr

[2304] 4850 4855 4860

[2305] Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Thr Ile Ser Arg Ser Ile Pro Lys

[2306] 4865 4870 4875

[2307] Ser Ser Lys Thr Thr Arg Thr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Ser Leu

[2308] 4880 4885 4890

[2309] Thr Pro Lys Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Glu Ile Thr Ser

[2310] 4895 4900 4905

[2311] Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val Pro Tyr Lys Glu Leu Thr Gly Ala

[2312] 4910 4915 4920

[2313] Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Asp Val Thr Ser Ser Ser Ser Thr

[2314] 4925 4930 4935

[2315] Ser Phe Pro Gly Pro Asp Gln Ser Thr Val Ser Leu Asp Ile Ser

[2316] 4940 4945 4950

[2317] Thr Glu Thr Asn Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu

[2318] 4955 4960 4965

[2319] Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro His Gly Ala

[2320] 4970 4975 4980

[2321] Thr Ser Gln Asp Thr Phe Thr Met Asp Pro Ser Asn Thr Thr Pro

[2322] 4985 4990 4995

[2323] Gln Ala Gly Ile His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln Leu

[2324] 5000 5005 5010

[2325] Asp Val Thr Thr Leu Met Ser Arg Ile Pro Gln Asp Val Ser Trp

[2326] 5015 5020 5025

[2327] Thr Ser Pro Pro Ser Val Asp Lys Thr Ser Ser Pro Ser Ser Phe

[2328] 5030 5035 5040

[2329] Leu Ser Ser Pro Ala Met Thr Thr Pro Ser Leu Ile Ser Ser Thr

[2330] 5045 5050 5055

[2331] Leu Pro Glu Asp Lys Leu Ser Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr

[2332] 5060 5065 5070

[2333] Ser Gly Leu Val Lys Ile Thr Asp Ile Leu Arg Thr Arg Leu Glu

[2334] 5075 5080 5085

[2335] Pro Val Thr Ser Ser Leu Pro Asn Phe Ser Ser Thr Ser Asp Lys

[2336] 5090 5095 5100

[2337] Ile Leu Ala Thr Ser Lys Asp Ser Lys Asp Thr Lys Glu Ile Phe

[2338] 5105 5110 5115

[2339] Pro Ser Ile Asn Thr Glu Glu Thr Asn Val Lys Ala Asn Asn Ser

[2340] 5120 5125 5130

[2341] Gly His Glu Ser His Ser Pro Ala Leu Ala Asp Ser Glu Thr Pro

[2342] 5135 5140 5145

[2343] Lys Ala Thr Thr Gln Met Val Ile Thr Thr Thr Val Gly Asp Pro

[2344] 5150 5155 5160

[2345] Ala Pro Ser Thr Ser Met Pro Val His Gly Ser Ser Glu Thr Thr

[2346] 5165 5170 5175

[2347] Asn Ile Lys Arg Glu Pro Thr Tyr Phe Leu Thr Pro Arg Leu Arg

[2348] 5180 5185 5190

[2349] Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ser Ser Phe Pro Thr Asp Thr Ser

[2350] 5195 5200 5205

[2351] Phe Leu Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Thr Ile Thr Glu Val Ser

[2352] 5210 5215 5220
[2353] Ser Thr Gly Val Asn Ser Ser Ser Lys Ile Ser Thr Pro Asp His
[2354] 5225 5230 5235
[2355] Asp Lys Ser Thr Val Pro Pro Asp Thr Phe Thr Gly Glu Ile Pro
[2356] 5240 5245 5250
[2357] Arg Val Phe Thr Ser Ser Ile Lys Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr
[2358] 5255 5260 5265
[2359] Ile Thr Thr Gln Ala Ser Pro Pro Glu Ser Ala Ser His Ser Thr
[2360] 5270 5275 5280
[2361] Leu Pro Leu Asp Thr Ser Thr Thr Leu Ser Gln Gly Gly Thr His
[2362] 5285 5290 5295
[2363] Ser Thr Val Thr Gln Gly Phe Pro Tyr Ser Glu Val Thr Thr Leu
[2364] 5300 5305 5310
[2365] Met Gly Met Gly Pro Gly Asn Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro
[2366] 5315 5320 5325
[2367] Val Glu Glu Thr Ser Ser Val Ser Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala
[2368] 5330 5335 5340
[2369] Met Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Gln Ser Ile
[2370] 5345 5350 5355
[2371] Pro Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ala Leu Pro Thr Ser Val Leu
[2372] 5360 5365 5370
[2373] Val Thr Thr Thr Asp Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Ser Val
[2374] 5375 5380 5385
[2375] Thr Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Ile Thr His Glu Arg Pro
[2376] 5390 5395 5400
[2377] Ala Thr Tyr Lys Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Ala Met His His
[2378] 5405 5410 5415
[2379] Ser Thr Asn Thr Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Ser Gly Ser Gly
[2380] 5420 5425 5430
[2381] His Lys Ser Gln Ser Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Ser Lys
[2382] 5435 5440 5445
[2383] Ala Thr Pro Leu Met Ser Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asp Thr Ser
[2384] 5450 5455 5460
[2385] Val Ser Thr Ser Thr Pro Asn Ile Ser Gln Thr Asn Gln Ile Gln
[2386] 5465 5470 5475
[2387] Thr Glu Pro Thr Ala Ser Leu Ser Pro Arg Leu Arg Glu Ser Ser
[2388] 5480 5485 5490
[2389] Thr Ser Glu Lys Thr Ser Ser Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Phe
[2390] 5495 5500 5505
[2391] Ser Tyr Val Pro Thr Gly Ala Ile Thr Gln Ala Ser Arg Thr Glu
[2392] 5510 5515 5520
[2393] Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Asp Leu Asp Arg Pro Thr

[2394] 5525 5530 5535

[2395] Ile Ala Pro Asp Ile Ser Thr Gly Met Ile Thr Arg Leu Phe Thr

[2396] 5540 5545 5550

[2397] Ser Pro Ile Met Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr Val Thr Thr Gln

[2398] 5555 5560 5565

[2399] Thr Thr Thr Pro Gly Ala Thr Ser Gln Gly Ile Leu Pro Trp Asp

[2400] 5570 5575 5580

[2401] Thr Ser Thr Thr Leu Phe Gln Gly Gly Thr His Ser Thr Val Ser

[2402] 5585 5590 5595

[2403] Gln Gly Phe Pro His Ser Glu Ile Thr Thr Leu Arg Ser Arg Thr

[2404] 5600 5605 5610

[2405] Pro Gly Asp Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro Val Glu Glu Thr

[2406] 5615 5620 5625

[2407] Ser Ser Gly Phe Ser Leu Met Ser Pro Ser Met Thr Ser Pro Ser

[2408] 5630 5635 5640

[2409] Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Glu Ser Ile Pro Ser Ser Pro Leu

[2410] 5645 5650 5655

[2411] Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Ser Val Leu Val Thr Thr Thr Asn

[2412] 5660 5665 5670

[2413] Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Pro Val Thr Ser Ser Pro Pro

[2414] 5675 5680 5685

[2415] Asn Leu Ser Ser Pro Thr Gln Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys Asp

[2416] 5690 5695 5700

[2417] Thr Ala His Thr Glu Ala Met His Ala Ser Met His Thr Asn Thr

[2418] 5705 5710 5715

[2419] Ala Val Ala Asn Val Gly Thr Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln

[2420] 5720 5725 5730

[2421] Ser Ser Val Pro Ala Asp Ser His Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro

[2422] 5735 5740 5745

[2423] Met Gly Ile Thr Phe Ala Met Gly Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser

[2424] 5750 5755 5760

[2425] Thr Pro Ala Phe Phe Glu Thr Arg Ile Gln Thr Glu Ser Thr Ser

[2426] 5765 5770 5775

[2427] Ser Leu Ile Pro Gly Leu Arg Asp Thr Arg Thr Ser Glu Glu Ile

[2428] 5780 5785 5790

[2429] Asn Thr Val Thr Glu Thr Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Thr

[2430] 5795 5800 5805

[2431] Thr Thr Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Ile Thr Ser Ser

[2432] 5810 5815 5820

[2433] Arg Thr Thr Ile Ser Gly Pro Asp His Ser Lys Met Ser Pro Tyr

[2434] 5825 5830 5835

[2435] Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Ser Thr Phe Pro Phe Val

[2436] 5840 5845 5850

[2437] Thr Gly Ser Thr Glu Met Ala Ile Thr Asn Gln Thr Gly Pro Ile

[2438] 5855 5860 5865

[2439] Gly Thr Ile Ser Gln Ala Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Ser Thr

[2440] 5870 5875 5880

[2441] Ala Ser Trp Glu Gly Thr His Ser Pro Val Thr Gln Arg Phe Pro

[2442] 5885 5890 5895

[2443] His Ser Glu Glu Thr Thr Thr Met Ser Arg Ser Thr Lys Gly Val

[2444] 5900 5905 5910

[2445] Ser Trp Gln Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Pro Ser

[2446] 5915 5920 5925

[2447] Ser Pro Val Pro Leu Pro Ala Ile Thr Ser His Ser Ser Leu Tyr

[2448] 5930 5935 5940

[2449] Ser Ala Val Ser Gly Ser Ser Pro Thr Ser Ala Leu Pro Val Thr

[2450] 5945 5950 5955

[2451] Ser Leu Leu Thr Ser Gly Arg Arg Lys Thr Ile Asp Met Leu Asp

[2452] 5960 5965 5970

[2453] Thr His Ser Glu Leu Val Thr Ser Ser Leu Pro Ser Ala Ser Ser

[2454] 5975 5980 5985

[2455] Phe Ser Gly Glu Ile Leu Thr Ser Glu Ala Ser Thr Asn Thr Glu

[2456] 5990 5995 6000

[2457] Thr Ile His Phe Ser Glu Asn Thr Ala Glu Thr Asn Met Gly Thr

[2458] 6005 6010 6015

[2459] Thr Asn Ser Met His Lys Leu His Ser Ser Val Ser Ile His Ser

[2460] 6020 6025 6030

[2461] Gln Pro Ser Gly His Thr Pro Pro Lys Val Thr Gly Ser Met Met

[2462] 6035 6040 6045

[2463] Glu Asp Ala Ile Val Ser Thr Ser Thr Pro Gly Ser Pro Glu Thr

[2464] 6050 6055 6060

[2465] Lys Asn Val Asp Arg Asp Ser Thr Ser Pro Leu Thr Pro Glu Leu

[2466] 6065 6070 6075

[2467] Lys Glu Asp Ser Thr Ala Leu Val Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser

[2468] 6080 6085 6090

[2469] Asn Thr Val Phe Ser Ser Val Ser Leu Asp Ala Ala Thr Glu Val

[2470] 6095 6100 6105

[2471] Ser Arg Ala Glu Val Thr Tyr Tyr Asp Pro Thr Phe Met Pro Ala

[2472] 6110 6115 6120

[2473] Ser Ala Gln Ser Thr Lys Ser Pro Asp Ile Ser Pro Glu Ala Ser

[2474] 6125 6130 6135

[2475] Ser Ser His Ser Asn Ser Pro Pro Leu Thr Ile Ser Thr His Lys

[2476] 6140 6145 6150

[2477] Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly Val Thr Ser Leu Gly

[2478] 6155 6160 6165

[2479] Gln Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Ile Ala Thr Ser Ala Gly Thr

[2480] 6170 6175 6180

[2481] Pro Ser Ala Arg Thr Gln Asp Phe Val Asp Ser Glu Thr Thr Ser

[2482] 6185 6190 6195

[2483] Val Met Asn Asn Asp Leu Asn Asp Val Leu Lys Thr Ser Pro Phe

[2484] 6200 6205 6210

[2485] Ser Ala Glu Glu Ala Asn Ser Leu Ser Ser Gln Ala Pro Leu Leu

[2486] 6215 6220 6225

[2487] Val Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Thr Ser Thr Leu Gln Glu His

[2488] 6230 6235 6240

[2489] Ser Thr Ser Ser Leu Val Ser Val Thr Ser Val Pro Thr Pro Thr

[2490] 6245 6250 6255

[2491] Leu Ala Lys Ile Thr Asp Met Asp Thr Asn Leu Glu Pro Val Thr

[2492] 6260 6265 6270

[2493] Arg Ser Pro Gln Asn Leu Arg Asn Thr Leu Ala Thr Ser Glu Ala

[2494] 6275 6280 6285

[2495] Thr Thr Asp Thr His Thr Met His Pro Ser Ile Asn Thr Ala Val

[2496] 6290 6295 6300

[2497] Ala Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Pro Asn Glu Phe Tyr Phe Thr

[2498] 6305 6310 6315

[2499] Val Ser Pro Asp Ser Asp Pro Tyr Lys Ala Thr Ser Ala Val Val

[2500] 6320 6325 6330

[2501] Ile Thr Ser Thr Ser Gly Asp Ser Ile Val Ser Thr Ser Met Pro

[2502] 6335 6340 6345

[2503] Arg Ser Ser Ala Met Lys Lys Ile Glu Ser Glu Thr Thr Phe Ser

[2504] 6350 6355 6360

[2505] Leu Ile Phe Arg Leu Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Lys Ile Gly

[2506] 6365 6370 6375

[2507] Ser Ser Ser Asp Thr Ser Thr Val Phe Asp Lys Ala Phe Thr Ala

[2508] 6380 6385 6390

[2509] Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Leu Thr Ser Ser Ser Arg

[2510] 6395 6400 6405

[2511] Thr Ser Ile Gln Gly Thr Glu Lys Pro Thr Met Ser Pro Asp Thr

[2512] 6410 6415 6420

[2513] Ser Thr Arg Ser Val Thr Met Leu Ser Thr Phe Ala Gly Leu Thr

[2514] 6425 6430 6435

[2515] Lys Ser Glu Glu Arg Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro His Arg

[2516] 6440 6445 6450

[2517] Ala Thr Ser Gln Gly Thr Leu Thr Trp Asp Thr Ser Ile Thr Thr

[2518] 6455 6460 6465

[2519] Ser Gln Ala Gly Thr His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln

[2520] 6470 6475 6480
[2521] Leu Asp Leu Ser Thr Leu Thr Ser Arg Val Pro Glu Tyr Ile Ser
[2522] 6485 6490 6495
[2523] Gly Thr Ser Pro Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
[2524] 6500 6505 6510
[2525] Leu Leu Ser Leu Pro Ala Ile Thr Ser Pro Ser Pro Val Pro Thr
[2526] 6515 6520 6525
[2527] Thr Leu Pro Glu Ser Arg Pro Ser Ser Pro Val His Leu Thr Ser
[2528] 6530 6535 6540
[2529] Leu Pro Thr Ser Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Ala Ser
[2530] 6545 6550 6555
[2531] Val Ala Ser Leu Pro Pro Asn Leu Gly Ser Thr Ser His Lys Ile
[2532] 6560 6565 6570
[2533] Pro Thr Thr Ser Glu Asp Ile Lys Asp Thr Glu Lys Met Tyr Pro
[2534] 6575 6580 6585
[2535] Ser Thr Asn Ile Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Thr Ser Glu
[2536] 6590 6595 6600
[2537] Lys Glu Ser Tyr Ser Ser Val Pro Ala Tyr Ser Glu Pro Pro Lys
[2538] 6605 6610 6615
[2539] Val Thr Ser Pro Met Val Thr Ser Phe Asn Ile Arg Asp Thr Ile
[2540] 6620 6625 6630
[2541] Val Ser Thr Ser Met Pro Gly Ser Ser Glu Ile Thr Arg Ile Glu
[2542] 6635 6640 6645
[2543] Met Glu Ser Thr Phe Ser Leu Ala His Gly Leu Lys Gly Thr Ser
[2544] 6650 6655 6660
[2545] Thr Ser Gln Asp Pro Ile Val Ser Thr Glu Lys Ser Ala Val Leu
[2546] 6665 6670 6675
[2547] His Lys Leu Thr Thr Gly Ala Thr Glu Thr Ser Arg Thr Glu Val
[2548] 6680 6685 6690
[2549] Ala Ser Ser Arg Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Asp His Ser Thr
[2550] 6695 6700 6705
[2551] Glu Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Pro Ser Leu Pro Ile
[2552] 6710 6715 6720
[2553] Ser Leu Gly Ile Thr Glu Ser Ser Asn Met Thr Ile Ile Thr Arg
[2554] 6725 6730 6735
[2555] Thr Gly Pro Pro Leu Gly Ser Thr Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu
[2556] 6740 6745 6750
[2557] Asp Thr Pro Thr Thr Ser Ser Arg Ala Gly Thr His Ser Met Ala
[2558] 6755 6760 6765
[2559] Thr Gln Glu Phe Pro His Ser Glu Met Thr Thr Val Met Asn Lys
[2560] 6770 6775 6780
[2561] Asp Pro Glu Ile Leu Ser Trp Thr Ile Pro Pro Ser Ile Glu Lys

[2562] 6785 6790 6795

[2563] Thr Ser Phe Ser Ser Ser Leu Met Pro Ser Pro Ala Met Thr Ser

[2564] 6800 6805 6810

[2565] Pro Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Lys Thr Ile His Thr Thr Pro

[2566] 6815 6820 6825

[2567] Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr Pro Ser Leu Val Met Thr Thr

[2568] 6830 6835 6840

[2569] Asp Thr Leu Gly Thr Ser Pro Glu Pro Thr Thr Ser Ser Pro Pro

[2570] 6845 6850 6855

[2571] Asn Leu Ser Ser Thr Ser His Glu Ile Leu Thr Thr Asp Glu Asp

[2572] 6860 6865 6870

[2573] Thr Thr Ala Ile Glu Ala Met His Pro Ser Thr Ser Thr Ala Ala

[2574] 6875 6880 6885

[2575] Thr Asn Val Glu Thr Thr Ser Ser Gly His Gly Ser Gln Ser Ser

[2576] 6890 6895 6900

[2577] Val Leu Ala Asp Ser Glu Lys Thr Lys Ala Thr Ala Pro Met Asp

[2578] 6905 6910 6915

[2579] Thr Thr Ser Thr Met Gly His Thr Thr Val Ser Thr Ser Met Ser

[2580] 6920 6925 6930

[2581] Val Ser Ser Glu Thr Thr Lys Ile Lys Arg Glu Ser Thr Tyr Ser

[2582] 6935 6940 6945

[2583] Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Asn Ala Ser

[2584] 6950 6955 6960

[2585] Phe Ser Thr Asp Thr Ser Ile Val Leu Ser Glu Val Pro Thr Gly

[2586] 6965 6970 6975

[2587] Thr Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Gly Arg

[2588] 6980 6985 6990

[2589] Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ser Gln Ser Thr Val Leu Pro Glu Ile

[2590] 6995 7000 7005

[2591] Ser Thr Arg Thr Met Thr Arg Leu Phe Ala Ser Pro Thr Met Thr

[2592] 7010 7015 7020

[2593] Glu Ser Ala Glu Met Thr Ile Pro Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly

[2594] 7025 7030 7035

[2595] Ser Thr Ser Gln Asp Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Lys

[2596] 7040 7045 7050

[2597] Ser Gln Ala Lys Thr His Ser Thr Leu Thr Gln Arg Phe Pro His

[2598] 7055 7060 7065

[2599] Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Gly Pro Gly Asp Met Ser

[2600] 7070 7075 7080

[2601] Trp Gln Ser Ser Pro Ser Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Pro Ser

[2602] 7085 7090 7095

[2603] Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Pro Pro Ile Ser Ser

[2604] 7100 7105 7110

[2605] Thr Leu Pro Val Thr Ile Ser Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ser

[2606] 7115 7120 7125

[2607] Leu Leu Thr Ser Ser Pro Val Thr Thr Thr Asp Met Leu His Thr

[2608] 7130 7135 7140

[2609] Ser Pro Glu Leu Val Thr Ser Ser Pro Pro Lys Leu Ser His Thr

[2610] 7145 7150 7155

[2611] Ser Asp Glu Arg Leu Thr Thr Gly Lys Asp Thr Thr Asn Thr Glu

[2612] 7160 7165 7170

[2613] Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ile

[2614] 7175 7180 7185

[2615] Pro Ser Ser Gly His Glu Ser Pro Ser Ser Ala Leu Ala Asp Ser

[2616] 7190 7195 7200

[2617] Glu Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro Met Phe Ile Thr Ser Thr Gln

[2618] 7205 7210 7215

[2619] Glu Asp Thr Thr Val Ala Ile Ser Thr Pro His Phe Leu Glu Thr

[2620] 7220 7225 7230

[2621] Ser Arg Ile Gln Lys Glu Ser Ile Ser Ser Leu Ser Pro Lys Leu

[2622] 7235 7240 7245

[2623] Arg Glu Thr Gly Ser Ser Val Glu Thr Ser Ser Ala Ile Glu Thr

[2624] 7250 7255 7260

[2625] Ser Ala Val Leu Ser Glu Val Ser Ile Gly Ala Thr Thr Glu Ile

[2626] 7265 7270 7275

[2627] Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Gly

[2628] 7280 7285 7290

[2629] Ser Ala Glu Ser Thr Met Leu Pro Glu Ile Ser Thr Thr Arg Lys

[2630] 7295 7300 7305

[2631] Ile Ile Lys Phe Pro Thr Ser Pro Ile Leu Ala Glu Ser Ser Glu

[2632] 7310 7315 7320

[2633] Met Thr Ile Lys Thr Gln Thr Ser Pro Pro Gly Ser Thr Ser Glu

[2634] 7325 7330 7335

[2635] Ser Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Pro Ser Leu Val Ile

[2636] 7340 7345 7350

[2637] Thr His Ser Thr Met Thr Gln Arg Leu Pro His Ser Glu Ile Thr

[2638] 7355 7360 7365

[2639] Thr Leu Val Ser Arg Gly Ala Gly Asp Val Pro Arg Pro Ser Ser

[2640] 7370 7375 7380

[2641] Leu Pro Val Glu Glu Thr Ser Pro Pro Ser Ser Gln Leu Ser Leu

[2642] 7385 7390 7395

[2643] Ser Ala Met Ile Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Ala

[2644] 7400 7405 7410

[2645] Ser Ser His Ser Ser Ser Ala Ser Val Thr Ser Leu Leu Thr Pro

[2646] 7415 7420 7425

[2647] Gly Gln Val Lys Thr Thr Glu Val Leu Asp Ala Ser Ala Glu Pro

[2648] 7430 7435 7440

[2649] Glu Thr Ser Ser Pro Pro Ser Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile

[2650] 7445 7450 7455

[2651] Leu Ala Thr Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro

[2652] 7460 7465 7470

[2653] Phe Ser Asn Thr Ala Val Thr Lys Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly

[2654] 7475 7480 7485

[2655] His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Pro Asp Ser Glu Thr Thr Lys

[2656] 7490 7495 7500

[2657] Ala Thr Ser Ala Met Gly Thr Ile Ser Ile Met Gly Asp Thr Ser

[2658] 7505 7510 7515

[2659] Val Ser Thr Leu Thr Pro Ala Leu Ser Asn Thr Arg Lys Ile Gln

[2660] 7520 7525 7530

[2661] Ser Glu Pro Ala Ser Ser Leu Thr Thr Arg Leu Arg Glu Thr Ser

[2662] 7535 7540 7545

[2663] Thr Ser Glu Glu Thr Ser Leu Ala Thr Glu Ala Asn Thr Val Leu

[2664] 7550 7555 7560

[2665] Ser Lys Val Ser Thr Gly Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu

[2666] 7565 7570 7575

[2667] Ala Ile Ser Phe Ser Arg Thr Ser Met Ser Gly Pro Glu Gln Ser

[2668] 7580 7585 7590

[2669] Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Ile Gly Thr Ile Pro Arg Ile Ser

[2670] 7595 7600 7605

[2671] Ala Ser Ser Val Leu Thr Glu Ser Ala Lys Met Thr Ile Thr Thr

[2672] 7610 7615 7620

[2673] Gln Thr Gly Pro Ser Glu Ser Thr Leu Glu Ser Thr Leu Asn Leu

[2674] 7625 7630 7635

[2675] Asn Thr Ala Thr Thr Pro Ser Trp Val Glu Thr His Ser Ile Val

[2676] 7640 7645 7650

[2677] Ile Gln Gly Phe Pro His Pro Glu Met Thr Thr Ser Met Gly Arg

[2678] 7655 7660 7665

[2679] Gly Pro Gly Gly Val Ser Trp Pro Ser Pro Pro Phe Val Lys Glu

[2680] 7670 7675 7680

[2681] Thr Ser Pro Pro Ser Ser Pro Leu Ser Leu Pro Ala Val Thr Ser

[2682] 7685 7690 7695

[2683] Pro His Pro Val Ser Thr Thr Phe Leu Ala His Ile Pro Pro Ser

[2684] 7700 7705 7710

[2685] Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Pro Ala Thr Thr

[2686] 7715 7720 7725

[2687] Thr Asp Ile Leu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Gly Thr Ser Ser Ser

[2688] 7730 7735 7740

[2689] Ser Ser Leu Ser Thr Thr Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys

[2690] 7745 7750 7755

[2691] Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Gly

[2692] 7760 7765 7770

[2693] Gly Thr Asn Val Ala Thr Thr Ser Ser Gly Tyr Lys Ser Gln Ser

[2694] 7775 7780 7785

[2695] Ser Val Leu Ala Asp Ser Ser Pro Met Cys Thr Thr Ser Thr Met

[2696] 7790 7795 7800

[2697] Gly Asp Thr Ser Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Leu Glu Thr

[2698] 7805 7810 7815

[2699] Arg Arg Ile Gln Thr Glu Leu Ala Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu

[2700] 7820 7825 7830

[2701] Arg Glu Ser Ser Gly Ser Glu Gly Thr Ser Ser Gly Thr Lys Met

[2702] 7835 7840 7845

[2703] Ser Thr Val Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr Glu Ile

[2704] 7850 7855 7860

[2705] Ser Lys Glu Asp Val Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr

[2706] 7865 7870 7875

[2707] Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Arg Thr Val Ser Trp Phe Ser Thr

[2708] 7880 7885 7890

[2709] Ser Pro Val Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Met Asn Thr His

[2710] 7895 7900 7905

[2711] Thr Ser Pro Leu Gly Ala Thr Thr Gln Gly Thr Ser Thr Leu Asp

[2712] 7910 7915 7920

[2713] Thr Ser Ser Thr Thr Ser Leu Thr Met Thr His Ser Thr Ile Ser

[2714] 7925 7930 7935

[2715] Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Ser Thr Leu Met Arg Arg Gly

[2716] 7940 7945 7950

[2717] Pro Glu Asp Val Ser Trp Met Ser Pro Pro Leu Leu Glu Lys Thr

[2718] 7955 7960 7965

[2719] Arg Pro Ser Phe Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala Thr Thr Ser Pro

[2720] 7970 7975 7980

[2721] Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile Ser Ser Ser Pro

[2722] 7985 7990 7995

[2723] Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Ala Lys Thr Thr

[2724] 8000 8005 8010

[2725] Asp Met Leu His Lys Ser Ser Glu Pro Val Thr Asn Ser Pro Ala

[2726] 8015 8020 8025

[2727] Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Leu Ala Thr Ser Glu Val

[2728] 8030 8035 8040

[2729] Thr Thr Asp Thr Glu Lys Thr His Pro Ser Ser Asn Arg Thr Val

[2730] 8045 8050 8055

[2731] Thr Asp Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly His Glu Ser Thr Ser Phe

[2732] 8060 8065 8070

[2733] Val Leu Ala Asp Ser Gln Thr Ser Lys Val Thr Ser Pro Met Val

[2734] 8075 8080 8085

[2735] Ile Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser Thr Pro

[2736] 8090 8095 8100

[2737] Gly Phe Phe Glu Thr Ser Arg Ile Gln Thr Glu Pro Thr Ser Ser

[2738] 8105 8110 8115

[2739] Leu Thr Leu Gly Leu Arg Lys Thr Ser Ser Ser Glu Gly Thr Ser

[2740] 8120 8125 8130

[2741] Leu Ala Thr Glu Met Ser Thr Val Leu Ser Gly Val Pro Thr Gly

[2742] 8135 8140 8145

[2743] Ala Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg

[2744] 8150 8155 8160

[2745] Thr Ser Ile Ser Gly Phe Ala Gln Leu Thr Val Ser Pro Glu Thr

[2746] 8165 8170 8175

[2747] Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Pro Thr Ser Ser Ile Met Thr

[2748] 8180 8185 8190

[2749] Glu Ser Ala Glu Met Met Ile Lys Thr Gln Thr Asp Pro Pro Gly

[2750] 8195 8200 8205

[2751] Ser Thr Pro Glu Ser Thr His Thr Val Asp Ile Ser Thr Thr Pro

[2752] 8210 8215 8220

[2753] Asn Trp Val Glu Thr His Ser Thr Val Thr Gln Arg Phe Ser His

[2754] 8225 8230 8235

[2755] Ser Glu Met Thr Thr Leu Val Ser Arg Ser Pro Gly Asp Met Leu

[2756] 8240 8245 8250

[2757] Trp Pro Ser Gln Ser Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Ala Ser Ser

[2758] 8255 8260 8265

[2759] Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser

[2760] 8270 8275 8280

[2761] Thr Leu Val Glu Asp Phe Pro Ser Ala Ser Leu Pro Val Thr Ser

[2762] 8285 8290 8295

[2763] Leu Leu Asn Pro Gly Leu Val Ile Thr Thr Asp Arg Met Gly Ile

[2764] 8300 8305 8310

[2765] Ser Arg Glu Pro Gly Thr Ser Ser Thr Ser Asn Leu Ser Ser Thr

[2766] 8315 8320 8325

[2767] Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Leu Glu Asp Thr Val Asp Thr Glu

[2768] 8330 8335 8340

[2769] Asp Met Gln Pro Ser Thr His Thr Ala Val Thr Asn Val Arg Thr

[2770] 8345 8350 8355

[2771] Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln Ser Ser Val Leu Ser Asp Ser

[2772] 8360 8365 8370

[2773] Glu Thr Pro Lys Ala Thr Ser Pro Met Gly Thr Thr Tyr Thr Met

[2774] 8375 8380 8385

[2775] Gly Glu Thr Ser Val Ser Ile Ser Thr Ser Asp Phe Phe Glu Thr

[2776] 8390 8395 8400

[2777] Ser Arg Ile Gln Ile Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu

[2778] 8405 8410 8415

[2779] Arg Glu Thr Ser Ser Ser Glu Arg Ile Ser Ser Ala Thr Glu Gly

[2780] 8420 8425 8430

[2781] Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Ser Gly Ala Thr Thr Glu Val

[2782] 8435 8440 8445

[2783] Ser Arg Thr Glu Val Ile Ser Ser Arg Gly Thr Ser Met Ser Gly

[2784] 8450 8455 8460

[2785] Pro Asp Gln Phe Thr Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Ala Ile

[2786] 8465 8470 8475

[2787] Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ser

[2788] 8480 8485 8490

[2789] Ala Ile Thr Ile Glu Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Glu Gly

[2790] 8495 8500 8505

[2791] Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Thr Phe Trp Ser Gly Thr

[2792] 8510 8515 8520

[2793] His Ser Thr Ala Ser Pro Gly Phe Ser His Ser Glu Met Thr Thr

[2794] 8525 8530 8535

[2795] Leu Met Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Pro Ser Leu Pro

[2796] 8540 8545 8550

[2797] Ser Val Glu Glu Ala Ser Ser Val Ser Ser Ser Leu Ser Ser Pro

[2798] 8555 8560 8565

[2799] Ala Met Thr Ser Thr Ser Phe Phe Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile

[2800] 8570 8575 8580

[2801] Ser Ser Ser Pro His Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Leu Gly Pro

[2802] 8585 8590 8595

[2803] Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Arg Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr

[2804] 8600 8605 8610

[2805] Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala

[2806] 8615 8620 8625

[2807] Thr Ser Glu Val Thr Lys Asp Arg Glu Lys Ile His Pro Ser Ser

[2808] 8630 8635 8640

[2809] Asn Thr Pro Val Val Asn Val Gly Thr Val Ile Tyr Lys His Leu

[2810] 8645 8650 8655

[2811] Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala Asp Leu Val Thr Thr Lys Pro Thr

[2812] 8660 8665 8670

[2813] Ser Pro Met Ala Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asn Thr Ser Val Ser

[2814] 8675 8680 8685

[2815] Thr Ser Thr Pro Ala Phe Pro Glu Thr Met Met Thr Gln Pro Thr

[2816] 8690 8695 8700

[2817] Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu Arg Glu Ile Ser Thr Ser Gln Glu

[2818] 8705 8710 8715

[2819] Thr Ser Ser Ala Thr Glu Arg Ser Ala Ser Leu Ser Gly Met Pro

[2820] 8720 8725 8730

[2821] Thr Gly Ala Thr Thr Lys Val Ser Arg Thr Glu Ala Leu Ser Leu

[2822] 8735 8740 8745

[2823] Gly Arg Thr Ser Thr Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Ile Ser Pro

[2824] 8750 8755 8760

[2825] Glu Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr

[2826] 8765 8770 8775

[2827] Thr Thr Gly Ser Ala Glu Met Thr Ile Thr Pro Lys Thr Gly His

[2828] 8780 8785 8790

[2829] Ser Gly Ala Ser Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ser

[2830] 8795 8800 8805

[2831] Arg Ala Ser Trp Pro Gly Thr His Ser Ala Ala Thr His Arg Ser

[2832] 8810 8815 8820

[2833] Pro His Ser Gly Met Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp

[2834] 8825 8830 8835

[2835] Val Ser Trp Pro Ser Arg Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Pro Pro

[2836] 8840 8845 8850

[2837] Ser Ser Leu Val Ser Leu Ser Ala Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu

[2838] 8855 8860 8865

[2839] Tyr Ser Thr Pro Ser Glu Ser Ser His Ser Ser Pro Leu Arg Val

[2840] 8870 8875 8880

[2841] Thr Ser Leu Phe Thr Pro Val Met Met Lys Thr Thr Asp Met Leu

[2842] 8885 8890 8895

[2843] Asp Thr Ser Leu Glu Pro Val Thr Thr Ser Pro Pro Ser Met Asn

[2844] 8900 8905 8910

[2845] Ile Thr Ser Asp Glu Ser Leu Ala Thr Ser Lys Ala Thr Met Glu

[2846] 8915 8920 8925

[2847] Thr Glu Ala Ile Gln Leu Ser Glu Asn Thr Ala Val Thr Gln Met

[2848] 8930 8935 8940

[2849] Gly Thr Ile Ser Ala Arg Gln Glu Phe Tyr Ser Ser Tyr Pro Gly

[2850] 8945 8950 8955

[2851] Leu Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Val Val Thr Ser Ser

[2852] 8960 8965 8970

[2853] Thr Ile Lys Asp Ile Val Ser Thr Thr Ile Pro Ala Ser Ser Glu

[2854] 8975 8980 8985

[2855] Ile Thr Arg Ile Glu Met Glu Ser Thr Ser Thr Leu Thr Pro Thr

[2856] 8990 8995 9000

[2857] Pro Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ile His Ser Ala Thr Lys

[2858] 9005 9010 9015

[2859] Pro Ser Thr Val Pro Tyr Lys Ala Leu Thr Ser Ala Thr Ile Glu

[2860] 9020 9025 9030

[2861] Asp Ser Met Thr Gln Val Met Ser Ser Ser Arg Gly Pro Ser Pro

[2862] 9035 9040 9045

[2863] Asp Gln Ser Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Thr

[2864] 9050 9055 9060

[2865] Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Lys Thr Glu Ser Thr Glu Met Thr

[2866] 9065 9070 9075

[2867] Ile Thr Thr Gln Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Arg Gly Thr

[2868] 9080 9085 9090

[2869] Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Phe Met Ser Gly Thr His Ser

[2870] 9095 9100 9105

[2871] Thr Ala Ser Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Thr Ala Leu Met

[2872] 9110 9115 9120

[2873] Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Leu Ser His Pro Ser Val

[2874] 9125 9130 9135

[2875] Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ser Phe Ser Leu Ser Ser Pro Val Met

[2876] 9140 9145 9150

[2877] Thr Ser Ser Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Asp Ser Ile His

[2878] 9155 9160 9165

[2879] Ser Ser Ser Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Val

[2880] 9170 9175 9180

[2881] Lys Thr Thr Glu Leu Leu Gly Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr Ser

[2882] 9185 9190 9195

[2883] Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala Ile

[2884] 9200 9205 9210

[2885] Thr Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Leu Glu Met Thr Asn Val

[2886] 9215 9220 9225

[2887] Val Thr Ser Gly Tyr Thr His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala

[2888] 9230 9235 9240

[2889] Asp Ser Val Thr Thr Lys Ala Thr Ser Ser Met Gly Ile Thr Tyr

[2890] 9245 9250 9255

[2891] Pro Thr Gly Asp Thr Asn Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Ser

[2892] 9260 9265 9270

[2893] Asp Thr Ser Arg Ile Gln Thr Lys Ser Lys Leu Ser Leu Thr Pro

[2894] 9275 9280 9285

[2895] Gly Leu Met Glu Thr Ser Ile Ser Glu Glu Thr Ser Ser Ala Thr

[2896] 9290 9295 9300

[2897] Glu Lys Ser Thr Val Leu Ser Ser Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr

[2898] 9305 9310 9315

[2899] Glu Val Ser Arg Thr Glu Ala Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile

[2900] 9320 9325 9330

[2901] Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Met Ser Ser Asp Thr Ser Met Glu

[2902] 9335 9340 9345

[2903] Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr Arg Lys Glu Ser Thr

[2904] 9350 9355 9360

[2905] Asp Met Ala Ile Thr Pro Lys Thr Gly Pro Ser Gly Ala Thr Ser

[2906] 9365 9370 9375

[2907] Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Ser Ser Ser Thr Ala Ser Trp Pro

[2908] 9380 9385 9390

[2909] Gly Thr His Ser Ala Thr Thr Gln Arg Phe Pro Gln Ser Val Val

[2910] 9395 9400 9405

[2911] Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp Val Ser Trp Pro Ser

[2912] 9410 9415 9420

[2913] Pro Leu Ser Val Glu Lys Asn Ser Pro Pro Ser Ser Leu Val Ser

[2914] 9425 9430 9435

[2915] Ser Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu Tyr Ser Thr Pro Ser

[2916] 9440 9445 9450

[2917] Gly Ser Ser His Ser Ser Pro Val Pro Val Thr Ser Leu Phe Thr

[2918] 9455 9460 9465

[2919] Ser Ile Met Met Lys Ala Thr Asp Met Leu Asp Ala Ser Leu Glu

[2920] 9470 9475 9480

[2921] Pro Glu Thr Thr Ser Ala Pro Asn Met Asn Ile Thr Ser Asp Glu

[2922] 9485 9490 9495

[2923] Ser Leu Ala Ala Ser Lys Ala Thr Thr Glu Thr Glu Ala Ile His

[2924] 9500 9505 9510

[2925] Val Phe Glu Asn Thr Ala Ala Ser His Val Glu Thr Thr Ser Ala

[2926] 9515 9520 9525

[2927] Thr Glu Glu Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Gly Phe Ser Glu Pro Thr

[2928] 9530 9535 9540

[2929] Lys Val Ile Ser Pro Val Val Thr Ser Ser Ser Ile Arg Asp Asn

[2930] 9545 9550 9555

[2931] Met Val Ser Thr Thr Met Pro Gly Ser Ser Gly Ile Thr Arg Ile

[2932] 9560 9565 9570

[2933] Glu Ile Glu Ser Met Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr

[2934] 9575 9580 9585

[2935] Arg Thr Ser Gln Asp Ile Thr Ser Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val

[2936] 9590 9595 9600

[2937] Leu Tyr Lys Met Pro Ser Gly Ala Thr Pro Glu Val Ser Arg Thr

[2938] 9605 9610 9615

[2939] Glu Val Met Pro Ser Ser Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln

[2940] 9620 9625 9630

[2941] Ser Thr Met Ser Leu Asp Ile Ser Asp Glu Val Val Thr Arg Leu

[2942] 9635 9640 9645

[2943] Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr

[2944] 9650 9655 9660

[2945] Thr Gln Thr Gly Tyr Ser Leu Ala Thr Ser Gln Val Thr Leu Pro

[2946] 9665 9670 9675

[2947] Leu Gly Thr Ser Met Thr Phe Leu Ser Gly Thr His Ser Thr Met

[2948] 9680 9685 9690

[2949] Ser Gln Gly Leu Ser His Ser Glu Met Thr Asn Leu Met Ser Arg

[2950] 9695 9700 9705

[2951] Gly Pro Glu Ser Leu Ser Trp Thr Ser Pro Arg Phe Val Glu Thr

[2952] 9710 9715 9720

[2953] Thr Arg Ser Ser Ser Ser Leu Thr Ser Leu Pro Leu Thr Thr Ser

[2954] 9725 9730 9735

[2955] Leu Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Leu Asp Ser Ser Pro Ser Ser

[2956] 9740 9745 9750

[2957] Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Ile Leu Pro Gly Leu Val Lys Thr

[2958] 9755 9760 9765

[2959] Thr Glu Val Leu Asp Thr Ser Ser Glu Pro Lys Thr Ser Ser Ser

[2960] 9770 9775 9780

[2961] Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Pro Ala Thr Ser Glu

[2962] 9785 9790 9795

[2963] Ile Met Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro Ser Ser Asn Thr Ala

[2964] 9800 9805 9810

[2965] Val Ala Lys Val Arg Thr Ser Ser Ser Val His Glu Ser His Ser

[2966] 9815 9820 9825

[2967] Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Thr Ile Thr Ile Pro Ser Met

[2968] 9830 9835 9840

[2969] Gly Ile Thr Ser Ala Val Asp Asp Thr Thr Val Phe Thr Ser Asn

[2970] 9845 9850 9855

[2971] Pro Ala Phe Ser Glu Thr Arg Arg Ile Pro Thr Glu Pro Thr Phe

[2972] 9860 9865 9870

[2973] Ser Leu Thr Pro Gly Phe Arg Glu Thr Ser Thr Ser Glu Glu Thr

[2974] 9875 9880 9885

[2975] Thr Ser Ile Thr Glu Thr Ser Ala Val Leu Tyr Gly Val Pro Thr

[2976] 9890 9895 9900

[2977] Ser Ala Thr Thr Glu Val Ser Met Thr Glu Ile Met Ser Ser Asn

[2978] 9905 9910 9915

[2979] Arg Ile His Ile Pro Asp Ser Asp Gln Ser Thr Met Ser Pro Asp

[2980] 9920 9925 9930

[2981] Ile Ile Thr Glu Val Ile Thr Arg Leu Ser Ser Ser Ser Met Met

[2982] 9935 9940 9945

[2983] Ser Glu Ser Thr Gln Met Thr Ile Thr Thr Gln Lys Ser Ser Pro

[2984] 9950 9955 9960

[2985] Gly Ala Thr Ala Gln Ser Thr Leu Thr Leu Ala Thr Thr Thr Ala

[2986] 9965 9970 9975

[2987] Pro Leu Ala Arg Thr His Ser Thr Val Pro Pro Arg Phe Leu His

[2988] 9980 9985 9990

[2989] Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Ser Pro Glu Asn Pro Ser

[2990] 9995 10000 10005

[2991] Trp Lys Ser Ser Leu Phe Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser

[2992] 10010 10015 10020

[2993] Leu Leu Ser Leu Pro Val Thr Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Thr

[2994] 10025 10030 10035

[2995] Leu Pro Gln Ser Ile Pro Ser Ser Ser Phe Ser Val Thr Ser Leu

[2996] 10040 10045 10050

[2997] Leu Thr Pro Gly Met Val Lys Thr Thr Asp Thr Ser Thr Glu Pro

[2998] 10055 10060 10065

[2999] Gly Thr Ser Leu Ser Pro Asn Leu Ser Gly Thr Ser Val Glu Ile

[3000] 10070 10075 10080

[3001] Leu Ala Ala Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro

[3002] 10085 10090 10095

[3003] Ser Ser Ser Met Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Gly

[3004] 10100 10105 10110

[3005] His Glu Leu Tyr Ser Ser Val Ser Ile His Ser Glu Pro Ser Lys

[3006] 10115 10120 10125

[3007] Ala Thr Tyr Pro Val Gly Thr Pro Ser Ser Met Ala Glu Thr Ser

[3008] 10130 10135 10140

[3009] Ile Ser Thr Ser Met Pro Ala Asn Phe Glu Thr Thr Gly Phe Glu

[3010] 10145 10150 10155

[3011] Ala Glu Pro Phe Ser His Leu Thr Ser Gly Phe Arg Lys Thr Asn

[3012] 10160 10165 10170

[3013] Met Ser Leu Asp Thr Ser Ser Val Thr Pro Thr Asn Thr Pro Ser

[3014] 10175 10180 10185

[3015] Ser Pro Gly Ser Thr His Leu Leu Gln Ser Ser Lys Thr Asp Phe

[3016] 10190 10195 10200

[3017] Thr Ser Ser Ala Lys Thr Ser Ser Pro Asp Trp Pro Pro Ala Ser

[3018] 10205 10210 10215

[3019] Gln Tyr Thr Glu Ile Pro Val Asp Ile Ile Thr Pro Phe Asn Ala

[3020] 10220 10225 10230

[3021] Ser Pro Ser Ile Thr Glu Ser Thr Gly Ile Thr Ser Phe Pro Glu

[3022] 10235 10240 10245

[3023] Ser Arg Phe Thr Met Ser Val Thr Glu Ser Thr His His Leu Ser

[3024] 10250 10255 10260

[3025] Thr Asp Leu Leu Pro Ser Ala Glu Thr Ile Ser Thr Gly Thr Val

[3026] 10265 10270 10275

[3027] Met Pro Ser Leu Ser Glu Ala Met Thr Ser Phe Ala Thr Thr Gly

[3028] 10280 10285 10290

[3029] Val Pro Arg Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Pro Phe Ser Arg Thr

[3030] 10295 10300 10305

[3031] Glu Ser Gly Pro Gly Asp Ala Thr Leu Ser Thr Ile Ala Glu Ser

[3032] 10310 10315 10320

[3033] Leu Pro Ser Ser Thr Pro Val Pro Phe Ser Ser Ser Thr Phe Thr

[3034] 10325 10330 10335

[3035] Thr Thr Asp Ser Ser Thr Ile Pro Ala Leu His Glu Ile Thr Ser

[3036] 10340 10345 10350

[3037] Ser Ser Ala Thr Pro Tyr Arg Val Asp Thr Ser Leu Gly Thr Glu

[3038] 10355 10360 10365

[3039] Ser Ser Thr Thr Glu Gly Arg Leu Val Met Val Ser Thr Leu Asp

[3040] 10370 10375 10380

[3041] Thr Ser Ser Gln Pro Gly Arg Thr Ser Ser Ser Pro Ile Leu Asp

[3042] 10385 10390 10395

[3043] Thr Arg Met Thr Glu Ser Val Glu Leu Gly Thr Val Thr Ser Ala

[3044] 10400 10405 10410

[3045] Tyr Gln Val Pro Ser Leu Ser Thr Arg Leu Thr Arg Thr Asp Gly

[3046] 10415 10420 10425

[3047] Ile Met Glu His Ile Thr Lys Ile Pro Asn Glu Ala Ala His Arg

[3048] 10430 10435 10440

[3049] Gly Thr Ile Arg Pro Val Lys Gly Pro Gln Thr Ser Thr Ser Pro

[3050] 10445 10450 10455

[3051] Ala Ser Pro Lys Gly Leu His Thr Gly Gly Thr Lys Arg Met Glu

[3052] 10460 10465 10470

[3053] Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr

[3054] 10475 10480 10485

[3055] Thr Ser Arg Ala Thr Leu Thr Thr Ser Val Tyr Thr Pro Thr Leu

[3056] 10490 10495 10500

[3057] Gly Thr Leu Thr Pro Leu Asn Ala Ser Met Gln Met Ala Ser Thr

[3058] 10505 10510 10515

[3059] Ile Pro Thr Glu Met Met Ile Thr Thr Pro Tyr Val Phe Pro Asp

[3060] 10520 10525 10530

[3061] Val Pro Glu Thr Thr Ser Ser Leu Ala Thr Ser Leu Gly Ala Glu

[3062] 10535 10540 10545

[3063] Thr Ser Thr Ala Leu Pro Arg Thr Thr Pro Ser Val Phe Asn Arg

[3064] 10550 10555 10560

[3065] Glu Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Val Ser Arg Ser Gly Ala Glu

[3066] 10565 10570 10575
[3067] Arg Ser Pro Val Ile Gln Thr Leu Asp Val Ser Ser Ser Glu Pro
[3068] 10580 10585 10590
[3069] Asp Thr Thr Ala Ser Trp Val Ile His Pro Ala Glu Thr Ile Pro
[3070] 10595 10600 10605
[3071] Thr Val Ser Lys Thr Thr Pro Asn Phe Phe His Ser Glu Leu Asp
[3072] 10610 10615 10620
[3073] Thr Val Ser Ser Thr Ala Thr Ser His Gly Ala Asp Val Ser Ser
[3074] 10625 10630 10635
[3075] Ala Ile Pro Thr Asn Ile Ser Pro Ser Glu Leu Asp Ala Leu Thr
[3076] 10640 10645 10650
[3077] Pro Leu Val Thr Ile Ser Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro
[3078] 10655 10660 10665
[3079] Thr Leu Thr Lys Ser Pro His Glu Thr Glu Thr Arg Thr Thr Trp
[3080] 10670 10675 10680
[3081] Leu Thr His Pro Ala Glu Thr Ser Ser Thr Ile Pro Arg Thr Ile
[3082] 10685 10690 10695
[3083] Pro Asn Phe Ser His His Glu Ser Asp Ala Thr Pro Ser Ile Ala
[3084] 10700 10705 10710
[3085] Thr Ser Pro Gly Ala Glu Thr Ser Ser Ala Ile Pro Ile Met Thr
[3086] 10715 10720 10725
[3087] Val Ser Pro Gly Ala Glu Asp Leu Val Thr Ser Gln Val Thr Ser
[3088] 10730 10735 10740
[3089] Ser Gly Thr Asp Arg Asn Met Thr Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser
[3090] 10745 10750 10755
[3091] Pro Gly Glu Pro Lys Thr Ile Ala Ser Leu Val Thr His Pro Glu
[3092] 10760 10765 10770
[3093] Ala Gln Thr Ser Ser Ala Ile Pro Thr Ser Thr Ile Ser Pro Ala
[3094] 10775 10780 10785
[3095] Val Ser Arg Leu Val Thr Ser Met Val Thr Ser Leu Ala Ala Lys
[3096] 10790 10795 10800
[3097] Thr Ser Thr Thr Asn Arg Ala Leu Thr Asn Ser Pro Gly Glu Pro
[3098] 10805 10810 10815
[3099] Ala Thr Thr Val Ser Leu Val Thr His Pro Ala Gln Thr Ser Pro
[3100] 10820 10825 10830
[3101] Thr Val Pro Trp Thr Thr Ser Ile Phe Phe His Ser Lys Ser Asp
[3102] 10835 10840 10845
[3103] Thr Thr Pro Ser Met Thr Thr Ser His Gly Ala Glu Ser Ser Ser
[3104] 10850 10855 10860
[3105] Ala Val Pro Thr Pro Thr Val Ser Thr Glu Val Pro Gly Val Val
[3106] 10865 10870 10875
[3107] Thr Pro Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Ile Ser Thr Thr Ile

[3108] 10880 10885 10890

[3109] Pro Ile Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser

[3110] 10895 10900 10905

[3111] Met Ala Thr Ser His Gly Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ile Pro Thr

[3112] 10910 10915 10920

[3113] Pro Thr Val Ser Pro Gly Val Pro Gly Val Val Thr Ser Leu Val

[3114] 10925 10930 10935

[3115] Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr

[3116] 10940 10945 10950

[3117] Phe Ser Leu Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser

[3118] 10955 10960 10965

[3119] His Gly Thr Glu Ala Gly Ser Ala Val Pro Thr Val Leu Pro Glu

[3120] 10970 10975 10980

[3121] Val Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Ala Ser Ser Arg Ala Val

[3122] 10985 10990 10995

[3123] Thr Ser Thr Thr Leu Pro Thr Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro

[3124] 11000 11005 11010

[3125] Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser

[3126] 11015 11020 11025

[3127] Ser Thr Val Pro Thr Val Ser Pro Glu Val Pro Gly Val Val Thr

[3128] 11030 11035 11040

[3129] Ser Leu Val Thr Ser Ser Ser Gly Val Asn Ser Thr Ser Ile Pro

[3130] 11045 11050 11055

[3131] Thr Leu Ile Leu Ser Pro Gly Glu Leu Glu Thr Thr Pro Ser Met

[3132] 11060 11065 11070

[3133] Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser Ser Ala Val Pro Thr Pro

[3134] 11075 11080 11085

[3135] Thr Val Ser Pro Gly Val Ser Gly Val Val Thr Pro Leu Val Thr

[3136] 11090 11095 11100

[3137] Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr Leu

[3138] 11105 11110 11115

[3139] Ser Ser Ser Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His

[3140] 11120 11125 11130

[3141] Gly Val Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr Val Ser Pro Glu Val

[3142] 11135 11140 11145

[3143] Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr

[3144] 11150 11155 11160

[3145] Ser Thr Thr Ile Pro Thr Leu Thr Ile Ser Ser Asp Glu Pro Glu

[3146] 11165 11170 11175

[3147] Thr Thr Thr Ser Leu Val Thr His Ser Glu Ala Lys Met Ile Ser

[3148] 11180 11185 11190

[3149] Ala Ile Pro Thr Leu Ala Val Ser Pro Thr Val Gln Gly Leu Val

[3150] 11195 11200 11205

[3151] Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Ser Glu Thr Ser Ala Phe Ser

[3152] 11210 11215 11220

[3153] Asn Leu Thr Val Ala Ser Ser Gln Pro Glu Thr Ile Asp Ser Trp

[3154] 11225 11230 11235

[3155] Val Ala His Pro Gly Thr Glu Ala Ser Ser Val Val Pro Thr Leu

[3156] 11240 11245 11250

[3157] Thr Val Ser Thr Gly Glu Pro Phe Thr Asn Ile Ser Leu Val Thr

[3158] 11255 11260 11265

[3159] His Pro Ala Glu Ser Ser Ser Thr Leu Pro Arg Thr Thr Ser Arg

[3160] 11270 11275 11280

[3161] Phe Ser His Ser Glu Leu Asp Thr Met Pro Ser Thr Val Thr Ser

[3162] 11285 11290 11295

[3163] Pro Glu Ala Glu Ser Ser Ser Ala Ile Ser Thr Thr Ile Ser Pro

[3164] 11300 11305 11310

[3165] Gly Ile Pro Gly Val Leu Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Arg

[3166] 11315 11320 11325

[3167] Asp Ile Ser Ala Thr Phe Pro Thr Val Pro Glu Ser Pro His Glu

[3168] 11330 11335 11340

[3169] Ser Glu Ala Thr Ala Ser Trp Val Thr His Pro Ala Val Thr Ser

[3170] 11345 11350 11355

[3171] Thr Thr Val Pro Arg Thr Thr Pro Asn Tyr Ser His Ser Glu Pro

[3172] 11360 11365 11370

[3173] Asp Thr Thr Pro Ser Ile Ala Thr Ser Pro Gly Ala Glu Ala Thr

[3174] 11375 11380 11385

[3175] Ser Asp Phe Pro Thr Ile Thr Val Ser Pro Asp Val Pro Asp Met

[3176] 11390 11395 11400

[3177] Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Gly Thr Asp Thr Ser Ile Thr

[3178] 11405 11410 11415

[3179] Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser Ser Gly Glu Pro Glu Thr Thr Thr

[3180] 11420 11425 11430

[3181] Ser Phe Ile Thr Tyr Ser Glu Thr His Thr Ser Ser Ala Ile Pro

[3182] 11435 11440 11445

[3183] Thr Leu Pro Val Ser Pro Gly Ala Ser Lys Met Leu Thr Ser Leu

[3184] 11450 11455 11460

[3185] Val Ile Ser Ser Gly Thr Asp Ser Thr Thr Thr Phe Pro Thr Leu

[3186] 11465 11470 11475

[3187] Thr Glu Thr Pro Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Ile Gln Leu Ile

[3188] 11480 11485 11490

[3189] His Pro Ala Glu Thr Asn Thr Met Val Pro Arg Thr Thr Pro Lys

[3190] 11495 11500 11505

[3191] Phe Ser His Ser Lys Ser Asp Thr Thr Leu Pro Val Ala Ile Thr

[3192] 11510 11515 11520
[3193] Ser Pro Gly Pro Glu Ala Ser Ser Ala Val Ser Thr Thr Thr Ile
[3194] 11525 11530 11535
[3195] Ser Pro Asp Met Ser Asp Leu Val Thr Ser Leu Val Pro Ser Ser
[3196] 11540 11545 11550
[3197] Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro Thr Leu Ser Glu Thr Pro
[3198] 11555 11560 11565
[3199] Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Thr Trp Leu Thr His Pro Ala Glu
[3200] 11570 11575 11580
[3201] Thr Ser Thr Thr Val Ser Gly Thr Ile Pro Asn Phe Ser His Arg
[3202] 11585 11590 11595
[3203] Gly Ser Asp Thr Ala Pro Ser Met Val Thr Ser Pro Gly Val Asp
[3204] 11600 11605 11610
[3205] Thr Arg Ser Gly Val Pro Thr Thr Thr Ile Pro Pro Ser Ile Pro
[3206] 11615 11620 11625
[3207] Gly Val Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Ala Thr Asp Thr Ser
[3208] 11630 11635 11640
[3209] Thr Ala Ile Pro Thr Leu Thr Pro Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr
[3210] 11645 11650 11655
[3211] Thr Ala Ser Ser Ala Thr His Pro Gly Thr Gln Thr Gly Phe Thr
[3212] 11660 11665 11670
[3213] Val Pro Ile Arg Thr Val Pro Ser Ser Glu Pro Asp Thr Met Ala
[3214] 11675 11680 11685
[3215] Ser Trp Val Thr His Pro Pro Gln Thr Ser Thr Pro Val Ser Arg
[3216] 11690 11695 11700
[3217] Thr Thr Ser Ser Phe Ser His Ser Ser Pro Asp Ala Thr Pro Val
[3218] 11705 11710 11715
[3219] Met Ala Thr Ser Pro Arg Thr Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr
[3220] 11720 11725 11730
[3221] Thr Ile Ser Pro Gly Ala Pro Glu Met Val Thr Ser Gln Ile Thr
[3222] 11735 11740 11745
[3223] Ser Ser Gly Ala Ala Thr Ser Thr Thr Val Pro Thr Leu Thr His
[3224] 11750 11755 11760
[3225] Ser Pro Gly Met Pro Glu Thr Thr Ala Leu Leu Ser Thr His Pro
[3226] 11765 11770 11775
[3227] Arg Thr Glu Thr Ser Lys Thr Phe Pro Ala Ser Thr Val Phe Pro
[3228] 11780 11785 11790
[3229] Gln Val Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Thr Ile Arg Pro Gly Ala
[3230] 11795 11800 11805
[3231] Glu Thr Ser Thr Ala Leu Pro Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Phe
[3232] 11810 11815 11820
[3233] Thr Leu Leu Val Thr Gly Thr Ser Arg Val Asp Leu Ser Pro Thr

[3234] 11825 11830 11835

[3235] Ala Ser Pro Gly Val Ser Ala Lys Thr Ala Pro Leu Ser Thr His

[3236] 11840 11845 11850

[3237] Pro Gly Thr Glu Thr Ser Thr Met Ile Pro Thr Ser Thr Leu Ser

[3238] 11855 11860 11865

[3239] Leu Gly Leu Leu Glu Thr Thr Gly Leu Leu Ala Thr Ser Ser Ser

[3240] 11870 11875 11880

[3241] Ala Glu Thr Ser Thr Ser Thr Leu Thr Leu Thr Val Ser Pro Ala

[3242] 11885 11890 11895

[3243] Val Ser Gly Leu Ser Ser Ala Ser Ile Thr Thr Asp Lys Pro Gln

[3244] 11900 11905 11910

[3245] Thr Val Thr Ser Trp Asn Thr Glu Thr Ser Pro Ser Val Thr Ser

[3246] 11915 11920 11925

[3247] Val Gly Pro Pro Glu Phe Ser Arg Thr Val Thr Gly Thr Thr Met

[3248] 11930 11935 11940

[3249] Thr Leu Ile Pro Ser Glu Met Pro Thr Pro Pro Lys Thr Ser His

[3250] 11945 11950 11955

[3251] Gly Glu Gly Val Ser Pro Thr Thr Ile Leu Arg Thr Thr Met Val

[3252] 11960 11965 11970

[3253] Glu Ala Thr Asn Leu Ala Thr Thr Gly Ser Ser Pro Thr Val Ala

[3254] 11975 11980 11985

[3255] Lys Thr Thr Thr Thr Phe Asn Thr Leu Ala Gly Ser Leu Phe Thr

[3256] 11990 11995 12000

[3257] Pro Leu Thr Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ala Ser Glu Ser Val

[3258] 12005 12010 12015

[3259] Thr Ser Arg Thr Ser Tyr Asn His Arg Ser Trp Ile Ser Thr Thr

[3260] 12020 12025 12030

[3261] Ser Ser Tyr Asn Arg Arg Tyr Trp Thr Pro Ala Thr Ser Thr Pro

[3262] 12035 12040 12045

[3263] Val Thr Ser Thr Phe Ser Pro Gly Ile Ser Thr Ser Ser Ile Pro

[3264] 12050 12055 12060

[3265] Ser Ser Thr Ala Ala Thr Val Pro Phe Met Val Pro Phe Thr Leu

[3266] 12065 12070 12075

[3267] Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met Arg His

[3268] 12080 12085 12090

[3269] Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Ala Thr Glu Arg Glu Leu Gln Gly

[3270] 12095 12100 12105

[3271] Leu Leu Lys Pro Leu Phe Arg Asn Ser Ser Leu Glu Tyr Leu Tyr

[3272] 12110 12115 12120

[3273] Ser Gly Cys Arg Leu Ala Ser Leu Arg Pro Glu Lys Asp Ser Ser

[3274] 12125 12130 12135

[3275] Ala Thr Ala Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Glu

[3276] 12140 12145 12150

[3277] Asp Leu Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Asn

[3278] 12155 12160 12165

[3279] Leu Thr Asn Gly Ile Gln Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg

[3280] 12170 12175 12180

[3281] Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Met Pro

[3282] 12185 12190 12195

[3283] Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Val Gly Thr Ser

[3284] 12200 12205 12210

[3285] Gly Thr Pro Ser Ser Ser Pro Ser Pro Thr Thr Ala Gly Pro Leu

[3286] 12215 12220 12225

[3287] Leu Met Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr

[3288] 12230 12235 12240

[3289] Glu Glu Asp Met Arg Arg Thr Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Met

[3290] 12245 12250 12255

[3291] Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu Lys Pro Leu Phe Lys Asn Thr

[3292] 12260 12265 12270

[3293] Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg

[3294] 12275 12280 12285

[3295] Pro Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr

[3296] 12290 12295 12300

[3297] His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu

[3298] 12305 12310 12315

[3299] Tyr Trp Glu Leu Ser Lys Leu Thr Asn Asp Ile Glu Glu Leu Gly

[3300] 12320 12325 12330

[3301] Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr

[3302] 12335 12340 12345

[3303] His Gln Ser Ser Val Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr

[3304] 12350 12355 12360

[3305] Val Asp Leu Arg Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Ser Ser Pro

[3306] 12365 12370 12375

[3307] Thr Ile Met Ala Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn

[3308] 12380 12385 12390

[3309] Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Gly Glu Asp Met Gly His Pro

[3310] 12395 12400 12405

[3311] Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu

[3312] 12410 12415 12420

[3313] Leu Gly Pro Ile Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser

[3314] 12425 12430 12435

[3315] Gly Cys Arg Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala

[3316] 12440 12445 12450

[3317] Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Ile His His Leu Asp Pro Lys Ser

[3318] 12455 12460 12465

[3319] Pro Gly Leu Asn Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu

[3320] 12470 12475 12480

[3321] Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn

[3322] 12485 12490 12495

[3323] Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Thr Ser Val Pro Thr

[3324] 12500 12505 12510

[3325] Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly

[3326] 12515 12520 12525

[3327] Thr Pro Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ala Thr Ala Gly Pro Leu Leu

[3328] 12530 12535 12540

[3329] Val Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Lys Tyr Glu

[3330] 12545 12550 12555

[3331] Glu Asp Met His Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu

[3332] 12560 12565 12570

[3333] Arg Val Leu Gln Thr Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser

[3334] 12575 12580 12585

[3335] Val Gly Leu Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Ser

[3336] 12590 12595 12600

[3337] Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His

[3338] 12605 12610 12615

[3339] Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp Arg Glu Gln Leu Tyr

[3340] 12620 12625 12630

[3341] Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro

[3342] 12635 12640 12645

[3343] Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His

[3344] 12650 12655 12660

[3345] Trp Ile Pro Val Pro Thr Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val

[3346] 12665 12670 12675

[3347] Asp Leu Gly Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr

[3348] 12680 12685 12690

[3349] Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr

[3350] 12695 12700 12705

[3351] Asn Leu Lys Tyr Glu Glu Asp Met His Cys Pro Gly Ser Arg Lys

[3352] 12710 12715 12720

[3353] Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Ser Leu Leu Gly Pro Met

[3354] 12725 12730 12735

[3355] Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu

[3356] 12740 12745 12750

[3357] Thr Leu Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp

[3358] 12755 12760 12765

[3359] Ala Ile Cys Thr His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp

[3360] 12770 12775 12780

[3361] Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile

[3362] 12785 12790 12795

[3363] Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val

[3364] 12800 12805 12810

[3365] Asn Gly Phe Thr His Gln Thr Ser Ala Pro Asn Thr Ser Thr Pro

[3366] 12815 12820 12825

[3367] Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser

[3368] 12830 12835 12840

[3369] Leu Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr

[3370] 12845 12850 12855

[3371] Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met His

[3372] 12860 12865 12870

[3373] His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln

[3374] 12875 12880 12885

[3375] Gly Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Leu Leu

[3376] 12890 12895 12900

[3377] Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asn Gly

[3378] 12905 12910 12915

[3379] Ala Ala Thr Gly Met Asp Ala Ile Cys Ser His Arg Leu Asp Pro

[3380] 12920 12925 12930

[3381] Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser

[3382] 12935 12940 12945

[3383] Gln Leu Thr His Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp

[3384] 12950 12955 12960

[3385] Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val

[3386] 12965 12970 12975

[3387] Ala Pro Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr

[3388] 12980 12985 12990

[3389] Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr Ala Val Pro

[3390] 12995 13000 13005

[3391] Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln

[3392] 13010 13015 13020

[3393] Tyr Gly Glu Asp Met Arg His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr

[3394] 13025 13030 13035

[3395] Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Gly Pro Leu Phe Lys Asn

[3396] 13040 13045 13050

[3397] Ser Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Ile Ser Leu

[3398] 13055 13060 13065

[3399] Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys

[3400] 13070 13075 13080

[3401] Thr His His Leu Asn Pro Gln Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln

[3402] 13085 13090 13095

[3403] Leu Tyr Trp Gln Leu Ser Gln Met Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu

[3404] 13100 13105 13110

[3405] Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe

[3406] 13115 13120 13125

[3407] Thr His Arg Ser Ser Gly Leu Thr Thr Ser Thr Pro Trp Thr Ser

[3408] 13130 13135 13140

[3409] Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Pro Val Pro Ser

[3410] 13145 13150 13155

[3411] Pro Thr Thr Thr Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe

[3412] 13160 13165 13170

[3413] Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asn Met Gly His Pro Gly

[3414] 13175 13180 13185

[3415] Ser Arg Lys Phe Asn Ile Thr Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu

[3416] 13190 13195 13200

[3417] Lys Pro Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly

[3418] 13205 13210 13215

[3419] Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly Val Ala Thr

[3420] 13220 13225 13230

[3421] Arg Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Lys Ile Pro

[3422] 13235 13240 13245

[3423] Gly Leu Asp Arg Gln Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr

[3424] 13250 13255 13260

[3425] His Ser Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser

[3426] 13265 13270 13275

[3427] Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr

[3428] 13280 13285 13290

[3429] Ser Thr Pro Gly Thr Phe Thr Val Gln Pro Glu Thr Ser Glu Thr

[3430] 13295 13300 13305

[3431] Pro Ser Ser Leu Pro Gly Pro Thr Ala Thr Gly Pro Val Leu Leu

[3432] 13310 13315 13320

[3433] Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu

[3434] 13325 13330 13335

[3435] Asp Met Arg Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg

[3436] 13340 13345 13350

[3437] Val Leu Gln Gly Leu Leu Met Pro Leu Phe Lys Asn Thr Ser Val

[3438] 13355 13360 13365

[3439] Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu

[3440] 13370 13375 13380

[3441] Lys Asp Gly Ala Ala Thr Arg Val Asp Ala Val Cys Thr His Arg

[3442] 13385 13390 13395

[3443] Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp

[3444] 13400 13405 13410

[3445] Lys Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr

[3446] 13415 13420 13425

[3447] Thr Leu Asp Arg His Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Gln

[3448] 13430 13435 13440

[3449] Ser Ser Met Thr Thr Thr Arg Thr Pro Asp Thr Ser Thr Met His

[3450] 13445 13450 13455

[3451] Leu Ala Thr Ser Arg Thr Pro Ala Ser Leu Ser Gly Pro Met Thr

[3452] 13460 13465 13470

[3453] Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr Ile Asn Phe Thr Ile Thr

[3454] 13475 13480 13485

[3455] Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met His His Pro Gly Ser Arg Lys

[3456] 13490 13495 13500

[3457] Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Val

[3458] 13505 13510 13515

[3459] Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu

[3460] 13520 13525 13530

[3461] Thr Leu Leu Arg Pro Lys Lys Asp Gly Ala Ala Thr Lys Val Asp

[3462] 13535 13540 13545

[3463] Ala Ile Cys Thr Tyr Arg Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp

[3464] 13550 13555 13560

[3465] Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile

[3466] 13565 13570 13575

[3467] Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val

[3468] 13580 13585 13590

[3469] Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Ile Pro

[3470] 13595 13600 13605

[3471] Gly Thr Pro Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Val Ser

[3472] 13610 13615 13620

[3473] Lys Pro Gly Pro Ser Ala Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr

[3474] 13625 13630 13635

[3475] Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met Gln

[3476] 13640 13645 13650

[3477] His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln

[3478] 13655 13660 13665

[3479] Gly Leu Leu Arg Ser Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu

[3480] 13670 13675 13680

[3481] Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly

[3482] 13685 13690 13695

[3483] Thr Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His His Pro Asp Pro

[3484] 13700 13705 13710

[3485] Lys Ser Pro Arg Leu Asp Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser

[3486] 13715 13720 13725
[3487] Gln Leu Thr His Asn Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Ala Leu Asp
[3488] 13730 13735 13740
[3489] Asn Asp Ser Leu Phe Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
[3490] 13745 13750 13755
[3491] Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Pro Thr Val Tyr Leu Gly Ala
[3492] 13760 13765 13770
[3493] Ser Lys Thr Pro Ala Ser Ile Phe Gly Pro Ser Ala Ala Ser His
[3494] 13775 13780 13785
[3495] Leu Leu Ile Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg
[3496] 13790 13795 13800
[3497] Tyr Glu Glu Asn Met Trp Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr
[3498] 13805 13810 13815
[3499] Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Leu Phe Lys Asn Thr
[3500] 13820 13825 13830
[3501] Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg
[3502] 13835 13840 13845
[3503] Pro Glu Lys Asp Gly Glu Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr
[3504] 13850 13855 13860
[3505] His Arg Pro Asp Pro Thr Gly Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln Leu
[3506] 13865 13870 13875
[3507] Tyr Leu Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile Thr Glu Leu Gly
[3508] 13880 13885 13890
[3509] Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr
[3510] 13895 13900 13905
[3511] His Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Thr Gly Val Val Ser Glu
[3512] 13910 13915 13920
[3513] Glu Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Asn Asn Leu Arg Tyr Met
[3514] 13925 13930 13935
[3515] Ala Asp Met Gly Gln Pro Gly Ser Leu Lys Phe Asn Ile Thr Asp
[3516] 13940 13945 13950
[3517] Asn Val Met Gln His Leu Leu Ser Pro Leu Phe Gln Arg Ser Ser
[3518] 13955 13960 13965
[3519] Leu Gly Ala Arg Tyr Thr Gly Cys Arg Val Ile Ala Leu Arg Ser
[3520] 13970 13975 13980
[3521] Val Lys Asn Gly Ala Glu Thr Arg Val Asp Leu Leu Cys Thr Tyr
[3522] 13985 13990 13995
[3523] Leu Gln Pro Leu Ser Gly Pro Gly Leu Pro Ile Lys Gln Val Phe
[3524] 14000 14005 14010
[3525] His Glu Leu Ser Gln Gln Thr His Gly Ile Thr Arg Leu Gly Pro
[3526] 14015 14020 14025
[3527] Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Ser Leu Tyr Leu Asn Gly Tyr Asn Glu

[3528] 14030 14035 14040
[3529] Pro Gly Pro Asp Glu Pro Pro Thr Thr Pro Lys Pro Ala Thr Thr
[3530] 14045 14050 14055
[3531] Phe Leu Pro Pro Leu Ser Glu Ala Thr Thr Ala Met Gly Tyr His
[3532] 14060 14065 14070
[3533] Leu Lys Thr Leu Thr Leu Asn Phe Thr Ile Ser Asn Leu Gln Tyr
[3534] 14075 14080 14085
[3535] Ser Pro Asp Met Gly Lys Gly Ser Ala Thr Phe Asn Ser Thr Glu
[3536] 14090 14095 14100
[3537] Gly Val Leu Gln His Leu Leu Arg Pro Leu Phe Gln Lys Ser Ser
[3538] 14105 14110 14115
[3539] Met Gly Pro Phe Tyr Leu Gly Cys Gln Leu Ile Ser Leu Arg Pro
[3540] 14120 14125 14130
[3541] Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Thr Thr Cys Thr Tyr
[3542] 14135 14140 14145
[3543] His Pro Asp Pro Val Gly Pro Gly Leu Asp Ile Gln Gln Leu Tyr
[3544] 14150 14155 14160
[3545] Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe
[3546] 14165 14170 14175
[3547] Tyr Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro
[3548] 14180 14185 14190
[3549] Gln Asn Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile
[3550] 14195 14200 14205
[3551] Val Asn Trp Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr
[3552] 14210 14215 14220
[3553] Ile Thr Leu Leu Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr
[3554] 14225 14230 14235
[3555] Lys Gly Ser Gln Leu His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr
[3556] 14240 14245 14250
[3557] Asn Leu Thr Met Asp Ser Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe
[3558] 14255 14260 14265
[3559] Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp
[3560] 14270 14275 14280
[3561] Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His Trp Leu Gly Ser Thr Tyr Gln
[3562] 14285 14290 14295
[3563] Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met Glu Ser Ser Val Tyr Gln
[3564] 14300 14305 14310
[3565] Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe Tyr Leu Asn Phe Thr
[3566] 14315 14320 14325
[3567] Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala Gln Pro Gly Thr
[3568] 14330 14335 14340
[3569] Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp Ala Leu Asn

[3570] 14345 14350 14355
[3571] Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser Asp Cys
[3572] 14360 14365 14370
[3573] Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr Gly
[3574] 14375 14380 14385
[3575] Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp
[3576] 14390 14395 14400
[3577] Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly
[3578] 14405 14410 14415
[3579] Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val
[3580] 14420 14425 14430
[3581] Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser
[3582] 14435 14440 14445
[3583] Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu
[3584] 14450 14455 14460
[3585] Leu Gly Val Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr
[3586] 14465 14470 14475
[3587] Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys
[3588] 14480 14485 14490
[3589] Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln
[3590] 14495 14500 14505
[3591] <210> 137
[3592] <211> 43815
[3593] <212> DNA
[3594] <213> 智人
[3595] <220>
[3596] <223> 不成熟的人MUC16核酸序列 (NM_024690.2)
[3597] <400> 137
[3598] agcgttgcac aattccccca acctccatac atacggcagc tcttctagac acaggttttc 60
[3599] ccaggtcaaa tgcggggacc ccagccatat ctcccaccct gagaaatttt ggagtttcag 120
[3600] ggagctcaga agctctgcag aggccaccct ctctgagggg attcttctta gacctccatc 180
[3601] cagaggcaaa tgttgacctg tccatgctga aaccctcagg ccttcctggg tcatcttctc 240
[3602] ccacccgctc cttgatgaca gggagcagga gcactaaagc cacaccagaa atggattcag 300
[3603] gactgacagg agccaccttg tcacctaaga catctacagg tgcaatcgtg gtgacagaac 360
[3604] atactctgcc ctttacttcc ccagataaga ccttggccag tcctacatct tcggttgtgg 420
[3605] gaagaaccac ccagtctttg ggggtgatgt cctctgctct ccctgagtca acctctagag 480
[3606] gaatgacaca ctccgagcaa agaaccagcc catcgctgag tccccaggtc aatggaactc 540
[3607] cctctaggaa ctaccctgct acaagcatgg tttcaggatt gagttcccca aggaccagga 600
[3608] ccagttccac agaaggaaat tttaccaaag aagcatctac atacacactc actgtagaga 660
[3609] ccacaagtgg cccagtcact gagaagtaca cagtccccac tgagacctca acaactgaag 720
[3610] gtgacagcac agagaccccc tgggacacaa gatatattcc tgtaaaaatc acatctccaa 780
[3611] tgaaaacatt tgcagattca actgcatcca aggaaaatgc cccagtgtct atgactccag 840

[3612] ctgagaccac agttactgac tcacatactc caggaaggac aaacccatca tttgggacac 900
[3613] tttattcttc cttccttgac ctatcaccta aagggacccc aaattccaga ggtgaaacaa 960
[3614] gcctggaact gattctatca accactggat atcccttctc ctctcctgaa cctggctctg 1020
[3615] caggacacag cagaataagt accagtgcgc ctttgtcatc atctgcttca gttctcgata 1080
[3616] ataaaatatc agagaccagc atattctcag gccagagtct cacctcccct ctgtctcctg 1140
[3617] gggtgcccga ggccagagcc agcacaatgc ccaactcagc tatccctttt tccatgacac 1200
[3618] taagcaatgc agaaacaagt gccgaaaggg tcagaagcac aatttcctct ctggggactc 1260
[3619] catcaatatc cacaaagcag acagcagaga ctatccttac cttccatgcc ttcgctgaga 1320
[3620] ccatggatat acccagcacc cacatagcca agactttggc ttcagaatgg ttgggaagtc 1380
[3621] caggtaccct tggtggcacc agcacttcag cgctgacaac cacatctcca tctaccactt 1440
[3622] tagtctcaga ggagaccaac acccatcact ccacgagtgg aaaggaaaca gaaggaactt 1500
[3623] tgaatacatc tatgactcca cttgagacct ctgctcctgg agaagagtcc gaaatgactg 1560
[3624] ccaccttggt ccccactcta ggttttacaa ctcttgacag caagatcaga agtccatctc 1620
[3625] aggtctcttc atcccaccca acaagagagc tcagaaccac aggcagcacc tctgggaggc 1680
[3626] agagttccag cacagctgcc cacgggagct ctgacatcct gagggcaacc acttccagca 1740
[3627] cctcaaaagc atcatcatgg accagtgaaa gcacagctca gcaatttagt gaaccccagc 1800
[3628] acacacagtg ggtggagaca agtcctagca tgaaaacaga gagaccccca gcatcaacca 1860
[3629] gtgtggcagc ccctatcacc acttctgttc cctcagtggt ctctggcttc accaccctga 1920
[3630] agaccagctc cacaaaaggg atttggcttg aagaaacatc tgcagacaca ctcatcggag 1980
[3631] aatccacagc tggcccaacc acccatcagt ttgctgttcc cactgggatt tcaatgacag 2040
[3632] gaggcagcag caccagggga agccagggca caacccacct actcaccaga gccacagcat 2100
[3633] catctgagac atccgcagat ttgactctgg ccacgaacgg tgtcccagtc tccgtgtctc 2160
[3634] cagcagtgag caagacggct gctggctcaa gtcctccagg agggacaaag ccatcatata 2220
[3635] caatggtttc ttctgtcatc cctgagacat catctctaca gtcctcagct ttcagggaag 2280
[3636] gaaccagcct gggactgact ccattaaaca ctagacatcc cttctcttcc cctgaaccag 2340
[3637] actctgcagg acacaccaag ataagcacca gcattcctct gttgtcatct gcttcagttc 2400
[3638] ttgaggataa agtgtcagcg accagcacat tctcacacca caaagccacc tcatctatta 2460
[3639] ccacagggac tcctgaaatc tcaacaaaga caaagcccag ctcagccgtt ctttcctcca 2520
[3640] tgaccctaag caatgcagca acaagtcctg aaagagtcag aaatgcaact tcccctctga 2580
[3641] ctcatccatc tccatcaggg gaagagacag cagggagtgt cctcactctc agcacctctg 2640
[3642] ctgagactac agactcacct aacatccacc caactgggac actgacttca gaatcgtcag 2700
[3643] agagtcctag cactctcagc ctcccaagtg tctctggagt caaaaccaca ttttcttcat 2760
[3644] ctactccttc cactcatcta tttactagtg gagaagaaac agaggaaact tcgaatccat 2820
[3645] ctgtgtctca acctgagact tctgtttcca gagtaaggac caccttggcc agcacctctg 2880
[3646] tccctacccc agtattcccc accatggaca cctggcctac acgttcagct cagttctctt 2940
[3647] catcccacct agtgagtgag ctcagagcta cgagcagtac ctcagttaca aactcaactg 3000
[3648] gttcagctct tcctaaaata tctcacctca ctgggacggc aacaatgtca cagaccaata 3060
[3649] gagacacgtt taatgactct gctgcacccc aaagcacaac ttggccagag actagtccca 3120
[3650] gattcaagac agggttacct tcagcaacaa ccactgtttc aacctctgcc acttctctct 3180
[3651] ctgctactgt aatggtctct aaattcactt ctccagcaac tagttccatg gaagcaactt 3240
[3652] ctatcaggga accatcaaca accatcctca caacagagac cacgaatggc ccaggctcta 3300
[3653] tggctgtggc ttctaccaac atcccaattg gaaagggcta cattactgaa ggaagattgg 3360

[3654] acacaagcca tctgcccatt ggaaccacag cttcctctga gacatctatg gattttacca 3420
[3655] tggccaaaga aagtgtctca atgtcagtat ctccatctca gtccatggat gctgctggct 3480
[3656] caagcactcc aggaaggaca agccaattcg ttgacacatt ttctgatgat gtctatcatt 3540
[3657] taacatccag agaaattaca atacctagag atggaacaag ctcagctctg actccacaaa 3600
[3658] tgactgcaac tcaccctcca tctcctgatc ctggctctgc tagaagcacc tggcttggca 3660
[3659] tcttgtcctc atctccttct tctcctactc ccaaagtcac aatgagctcc acattttcaa 3720
[3660] ctcagagagt caccacaagc atgataatgg acacagttga aactagtcgg tggaacatgc 3780
[3661] ccaacttacc ttccacgact tccttgacac caagtaatat tccaacaagt ggtgccatag 3840
[3662] gaaaaagcac cctggttccc ttggacactc catctccagc cacatcattg gaggcatcag 3900
[3663] aaggggact tccaaccctc agcacctacc ctgaatcaac aaacacaccc agcatccacc 3960
[3664] tcggagcaca cgctagttca gaaagtccaa gcaccatcaa acttaccatg gcttcagtag 4020
[3665] taaaacctgg ctcttacaca cctctcacct tcccctcaat agagacccac attcatgtat 4080
[3666] caacagccag aatggcttac tcttctgggt cttcacctga gatgacagct cctggagaga 4140
[3667] ctaacactgg tagtacctgg gaccccacca cctacatcac cactacggat cctaaggata 4200
[3668] caagttcagc tcaggtctct acaccccact cagtgaggac actcagaacc acagaaaacc 4260
[3669] atccaaagac agagtccgcc accccagctg cttactctgg aagtcctaaa atctcaagtt 4320
[3670] cacccaatct caccagtccg gccacaaaag catggaccat cacagacaca actgaacact 4380
[3671] ccactcaatt acattacaca aaattggcag aaaaatcatc tggatttgag acacagtcag 4440
[3672] ctccaggacc tgtctctgta gtaatcccta cctcccctac cattggaagc agcacattgg 4500
[3673] aactaacttc tgatgtccca ggggaacccc tggtccttgc tcccagtgag cagaccacaa 4560
[3674] tcactctccc catggcaaca tggctgagta ccagtttgac agaggaaatg gcttcaacag 4620
[3675] accttgatat ttcaagtcca agttcaccca tgagtacatt tgctattttt ccacctatgt 4680
[3676] ccacaccttc tcatgaactt tcaaagtcag aggcagatac cagtgccatt agaaatacag 4740
[3677] attcaacaac gttggatcag cacctaggaa tcaggagttt gggcagaact ggggacttaa 4800
[3678] caactgttcc tatcacccca ctgacaacca cgtggaccag tgtgattgaa cactcaacac 4860
[3679] aagcacagga caccctttct gcaacgatga gtcctactca cgtgacacag tcactcaaag 4920
[3680] atcaaacatc tataccagcc tcagcatccc cttcccatct tactgaagtc taccctgagc 4980
[3681] tcgggacaca agggagaagc tcctctgagg caaccacttt ttggaaacca tctacagaca 5040
[3682] cactgtccag agagattgag actggcccaa caaacattca atccactcca cccatggaca 5100
[3683] acacaacaac agggagcagt agtagtggag tcaccctggg catagcccac cttcccatag 5160
[3684] gaacatcctc cccagctgag acatccacaa acatggcact ggaaagaaga agttctacag 5220
[3685] ccactgtctc tatggctggg acaatgggac tccttgttac tagtgctcca ggaagaagca 5280
[3686] tcagccagtc attaggaaga gtttcctctg tcctttctga gtcaactact gaaggagtca 5340
[3687] cagattctag taagggaagc agcccaaggc tgaacacaca gggaaataca gctctctcct 5400
[3688] cctctcttga acccagctat gctgaaggaa gccagatgag cacaagcatc cctctaacct 5460
[3689] catctcctac aactcctgat gtggaattca taggggcag cacattttgg accaaggagg 5520
[3690] tcaccacagt tatgacctca gacatctcca agtcttcagc aaggacagag tccagctcag 5580
[3691] ctacccttat gtccacagct ttgggaagca ctgaaaatac aggaaaagaa aaactcagaa 5640
[3692] ctgcctctat ggatcttcca tctccaactc catcaatgga ggtgacacca tggatttctc 5700
[3693] tcactctcag taatgccccc aataccacag attcacttga cctcagccat ggggtgcaca 5760
[3694] ccagctctgc agggactttg gccactgaca ggtcattgaa tactggtgtc actagagcct 5820
[3695] ccagattgga aaacggctct gatacctctt ctaagtccct gtctatggga aacagcactc 5880

[3696] acacttccat gacttacaca gagaagagtg aagtgtcttc ttcaatccat ccccgacctg 5940
[3697] agacctcagc tcctggagca gagaccactt tgacttccac tcctggaaac agggccataa 6000
[3698] gcttaacatt gccttttca tccattccag tggaagaagt catttctaca ggcataacct 6060
[3699] caggaccaga catcaactca gcacccatga cacattctcc catcacccca ccaacaattg 6120
[3700] tatggaccag tacaggcaca attgaacagt ccactcaacc actacatgca gtttcttcag 6180
[3701] aaaaagtttc tgtgcagaca cagtcaactc catatgtcaa ctctgtggca gtgtctgctt 6240
[3702] cccctaccca tgagaattca gtctcttctg gaagcagcac atcctctcca tattcctcag 6300
[3703] cctcacttga atccttggat tccacaatca gtaggaggaa tgcaatcact tcctggctat 6360
[3704] gggacctcac tacatctctc cccactacaa cttggccaag tactagttta tctgaggcac 6420
[3705] tgtcctcagg ccattctggg gtttcaaacc caagttcaac tacgactgaa tttccactct 6480
[3706] tttcagctgc atccacatct gctgctaagc aaagaaatcc agaaacagag acccatggtc 6540
[3707] cccagaatac agccgcgagt actttgaaca ctgatgcatc ctcggtcaca ggtctttctg 6600
[3708] agactcctgt gggggcaagt atcagctctg aagtccctct tccaatggcc ataacttcta 6660
[3709] gatcagatgt ttctggcctt acatctgaga gtactgctaa cccgagttta ggcacagcct 6720
[3710] cttcagcagg gaccaaatta actaggacaa tatccctgcc cacttcagag tctttggttt 6780
[3711] cctttagaat gaacaaggat ccatggacag tgtcaatccc tttggggtcc catccaacta 6840
[3712] ctaatacaga aacaagcatc ccagtaaaca gcgcaggtcc acctggcttg tccacagtag 6900
[3713] catcagatgt aattgacaca ccttcagatg gggctgagag tattcccact gtctcctttt 6960
[3714] ccccctcccc tgatactgaa gtgacaacta tctcacattt cccagaaaag acaactcatt 7020
[3715] catttagaac catttcatct ctcactcatg agttgacttc aagagtgaca cctattcctg 7080
[3716] gggattggat gagttcagct atgtctacaa agcccacagg agccagtccc tccattacac 7140
[3717] tgggagagag aaggacaatc acctctgctg ctccaaccac ttcccccata gttctcactg 7200
[3718] ctagtttcac agagaccagc acagtttcac tggataatga aactacagta aaaacctcag 7260
[3719] atatccttga cgcacggaaa acaaatgagc tcccctcaga tagcagttct tcttctgatc 7320
[3720] tgatcaacac ctccatagct tcttcaacta tggatgtcac taaaacagcc tccatcagtc 7380
[3721] ccactagcat ctcaggaatg acagcaagtt cctccccatc tctcttctct tcagatagac 7440
[3722] cccaggttcc cacatctaca acagagacaa atacagccac ctctccatct gtttccagta 7500
[3723] acacctattc tcttgatggg ggctccaatg tgggtggcac tccatccact ttaccaccct 7560
[3724] ttacaatcac ccaccctgtc gagacaagct cggccctatt agcctggtct agaccagtaa 7620
[3725] gaactttcag caccatggtc agcactgaca ctgcctccgg agaaaatcct acctctagca 7680
[3726] attctgtggt gacttctgtt ccagcaccag gtacatggac cagtgtaggc agtactactg 7740
[3727] acttacctgc catgggcttt ctcaagacaa gtcctgcagg agaggcacac tcacttctag 7800
[3728] catcaactat tgaaccagcc actgccttca ctccccatct ctcagcagca gtggtcactg 7860
[3729] gatccagtgc tacatcagaa gccagtcttc tcactacgag tgaaagcaaa gccattcatt 7920
[3730] cttcaccaca gaccccaact acacccacct ctggagcaaa ctgggaaact tcagctactc 7980
[3731] ctgagagcct tttggtagtc actgagactt cagacacaac acttacctca aagattttgg 8040
[3732] tcacagatac catcttgttt tcaactgtgt ccacgccacc ttctaaattt ccaagtacgg 8100
[3733] ggactctgtc tggagcttcc ttccctactt tactcccgga cactccagcc atccctctca 8160
[3734] ctgccactga gccaacaagt tcattagcta catcctttga ttccacccca ctggtgacta 8220
[3735] tagcttcgga tagtcttggc acagtcccag agactaccct gaccatgtca gagacctcaa 8280
[3736] atggtgatgc actggttctt aagacagtaa gtaacccaga taggagcatc cctggaatca 8340
[3737] ctatccaagg agtaacagaa agtccactcc atccttcttc cacttccccc tctaagattg 8400

[3738] ttgctccacg gaatacaacc tatgaaggtt cgatcacagt ggcactttct actttgcctg 8460
[3739] cgggaactac tggttccctt gtattcagtc agagttctga aaactcagag acaacggctt 8520
[3740] tggtagactc atcagctggg cttgagaggg catctgtgat gccactaacc acaggaagcc 8580
[3741] agggtatggc tagctctgga ggaatcagaa gtgggtccac tcactcaact ggaaccaaaa 8640
[3742] cattttcttc tctccctctg accatgaacc caggtgaggt tacagccatg tctgaaatca 8700
[3743] ccacgaacag actgacagct actcaatcaa cagcacccaa agggatacct gtgaagccca 8760
[3744] ccagtgctga gtcaggcctc ctaacacctg tctctgcctc ctcaagccca tcaaaggcct 8820
[3745] ttgcctcact gactacagct cccccaactt gggggatccc acagtctacc ttgacatttg 8880
[3746] agttttctga ggtcccaagt ttggatacta agtccgcttc tttaccaact cctggacagt 8940
[3747] ccctgaacac cattccagac tcagatgcaa gcacagcatc ttcctcactg tccaagtctc 9000
[3748] cagaaaaaaa cccaagggca aggatgatga cttccacaaa ggccataagt gcaagctcat 9060
[3749] ttcaatcaac aggttttact gaaacccctg agggatctgc ctccccttct atggcagggc 9120
[3750] atgaacccag agtccccact tcaggaacag gggaccctag atatgcctca gagagcatgt 9180
[3751] cttatccaga cccaagcaag gcatcatcag ctatgacatc gacctctctt gcatcaaaac 9240
[3752] tcacaactct cttcagcaca ggtcaagcag caaggtctgg ttctagttcc tctcccataa 9300
[3753] gcctatccac tgagaaagaa acaagcttcc tttcccccac tgcatccacc tccagaaaga 9360
[3754] cttcactatt tcttgggcct tccatggcaa ggcagcccaa catattggtg catcttcaga 9420
[3755] cttcagctct gacactttct ccaacatcca ctctaaatat gtcccaggag gagcctcctg 9480
[3756] agttaacctc aagccagacc attgcagaag aagagggaac aacagctgaa acacagacgt 9540
[3757] taaccttcac accatctgag accccaacat ccttgttacc tgtctcttct cccacagaac 9600
[3758] ccacagccag aagaaagagt tctccagaaa catgggcaag ctctatttca gttcctgcca 9660
[3759] agacctcctt ggttgaaaca actgatggaa cgctagtgac caccataaag atgtcaagcc 9720
[3760] aggcagcaca aggaaattcc acgtggcctg ccccagcaga ggagacgggg agcagtccag 9780
[3761] caggcacatc cccaggaagc ccagaaatgt ctaccactct caaaatcatg agctccaagg 9840
[3762] aacccagcat cagcccagag atcaggtcca ctgtgagaaa ttctccttgg aagactccag 9900
[3763] aaacaactgt tcccatggag accacagtgg aaccagtcac ccttcagtcc acagccctag 9960
[3764] gaagtggcag caccagcatc tctcacctgc ccacaggaac cacatcacca accaagtcac 10020
[3765] caacagaaaa tatgttggct acagaaaggg tctccctctc cccatcccca cctgaggctt 10080
[3766] ggaccaacct ttattctgga actccaggag ggaccaggca gtcactggcc acaatgtcct 10140
[3767] ctgtctccct agagtcacca actgctagaa gcatcacagg gactggtcag caaagcagtc 10200
[3768] cagaactggt ttcaaagaca actggaatgg aattctctat gtggcatggc tctactggag 10260
[3769] ggaccacagg ggacacacat gtctctctga gcacatcttc caatatcctt gaagaccctg 10320
[3770] taaccagccc aaactctgtg agctcattga cagataaatc caaacataaa accgagacat 10380
[3771] gggtaagcac cacagccatt ccctccactg tcctgaataa taagataatg gcagctgaac 10440
[3772] aacagacaag tcgatctgtg gatgaggctt attcatcaac tagttcttgg tcagatcaga 10500
[3773] catctgggag tgacatcacc cttggtgcat ctcctgatgt cacaaacaca ttatacatca 10560
[3774] cctccacagc acaaaccacc tcactagtgt ctctgccctc tggagaccaa ggcattacaa 10620
[3775] gcctcaccaa tccctcagga ggaaaaacaa gctctgcgtc atctgtcaca tctccttcaa 10680
[3776] tagggcttga gactctgagg gccaatgtaa gtgcagtgaa aagtgacatt gcccctactg 10740
[3777] ctgggcatct atctcagact tcatctcctg cggaagtgag catcctggac gtaaccacag 10800
[3778] ctcctactcc aggtatctcc accaccatca ccaccatggg aaccaactca atctcaacta 10860
[3779] ccacacccaa cccagaagtg ggtatgagta ccatggacag cacccggcc acagagaggc 10920

[3780] gcacaacttc tacagaacac ccttccacct ggtcttccac agctgcatca gattcctgga 10980
[3781] ctgtcacaga catgacttca aacttgaaag ttgcaagatc tcctggaaca atttccacaa 11040
[3782] tgcatacaac ttcattctta gcctcaagca ctgaattaga ctccatgtct actccccatg 11100
[3783] gccgtataac tgtcattgga accagcctgg tcactccatc ctctgatgct tcagctgtaa 11160
[3784] agacagagac cagtacaagt gaaagaacat tgagtccttc agacacaact gcatctactc 11220
[3785] ccatctcaac tttttctcgt gtccagagga tgagcatctc agttcctgac attttaagta 11280
[3786] caagttggac tcccagtagt acagaagcag aagatgtgcc tgtttcaatg gtttctacag 11340
[3787] atcatgctag tacaaagact gacccaaata cgcccctgtc cacttttctg tttgattctc 11400
[3788] tgtccactct tgactgggac actgggagat ctctgtcatc agccacagcc actacctcag 11460
[3789] ctcctcaggg ggccacaact ccccaggaac tcactttgga aaccatgatc agcccagcta 11520
[3790] cctcacagtt gcccttctct atagggcaca ttacaagtgc agtcacacca gctgcaatgg 11580
[3791] caaggagctc tggagttact ttttcaagac cagatcccac aagcaaaaag gcagagcaga 11640
[3792] cttccactca gcttcccacc accacttctg cacatccagg gcaggtgccc agatcagcag 11700
[3793] caacaactct ggatgtgatc ccacacacag caaaaactcc agatgcaact tttcagagac 11760
[3794] aagggcagac agctcttaca acagaggcaa gagctacatc tgactcctgg aatgagaaag 11820
[3795] aaaaatcaac cccaagtgca ccttggatca ctgagatgat gaattctgtc tcagaagata 11880
[3796] ccatcaagga ggttaccagc tcctccagtg tattaaggac cctgaatacg ctggacataa 11940
[3797] acttggaatc tgggacgact tcatccccaa gttggaaaag cagcccatat gagagaattg 12000
[3798] ccccttctga gtccaccaca gacaaagagg caattcaccc ttctacaaac acagtagaga 12060
[3799] ccacaggctg ggtcacaagt tccgaacatg cttctcattc cactatccca gcccactcag 12120
[3800] cgtcatccaa actcacatct ccagtggtta caacctccac cagggaacaa gcaatagttt 12180
[3801] ctatgtcaac aaccacatgg ccagagtcta caagggctag aacagagcct aattccttct 12240
[3802] tgactattga actgagggac gtcagccctt acatggacac cagctcaacc acacaaacaa 12300
[3803] gtattatctc ttccccaggt tccactgcga tcaccaaggg gcctagaaca gaaattacct 12360
[3804] cctctaagag aatatccagc tcattccttg cccagtctat gaggtcgtca gacagcccct 12420
[3805] cagaagccat caccaggctg tctaactttc ctgccatgac agaatctgga ggaatgatcc 12480
[3806] ttgctatgca aacaagtcca cctggcgcta catcactaag tgcacctact ttggatacat 12540
[3807] cagccacagc ctcctggaca gggactccac tggctacgac tcagagattt acatactcag 12600
[3808] agaagaccac tctctttagc aaaggtcctg aggatacatc acagccaagc cctccctctg 12660
[3809] tggaagaaac cagctcttcc tcttccctgg tacctatcca tgctacaacc tcgccttcca 12720
[3810] atattttgtt gacatcacaa gggcacagtc cctcctctac tccacctgtg acctcagttt 12780
[3811] tcttgtctga gacctctggc ctggggaaga ccacagacat gtcgaggata agcttggaac 12840
[3812] ctggcacaag tttacctccc aatttgagca gtacagcagg tgaggcgtta tccacttatg 12900
[3813] aagcctccag agatacaaag gcaattcatc attctgcaga cacagcagtg acgaatatgg 12960
[3814] aggcaaccag ttctgaatat tctcctatcc caggccatac aaagccatcc aaagccacat 13020
[3815] ctccattggt tacctcccac atcatggggg acatcacttc ttccacatca gtatttggct 13080
[3816] cctccgagac cacagagatt gagacagtgt cctctgtgaa ccagggactt caggagagaa 13140
[3817] gcacatccca ggtggccagc tctgctacag agacaagcac tgtcattacc catgtgtcta 13200
[3818] gtggtgatgc tactactcat gtcaccaaga cacaagccac tttctctagc ggaacatcca 13260
[3819] tctcaagccc tcatcagttt ataacttcta ccaacacatt tacagatgtg agcaccaacc 13320
[3820] cctccacctc tctgataatg acagaatctt caggagtgac catcaccacc caaacaggtc 13380
[3821] ctactggagc tgcaacacag ggtccatatc tcttggacac atcaaccatg ccttacttga 13440

[3822] cagagactcc attagctgtg actccagatt ttatgcaatc agagaagacc actctcataa 13500
[3823] gcaaaggtcc caaggatgtg tcctggacaa gccctccctc tgtggcagaa accagctatc 13560
[3824] cctcttccct gacacctttc ttggtcacaa ccatacctcc tgccacttcc acgttacaag 13620
[3825] ggcaacatac atcctctcct gtttctgcga cttcagttct tacctctgga ctggtgaaga 13680
[3826] ccacagatat gttgaacaca agcatggaac ctgtgaccaa ttcacctcaa aatttgaaca 13740
[3827] atccatcaaa tgagatactg gccactttgg cagccaccac agatatagag actattcatc 13800
[3828] cttccataaa caaagcagtg accaatatgg ggactgccag ttcagcacat gtactgcatt 13860
[3829] ccactctccc agtcagctca gaaccatcta cagccacatc tccaatggtt cctgcctcca 13920
[3830] gcatggggga cgctcttgct tctatatcaa tacctggttc tgagaccaca gacattgagg 13980
[3831] gagagccaac atcctccctg actgctggac gaaaagagaa cagcaccctc caggagatga 14040
[3832] actcaactac agagtcaaac atcatcctct ccaatgtgtc tgtgggggct attactgaag 14100
[3833] ccacaaaaat ggaagtcccc tcttttgatg caacattcat accaactcct gctcagtcaa 14160
[3834] caaagttccc agatattttc tcagtagcca gcagtagact ttcaaactct cctcccatga 14220
[3835] caatatctac ccacatgacc accacccaga cagggtcttc tggagctaca tcaaagattc 14280
[3836] cacttgcctt agacacatca accttggaaa cctcagcagg gactccatca gtggtgactg 14340
[3837] aggggtttgc ccactcaaaa ataaccactg caatgaacaa tgatgtcaag gacgtgtcac 14400
[3838] agacaaaccc tccctttcag gatgaagcca gctctccctc ttctcaagca cctgtccttg 14460
[3839] tcacaacctt accttcttct gttgctttca caccgcaatg gcacagtacc tcctctcctg 14520
[3840] tttctatgtc ctcagttctt acttcttcac tggtaaagac cgcaggcaag gtggatacaa 14580
[3841] gcttagaaac agtgaccagt tcacctcaaa gtatgagcaa cactttggat gacatatcgg 14640
[3842] tcacttcagc agccaccaca gatatagaga caacgcatcc ttccataaac acagtagtta 14700
[3843] ccaatgtggg gaccaccggt tcagcatttg aatcacattc tactgtctca gcttacccag 14760
[3844] agccatctaa agtcacatct ccaaatgtta ccacctccac catggaagac accacaattt 14820
[3845] ccagatcaat acctaaatcc tctaagacta caagaactga gactgagaca acttcctccc 14880
[3846] tgactcctaa actgagggag accagcatct cccaggagat cacctcgtcc acagagacaa 14940
[3847] gcactgttcc ttacaaagag ctcactggtg ccactaccga ggtatccagg acagatgtca 15000
[3848] cttcctctag cagtacatcc ttccctggcc ctgatcagtc cacagtgtca ctagacatct 15060
[3849] ccacagaaac caacaccagg ctgtctacct ccccaataat gacagaatct gcagaaataa 15120
[3850] ccatcaccac ccaaacaggt cctcatgggg ctacatcaca ggatactttt accatggacc 15180
[3851] catcaaatac aacccccccag gcagggatcc actcagctat gactcatgga ttttcacaat 15240
[3852] tggatgtgac cactcttatg agcagaattc cacaggatgt atcatggaca agtcctccct 15300
[3853] ctgtggataa aaccagctcc ccctcttcct ttctgtcctc acctgcaatg accacacctt 15360
[3854] ccctgatttc ttctacctta ccagaggata agctctcctc tcctatgact tcacttctca 15420
[3855] cctctggcct agtgaagatt acagacatat tacgtacacg cttggaacct gtgaccagct 15480
[3856] cacttccaaa tttcagcagc acctcagata agatactggc cacttctaaa gacagtaaag 15540
[3857] acacaaagga aatttttcct tctataaaca cagaagagac caatgtgaaa gccaacaact 15600
[3858] ctggacatga atcccattcc cctgcactgg ctgactcaga gacacccaaa gccacaactc 15660
[3859] aaatggttat caccaccact gtgggagatc cagctccttc cacatcaatg ccagtgcatg 15720
[3860] gttcctctga gactacaaac attaagagag agccaacata tttcttgact cctagactga 15780
[3861] gagagaccag tacctctcag gagtccagct ttcccacgga cacaagtttt ctactttcca 15840
[3862] aagtccccac tggtactatt actgaggtct ccagtacagg ggtcaactct tctagcaaaa 15900
[3863] tttccacccc agaccatgat aagtccacag tgccacctga caccttcaca ggagagatcc 15960

[3864] ccagggtctt cacctcctct attaagacaa aatctgcaga aatgacgatc accacccaag 16020
[3865] caagtcctcc tgagtctgca tcgcacagta cccttccctt ggacacatca accacacttt 16080
[3866] cccagggagg gactcattca actgtgactc agggattccc atactcagag gtgaccactc 16140
[3867] tcatgggcat gggtcctggg aatgtgtcat ggatgacaac tccccctgtg gaagaaacca 16200
[3868] gctctgtgtc ttccctgatg tcttcacctg ccatgacatc cccttctcct gtttcctcca 16260
[3869] catcaccaca gagcatcccc tcctctcctc ttcctgtgac tgcacttcct acttctgttc 16320
[3870] tggtgacaac cacagatgtg ttgggcacaa caagcccaga gtctgtaacc agttcacctc 16380
[3871] caaatttgag cagcatcact catgagagac cggccactta caaagacact gcacacacag 16440
[3872] aagccgccat gcatcattcc acaaacaccg cagtgaccaa tgtagggact tccgggtctg 16500
[3873] gacataaatc acaatcctct gtcctagctg actcagagac atcgaaagcc acacctctga 16560
[3874] tgagtaccac ctccaccctg ggggacacaa gtgtttccac atcaactcct aatatctctc 16620
[3875] agactaacca aattcaaaca gagccaacag catccctgag ccctagactg agggagagca 16680
[3876] gcacgtctga gaagaccagc tcaacaacag agacaaatac tgccttttct tatgtgccca 16740
[3877] caggtgctat tactcaggcc tccagaacag aaatctcctc tagcagaaca tccatctcag 16800
[3878] accttgatcg gcccacaata gcacccgaca tctccacagg aatgatcacc aggctcttca 16860
[3879] cctcccccat catgacaaaa tctgcagaaa tgaccgtcac cactcaaaca actactcctg 16920
[3880] gggctacatc acagggtatc cttccctggg acacatcaac cacacttttc cagggaggga 16980
[3881] ctcattcaac cgtgtctcag ggattcccac actcagagat aaccactctt cggagcagaa 17040
[3882] cccctggaga tgtgtcatgg atgacaactc cccctgtgga agaaaccagc tctgggtttt 17100
[3883] ccctgatgtc accttccatg acatcccctt ctcctgtttc ctccacatca ccagagagca 17160
[3884] tcccctcctc tcctctccct gtgactgcac ttcttacttc tgttctggtg acaaccacaa 17220
[3885] atgtattggg cacaacaagc ccagagcccg taacgagttc acctccaaat ttaagcagcc 17280
[3886] ccacacagga gagactgacc acttacaaag acactgcgca cacagaagcc atgcatgctt 17340
[3887] ccatgcatac aaacactgca gtggccaacg tggggacctc catttctgga catgaatcac 17400
[3888] aatcttctgt cccagctgat tcacacacat ccaaagccac atctccaatg ggtatcacct 17460
[3889] tcgccatggg ggatacaagt gtttctacat caactcctgc cttctttgag actagaattc 17520
[3890] agactgaatc aacatcctct ttgattcctg gattaaggga caccaggacg tctgaggaga 17580
[3891] tcaacactgt gacagagacc agcactgtcc tttcagaagt gcccactact actactactg 17640
[3892] aggtctccag gacagaagtt atcacttcca gcagaacaac catctcaggg cctgatcatt 17700
[3893] ccaaaatgtc accctacatc tccacagaaa ccatcaccag gctctccact tttccttttg 17760
[3894] taacaggatc cacagaaatg gccatcacca accaaacagg tcctataggg actatctcac 17820
[3895] aggctaccct taccctggac acatcaagca cagcttcctg ggaagggact cactcacctg 17880
[3896] tgactcagag atttccacac tcagaggaga ccactactat gagcagaagt actaagggcg 17940
[3897] tgtcatggca aagccctccc tctgtggaag aaaccagttc tccttcttcc ccagtgcctt 18000
[3898] tacctgcaat aacctcacat tcatctcttt attccgcagt atcaggaagt agccccactt 18060
[3899] ctgctctccc tgtgacttcc cttctcacct ctggcaggag gaagaccata gacatgttgg 18120
[3900] acacacactc agaacttgtg accagctcct taccaagtgc aagtagcttc tcaggtgaga 18180
[3901] tactcacttc tgaagcctcc acaaatacag agacaattca cttttcagag aacacagcag 18240
[3902] aaaccaatat ggggaccacc aattctatgc ataaactaca ttcctctgtc tcaatccact 18300
[3903] cccagccatc cggacacaca cctccaaagg ttactggatc tatgatggag gacgctattg 18360
[3904] tttccacatc aacacctggt tctcctgaga ctaaaaatgt tgacagagac tcaacatccc 18420
[3905] ctctgactcc tgaactgaaa gaggacagca ccgccctggt gatgaactca actacagagt 18480

[3906] caaacactgt tttctccagt gtgtccctgg atgctgctac tgaggtctcc agggcagaag 18540
[3907] tcacctacta tgatcctaca ttcatgccag cttctgctca gtcaacaaag tccccagaca 18600
[3908] tttcacctga agccagcagc agtcattcta actctcctcc cttgacaata tctacacaca 18660
[3909] agaccatcgc cacacaaaca ggtccttctg gggtgacatc tcttggccaa ctgaccctgg 18720
[3910] acacatcaac catagccacc tcagcaggaa ctccatcagc cagaactcag gattttgtag 18780
[3911] attcagaaac aaccagtgtc atgaacaatg atctcaatga tgtgttgaag acaagccctt 18840
[3912] tctctgcaga agaagccaac tctctctctt ctcaggcacc tctccttgtg acaacctcac 18900
[3913] cttctcctgt aacttccaca ttgcaagagc acagtacctc ctctcttgtt tctgtgacct 18960
[3914] cagtacccac ccctacactg gcgaagatca cagacatgga cacaaactta gaacctgtga 19020
[3915] ctcgttcacc tcaaaattta aggaacacct tggccacttc agaagccacc acagatacac 19080
[3916] acacaatgca tccttctata aacacagcag tggccaatgt ggggaccacc agttcaccaa 19140
[3917] atgaattcta ttttactgtc tcacctgact cagacccata taaagccaca tccgcagtag 19200
[3918] ttatcacttc cacctcgggg gactcaatag tttccacatc aatgcctaga tcctctgcga 19260
[3919] tgaaaaagat tgagtctgag acaactttct ccctgatatt tagactgagg gagactagca 19320
[3920] cctcccagaa aattggctca tcctcagaca caagcacggt ctttgacaaa gcattcactg 19380
[3921] ctgctactac tgaggtctcc agaacagaac tcacctcctc tagcagaaca tccatccaag 19440
[3922] gcactgaaaa gcccacaatg tcaccggaca cctccacaag atctgtcacc atgctttcta 19500
[3923] cttttgctgg cctgacaaaa tccgaagaaa ggaccattgc cacccaaaca ggtcctcata 19560
[3924] gggcgacatc acagggtacc cttacctggg acacatcaat cacaacctca caggcaggga 19620
[3925] cccactcagc tatgactcat ggattttcac aattagattt gtccactctt acgagtagag 19680
[3926] ttcctgagta catatcaggg acaagcccac cctctgtgga aaaaaccagc tcttcctctt 19740
[3927] cccttctgtc tttaccagca ataacctcac cgtcccctgt acctactaca ttaccagaaa 19800
[3928] gtaggccgtc ttctcctgtt catctgactt cactccccac ctctggccta gtgaagacca 19860
[3929] cagatatgct ggcatctgtg gccagtttac ctccaaactt gggcagcacc tcacataaga 19920
[3930] taccgactac ttcagaagac attaaagata cagagaaaat gtatccttcc acaaacatag 19980
[3931] cagtaaccaa tgtggggacc accacttctg aaaaggaatc ttattcgtct gtcccagcct 20040
[3932] actcagaacc acccaaagtc acctctccaa tggttacctc tttcaacata agggacacca 20100
[3933] ttgtttccac atccatgcct ggctcctctg agattacaag gattgagatg gagtcaacat 20160
[3934] tctccctggc tcatgggctg aagggaacca gcacctccca ggaccccatc gtatccacag 20220
[3935] agaaaagtgc tgtccttcac aagttgacca ctggtgctac tgagacctct aggacagaag 20280
[3936] ttgcctcttc tagaagaaca tccattccag gccctgatca ttccacagag tcaccagaca 20340
[3937] tctccactga agtgatcccc agcctgccta tctcccttgg cattacagaa tcttcaaata 20400
[3938] tgaccatcat cactcgaaca ggtcctcctc ttggctctac atcacagggc acatttacct 20460
[3939] tggacacacc aactacatcc tccagggcag gaacacactc gatggcgact caggaatttc 20520
[3940] cacactcaga aatgaccact gtcatgaaca aggaccctga gattctatca tggacaatcc 20580
[3941] ctccttctat agagaaaacc agcttctcct cttccctgat gccttcacca gccatgactt 20640
[3942] cacctcctgt ttcctcaaca ttaccaaaga ccattcacac cactccttct cctatgacct 20700
[3943] cactgctcac ccctagccta gtgatgacca cagacacatt gggcacaagc ccagaaccta 20760
[3944] caaccagttc acctccaaat ttgagcagta cctcacatga gatactgaca acagatgaag 20820
[3945] acaccacagc tatagaagcc atgcatcctt ccacaagcac agcagcgact aatgtggaaa 20880
[3946] ccaccagttc tggacatggg tcacaatcct ctgtcctagc tgactcagaa aaaaccaagg 20940
[3947] ccacagctcc aatggatacc acctccacca tggggcatac aactgtttcc acatcaatgt 21000

[3948] ctgtttcctc tgagactaca aaaattaaga gagagtcaac atattccttg actcctggac 21060
[3949] tgagagagac cagcatttcc caaaatgcca gcttttccac tgacacaagt attgttcttt 21120
[3950] cagaagtccc cactggtact actgctgagg tctccaggac agaagtcacc tcctctggta 21180
[3951] gaacatccat ccctggccct tctcagtcca cagttttgcc agaaatatcc acaagaacaa 21240
[3952] tgacaaggct ctttgcctcg cccaccatga cagaatcagc agaaatgacc atccccactc 21300
[3953] aaacaggtcc ttctgggtct acctcacagg atacccttac cttggacaca tccaccacaa 21360
[3954] agtcccaggc aaagactcat tcaactttga ctcagagatt tccacactca gagatgacca 21420
[3955] ctctcatgag cagaggtcct ggagatatgt catggcaaag ctctccctct ctggaaaatc 21480
[3956] ccagctctct cccttccctg ctgtctttac ctgccacaac ctcacctcct cccatttcct 21540
[3957] ccacattacc agtgactatc tcctcctctc ctcttcctgt gacttcactt ctcacctcta 21600
[3958] gcccggtaac gaccacagac atgttacaca caagcccaga acttgtaacc agttcacctc 21660
[3959] caaagctgag ccacacttca gatgagagac tgaccactgg caaggacacc acaaatacag 21720
[3960] aagctgtgca tccttccaca aacacagcag cgtccaatgt ggagattccc agctctggac 21780
[3961] atgaatcccc ttcctctgcc ttagctgact cagagacatc caaagccaca tcaccaatgt 21840
[3962] ttattacctc cacccaggag gatacaactg ttgccatatc aacccctcac ttcttggaga 21900
[3963] ctagcagaat tcagaaagag tcaatttcct ccctgagccc taaattgagg gagacaggca 21960
[3964] gttctgtgga gacaagctca gccatagaga caagtgctgt cctttctgaa gtgtccattg 22020
[3965] gtgctactac tgagatctcc aggacagaag tcacctcctc tagcagaaca tccatctctg 22080
[3966] gttctgctga gtccacaatg ttgccagaaa tatccaccac aagaaaaatc attaagttcc 22140
[3967] ctacttcccc catcctggca gaatcatcag aaatgaccat caagacccaa acaagtcctc 22200
[3968] ctgggtctac atcagagagt acctttacat tagacacatc aaccactccc tccttggtaa 22260
[3969] taacccattc gactatgact cagagattgc cacactcaga gataaccact cttgtgagta 22320
[3970] gaggtgctgg ggatgtgcca cggcccagct ctctccctgt ggaagaaaca agccctccat 22380
[3971] cttcccagct gtctttatct gccatgatct caccttctcc tgtttcttcc acattaccag 22440
[3972] caagtagcca ctcctcttct gcttctgtga cttcacttct cacaccaggc caagtgaaga 22500
[3973] ctactgaggt gttggacgca agtgcagaac ctgaaaccag ttcacctcca agtttgagca 22560
[3974] gcacctcagt tgaaatactg gccacctctg aagtcaccac agatacggag aaaattcatc 22620
[3975] ctttctcaaa cacggcagta accaaagttg gaacttccag ttctggacat gaatcccctt 22680
[3976] cctctgtcct acctgactca gagacaacca aagccacatc ggcaatgggt accatctcca 22740
[3977] ttatggggga tacaagtgtt tctacattaa ctcctgcctt atctaacact aggaaaattc 22800
[3978] agtcagagcc agcttcctca ctgaccacca gattgaggga gaccagcacc tctgaagaga 22860
[3979] ccagcttagc cacagaagca aacactgttc tttctaaagt gtccactggt gctactactg 22920
[3980] aggtctccag gacagaagcc atctccttta gcagaacatc catgtcaggc cctgagcagt 22980
[3981] ccacaatgtc acaagacatc tccataggaa ccatccccag gatttctgcc tcctctgtcc 23040
[3982] tgacagaatc tgcaaaaatg accatcacaa cccaaacagg tccttcggag tctacactag 23100
[3983] aaagtaccct taatttgaac acagcaacca caccctcttg ggtggaaacc cactctatag 23160
[3984] taattcaggg atttccacac ccagagatga ccacttccat gggcagaggt cctggaggtg 23220
[3985] tgtcatggcc tagccctccc tttgtgaaag aaaccagccc tccatcctcc ccgctgtctt 23280
[3986] tacctgccgt gacctcacct catcctgttt ccaccacatt cctagcacat atccccccct 23340
[3987] ctccccttcc tgtgacttca cttctcacct ctggcccggc gacaaccaca gatatcttgg 23400
[3988] gtacaagcac agaacctgga accagttcat cttcaagttt gagcaccacc tcccatgaga 23460
[3989] gactgaccac ttacaaagac actgcacata cagaagccgt gcatccttcc acaaacacag 23520

[3990] gagggaccaa tgtggcaacc accagctctg gatataaatc acagtcctct gtcctagctg 23580
[3991] actcatctcc aatgtgtacc acctccacca tgggggatac aagtgttctc acatcaactc 23640
[3992] ctgccttcct tgagactagg aggattcaga cagagctagc ttcctccctg acccctggat 23700
[3993] tgagggagtc cagcggctct gaagggacca gctcaggcac caagatgagc actgtcctct 23760
[3994] ctaaagtgcc cactggtgct actactgaga tctccaagga agacgtcacc tccatcccag 23820
[3995] gtcccgctca atccacaata tcaccagaca tctccacaag aaccgtcagc tggttctcta 23880
[3996] catcccctgt catgacagaa tcagcagaaa taaccatgaa cacccataca agtcctttag 23940
[3997] gggccacaac acaaggcacc agtactttgg acacgtcaag cacaacctct ttgacaatga 24000
[3998] cacactcaac tatatctcaa ggattttcac actcacagat gagcactctt atgaggaggg 24060
[3999] gtcctgagga tgtatcatgg atgagccctc cccttctgga aaaaactaga ccttcctttt 24120
[4000] ctctgatgtc ttcaccagcc acaacttcac cttctcctgt ttcctccaca ttaccagaga 24180
[4001] gcatctcttc ctctcctctt cctgtgactt cactcctcac gtctggcttg gcaaaaacta 24240
[4002] cagatatgtt gcacaaaagc tcagaacctg taaccaactc acctgcaaat ttgagcagca 24300
[4003] cctcagttga aatactggcc acctctgaag tcaccacaga tacagagaaa actcatcctt 24360
[4004] cttcaaacag aacagtgacc gatgtgggga cctccagttc tggacatgaa tccacttcct 24420
[4005] ttgtcctagc tgactcacag acatccaaag tcacatctcc aatggttatt acctccacca 24480
[4006] tggaggatac gagtgtctcc acatcaactc ctggcttttt tgagactagc agaattcaga 24540
[4007] cagaaccaac atcctccctg acccttggac tgagaaagac cagcagctct gaggggacca 24600
[4008] gcttagccac agagatgagc actgtccttt ctggagtgcc cactggtgcc actgctgaag 24660
[4009] tctccaggac agaagtcacc tcctctagca gaacatccat ctcaggcttt gctcagctca 24720
[4010] cagtgtcacc agagacttcc acagaaacca tcaccagact ccctacctcc agcataatga 24780
[4011] cagaatcagc agaaatgatg atcaagacac aaacagatcc tcctgggtct acaccagaga 24840
[4012] gtactcatac tgtggacata tcaacaacac ccaactgggt agaaacccac tcgactgtga 24900
[4013] ctcagagatt ttcacactca gagatgacca ctcttgtgag cagaagccct ggtgatatgt 24960
[4014] tatggcctag tcaatcctct gtggaagaaa ccagctctgc ctcttccctg ctgtctctgc 25020
[4015] ctgccacgac ctcaccttct cctgtttcct ctacattagt agaggatttc ccttccgctt 25080
[4016] ctcttcctgt gacttctctt ctcaaccctg gcctggtgat aaccacagac aggatgggca 25140
[4017] taagcagaga acctggaacc agttccactt caaatttgag cagcacctcc catgagagac 25200
[4018] tgaccacttt ggaagacact gtagatacag aagacatgca gccttccaca cacacagcag 25260
[4019] tgaccaacgt gaggacctcc atttctggac atgaatcaca atcttctgtc ctatctgact 25320
[4020] cagagacacc caaagccaca tctccaatgg gtaccaccta caccatgggg gaaacgagtg 25380
[4021] tttccatatc cacttctgac ttctttgaga ccagcagaat tcagatagaa ccaacatcct 25440
[4022] ccctgacttc tggattgagg gagaccagca gctctgagag gatcagctca gccacagagg 25500
[4023] gaagcactgt cctttctgaa gtgcccagtg gtgctaccac tgaggtctcc aggacagaag 25560
[4024] tgatatcctc taggggaaca tccatgtcag ggcctgatca gttcaccata tcaccagaca 25620
[4025] tctctactga agcgatcacc aggctttcta cttcccccat tatgacagaa tcagcagaaa 25680
[4026] gtgccatcac tattgagaca ggttctcctg gggctacatc agagggtacc ctcaccttgg 25740
[4027] acacctcaac aacaaccttt tggtcaggga cccactcaac tgcatctcca ggattttcac 25800
[4028] actcagagat gaccactctt atgagtagaa ctcctggaga tgtgccatgg ccgagccttc 25860
[4029] cctctgtgga agaagccagc tctgtctctt cctcactgtc ttcacctgcc atgacctcaa 25920
[4030] cttctttttt ctccacatta ccagagagca tctcctcctc tcctcatcct gtgactgcac 25980
[4031] ttctcaccct tggcccagtg aagaccacag acatgttgcg cacaagctca gaacctgaaa 26040

[4032] ccagttcacc tccaaatttg agcagcacct cagctgaaat attagccacg tctgaagtca 26100
[4033] ccaaagatag agagaaaatt catccctcct caaacacacc tgtagtcaat gtagggactg 26160
[4034] tgatttataa acatctatcc ccttcctctg ttttggctga cttagtgaca acaaaaccca 26220
[4035] catctccaat ggctaccacc tccactctgg ggaatacaag tgtttccaca tcaactcctg 26280
[4036] ccttcccaga aactatgatg acacagccaa cttcctccct gacttctgga ttaagggaga 26340
[4037] tcagtacctc tcaagagacc agctcagcaa cagagagaag tgcttctctt tctggaatgc 26400
[4038] ccactggtgc tactactaag gtctccagaa cagaagccct ctccttaggc agaacatcca 26460
[4039] ccccaggtcc tgctcaatcc acaatatcac cagaaatctc cacggaaacc atcactagaa 26520
[4040] tttctactcc cctcaccacg acaggatcag cagaaatgac catcaccccc aaaacaggtc 26580
[4041] attctggggc atcctcacaa ggtaccttta ccttggacac atcaagcaga gcctcctggc 26640
[4042] caggaactca ctcagctgca actcacagat ctccacactc agggatgacc actcctatga 26700
[4043] gcagaggtcc tgaggatgtg tcatggccaa gccgcccatc agtggaaaaa actagccctc 26760
[4044] catcttccct ggtgtcttta tctgcagtaa cctcaccttc gccactttat tccacaccat 26820
[4045] ctgagagtag ccactcatct cctctccggg tgacttctct tttcacccct gtcatgatga 26880
[4046] agaccacaga catgttggac acaagcttgg aacctgtgac cacttcacct cccagtatga 26940
[4047] atatcacctc agatgagagt ctggccactt ctaaagccac catggagaca gaggcaattc 27000
[4048] agctttcaga aaacacagct gtgactcaga tgggcaccat cagcgctaga caagaattct 27060
[4049] attcctctta tccaggcctc ccagagccat ccaaagtgac atctccagtg gtcacctctt 27120
[4050] ccaccataaa agacattgtt tctacaacca tacctgcttc ctctgagata acaagaattg 27180
[4051] agatggagtc aacatccacc ctgaccccca caccaaggga gaccagcacc tcccaggaga 27240
[4052] tccactcagc cacaaagcca agcactgttc cttacaaggc actcactagt gccacgattg 27300
[4053] aggactccat gacacaagtc atgtcctcta gcagaggacc tagccctgat cagtccacaa 27360
[4054] tgtcacaaga catatccact gaagtgatca ccaggctctc tacctccccc atcaagacag 27420
[4055] aatctacaga aatgaccatt accacccaaa caggttctcc tggggctaca tcaaggggta 27480
[4056] cccttacctt ggacacttca acaactttta tgtcagggac ccactcaact gcatctcaag 27540
[4057] gattttcaca ctcacagatg accgctctta tgagtagaac tcctggagat gtgccatggc 27600
[4058] taagccatcc ctctgtggaa gaagccagct ctgcctcttt ctcactgtct tcacctgtca 27660
[4059] tgacctcatc ttctcccgtt tcttccacat taccagacag catccactct tcttcgcttc 27720
[4060] ctgtgacatc acttctcacc tcagggctgg tgaagaccac agagctgttg ggcacaagct 27780
[4061] cagaacctga aaccagttca cccccaaatt tgagcagcac ctcagctgaa atactggcca 27840
[4062] tcactgaagt cactacagat acagagaaac tggagatgac caatgtggta acctcaggtt 27900
[4063] atacacatga atctccttcc tctgtcctag ctgactcagt gacaacaaag gccacatctt 27960
[4064] caatgggtat cacctacccc acaggagata caaatgttct cacatcaacc cctgccttct 28020
[4065] ctgacaccag taggattcaa acaaagtcaa agctctcact gactcctggg ttgatggaga 28080
[4066] ccagcatctc tgaagagacc agctctgcca cagaaaaaag cactgtcctt tctagtgtgc 28140
[4067] ccactggtgc tactactgag gtctccagga cagaagccat ctcttctagc agaacatcca 28200
[4068] tcccaggccc tgctcaatcc acaatgtcat cagacacctc catggaaacc atcactagaa 28260
[4069] tttctacccc cctcacaagg aaagaatcaa cagacatggc catcaccccc aaaacaggtc 28320
[4070] cttctggggc tacctcgcag ggtaccttta ccttggactc atcaagcaca gcctcctggc 28380
[4071] caggaactca ctcagctaca actcagagat ttccacagtc agtggtgaca actcctatga 28440
[4072] gcagaggtcc tgaggatgtg tcatggccaa gcccgctgtc tgtggaaaaa aacagccctc 28500
[4073] catcttccct ggtatcttca tcttcagtaa cctcaccttc gccactttat tccacaccat 28560

[4074] ctgggagtag ccactcctct cctgtccctg tcacttctct tttcacctct atcatgatga 28620
[4075] aggccacaga catgttggat gcaagtttgg aacctgagac cacttcagct cccaatatga 28680
[4076] atatcacctc agatgagagt ctggccgctt ctaaagccac cacggagaca gaggcaattc 28740
[4077] acgtttttga aaatacagca gcgtcccatg tggaaaccac cagtgctaca gaggaactct 28800
[4078] attcctcttc cccaggcttc tcagagccaa caaaagtgat atctccagtg gtcacctctt 28860
[4079] cctctataag agacaacatg gtttccacaa caatgcctgg ctcctctggc attacaagga 28920
[4080] ttgagataga gtcaatgtca tctctgaccc ctggactgag ggagaccaga acctcccagg 28980
[4081] acatcacctc atccacagag acaagcactg tcctttacaa gatgccctct ggtgccactc 29040
[4082] ctgaggtctc caggacagaa gttatgccct ctagcagaac atccattcct ggccctgctc 29100
[4083] agtccacaat gtcactagac atctccgatg aagttgtcac caggctgtct acctctccca 29160
[4084] tcatgacaga atctgcagaa ataaccatca ccacccaaac aggttattct ctggctacat 29220
[4085] cccaggttac ccttcccttg ggcacctcaa tgacctttt gtcagggacc cactcaacta 29280
[4086] tgtctcaagg actttcacac tcagagatga ccaatcttat gagcaggggt cctgaaagtc 29340
[4087] tgtcatggac gagccctcgc tttgtggaaa caactagatc ttcctcttct ctgacatcat 29400
[4088] tacctctcac gacctcactt tctcctgtgt cctccacatt actagacagt agcccctcct 29460
[4089] ctcctcttcc tgtgacttca cttatcctcc caggcctggt gaagactaca gaagtgttgg 29520
[4090] atacaagctc agagcctaaa accagttcat ctccaaattt gagcagcacc tcagttgaaa 29580
[4091] taccggccac ctctgaaatc atgacagata cagagaaaat tcatccttcc tcaaacacag 29640
[4092] cggtggccaa agtgaggacc tccagttctg ttcatgaatc tcattcctct gtcctagctg 29700
[4093] actcagaaac aaccataacc ataccttcaa tgggtatcac ctccgctgtg gacgatacca 29760
[4094] ctgttttcac atcaaatcct gccttctctg agactaggag gattccgaca gagccaacat 29820
[4095] tctcattgac tcctggattc agggagacta gcacctctga agagaccacc tcaatcacag 29880
[4096] aaacaagtgc agtcctttat ggagtgccca ctagtgctac tactgaagtc tccatgacag 29940
[4097] aaatcatgtc ctctaataga atacacatcc ctgactctga tcagtccacg atgtctccag 30000
[4098] acatcatcac tgaagtgatc accaggctct cttcctcatc catgatgtca gaatcaacac 30060
[4099] aaatgaccat caccacccaa aaaagttctc ctggggctac agcacagagt actcttacct 30120
[4100] tggccacaac aacagccccc ttggcaagga cccactcaac tgttcctcct agatttttac 30180
[4101] actcagagat gacaactctt atgagtagga gtcctgaaaa tccatcatgg aagagctctc 30240
[4102] tctttgtgga aaaaactagc tcttcatctt ctctgttgtc cttacctgtc acgacctcac 30300
[4103] cttctgtttc ttccacatta ccgcagagta tcccttcctc ctctttttct gtgacttcac 30360
[4104] tcctcacccc aggcatggtg aagactacag acacaagcac agaacctgga accagtttat 30420
[4105] ctccaaatct gagtggcacc tcagttgaaa tactggctgc ctctgaagtc accacagata 30480
[4106] cagagaaaat tcatccttct tcaagcatgg cagtgaccaa tgtgggaacc accagttctg 30540
[4107] gacatgaact atattcctct gtttcaatcc actcggagcc atccaaggct acatacccag 30600
[4108] tgggtactcc ctcttccatg gctgaaacct ctatttccac atcaatgcct gctaattttg 30660
[4109] agaccacagg atttgaggct gagccatttt ctcatttgac ttctggattt aggaagacaa 30720
[4110] acatgtccct ggacaccagc tcagtcacac caacaaatac accttcttct cctgggtcca 30780
[4111] ctcacctttt acagagttcc aagactgatt tcacctcttc tgcaaaaaca tcatccccag 30840
[4112] actggcctcc agcctcacag tatactgaaa ttccagtgga cataatcacc ccctttaatg 30900
[4113] cttctccatc tattacggag tccactggga taacctcctt cccagaatcc aggtttacta 30960
[4114] tgtctgtaac agaaagtact catcatctga gtacagattt gctgccttca gctgagacta 31020
[4115] tttccactgg cacagtgatg ccttctctat cagaggccat gacttcattt gccaccactg 31080

[4116] gagttccacg agccatctca ggttcaggta gtccattctc taggacagag tcaggccctg 31140
[4117] gggatgctac tctgtccacc attgcagaga gcctgccttc atccactcct gtgccattct 31200
[4118] cctcttcaac cttcactacc actgattctt caaccatccc agccctccat gagataactt 31260
[4119] cctcttcagc taccccatat agagtggaca ccagtcttgg gacagagagc agcactactg 31320
[4120] aaggacgctt ggttatggtc agtactttgg acacttcaag ccaaccaggc aggacatctt 31380
[4121] catcacccat tttggatacc agaatgacag agagcgttga gctgggaaca gtgacaagtg 31440
[4122] cttatcaagt tccttcactc tcaacacggt tgacaagaac tgatggcatt atggaacaca 31500
[4123] tcacaaaaat acccaatgaa gcagcacaca gaggtaccat aagaccagtc aaaggccctc 31560
[4124] agacatccac ttcgcctgcc agtcctaaag gactacacac aggagggaca aaaagaatgg 31620
[4125] agaccaccac cacagctctg aagaccacca ccacagctct gaagaccact tccagagcca 31680
[4126] ccttgaccac cagtgtctat actcccactt tgggaacact gactcccctc aatgcatcaa 31740
[4127] tgcaaatggc cagcacaatc cccacagaaa tgatgatcac aaccccatat gttttccctg 31800
[4128] atgttccaga aacgacatcc tcattggcta ccagcctggg agcagaaacc agcacagctc 31860
[4129] ttcccaggac aaccccatct gttttcaata gagaatcaga gaccacagcc tcactggtct 31920
[4130] ctcgttctgg ggcagagaga agtccggtta ttcaaactct agatgtttct tctagtgagc 31980
[4131] cagatacaac agcttcatgg gttatccatc ctgcagagac catcccaact gtttccaaga 32040
[4132] caacccccaa ttttttccac agtgaattag acactgtatc ttccacagcc accagtcatg 32100
[4133] gggcagacgt cagctcagcc attccaacaa atatctcacc tagtgaacta gatgcactga 32160
[4134] ccccactggt cactatttcg gggacagata ctagtacaac attcccaaca ctgactaagt 32220
[4135] ccccacatga aacagagaca agaaccacat ggctcactca tcctgcagag accagctcaa 32280
[4136] ctattcccag aacaatcccc aatttttctc atcatgaatc agatgccaca ccttcaatag 32340
[4137] ccaccagtcc tggggcagaa accagttcag ctattccaat tatgactgtc tcacctggtg 32400
[4138] cagaagatct ggtgacctca caggtcacta gttctgggac agacagaaat atgactattc 32460
[4139] caactttgac tctttctcct ggtgaaccaa agacgatagc ctcattagtc acccatcctg 32520
[4140] aagcacagac aagttcggcc attccaactt caactatctc gcctgctgta tcacggttgg 32580
[4141] tgacctcaat ggtcaccagt ttggcggcaa agacaagtac aactaatcga gctctgacaa 32640
[4142] actcccctgg tgaaccagct acaacagttt cattggtcac gcatcctgca cagaccagcc 32700
[4143] caacagttcc ctggacaact tccatttttt tccatagtaa atcagacacc acaccttcaa 32760
[4144] tgaccaccag tcatggggca gaatccagtt cagctgttcc aactccaact gtttcaactg 32820
[4145] aggtaccagg agtagtgacc cctttggtca ccagttctag ggcagtgatc agtacaacta 32880
[4146] ttccaattct gactctttct cctggtgaac cagagaccac accttcaatg gccaccagtc 32940
[4147] atggggaaga agccagttct gctattccaa ctccaactgt ttcacctggg gtaccaggag 33000
[4148] tggtgacctc tctggtcact agttctaggg cagtgactag tacaactatt ccaattctga 33060
[4149] ctttttctct tggtgaacca gagaccacac cttcaatggc caccagtcat gggacagaag 33120
[4150] ctggctcagc tgttccaact gttttacctg aggtaccagg aatggtgacc tctctggttg 33180
[4151] ctagttctag ggcagtaacc agtacaactc ttccaactct gactctttct cctggtgaac 33240
[4152] cagagaccac accttcaatg gccaccagtc atggggcaga agccagctca actgttccaa 33300
[4153] ctgtttcacc tgaggtacca ggagtggtga cctctctggt cactagttct agtggagtaa 33360
[4154] acagtacaag tattccaact ctgattcttt ctcctggtga actagaaacc acaccttcaa 33420
[4155] tggccaccag tcatggggca gaagccagct cagctgttcc aactccaact gtttcacctg 33480
[4156] gggtatcagg agtggtgacc cctctggtca ctagttccag ggcagtgacc agtacaacta 33540
[4157] ttccaattct aactctttct tctagtgagc cagagaccac accttcaatg gccaccagtc 33600

[4158] atggggtaga agccagctca gctgttctaa ctgtttcacc tgaggtacca ggaatggtga 33660
[4159] cctctctggt cactagttct agagcagtaa ccagtacaac tattccaact ctgactattt 33720
[4160] cttctgatga accagagacc acaacttcat tggtcaccca ttctgaggca aagatgattt 33780
[4161] cagccattcc aactttagct gtctccccta ctgtacaagg gctggtgact tcactggtca 33840
[4162] ctagttctgg gtcagagacc agtgcgtttt caaatctaac tgttgcctca agtcaaccag 33900
[4163] agaccataga ctcatgggtc gctcatcctg ggacagaagc aagttctgtt gttccaactt 33960
[4164] tgactgtctc cactggtgag ccgtttacaa atatctcatt ggtcacccat cctgcagaga 34020
[4165] gtagctcaac tcttcccagg acaacctcaa ggttttccca cagtgaatta gacactatgc 34080
[4166] cttctacagt caccagtcct gaggcagaat ccagctcagc catttcaaca actatttcac 34140
[4167] ctggtatacc aggtgtgctg acatcactgg tcactagctc tgggagagac atcagtgcaa 34200
[4168] cttttccaac agtgcctgag tccccacatg aatcagaggc aacagcctca tgggttactc 34260
[4169] atcctgcagt caccagcaca acagttccca ggacaacccc taattattct catagtgaac 34320
[4170] cagacaccac accatcaata gccaccagtc ctggggcaga agccacttca gattttccaa 34380
[4171] caataactgt ctcacctgat gtaccagata tggtaacctc acaggtcact agttctggga 34440
[4172] cagacaccag tataactatt ccaactctga ctctttcttc tggtgagcca gagaccacaa 34500
[4173] cctcatttat cacctattct gagacacaca caagttcagc cattccaact ctccctgtct 34560
[4174] cccctggtgc atcaaagatg ctgacctcac tggtcatcag ttctgggaca gacagcacta 34620
[4175] caactttccc aacactgacg gagaccccat atgaaccaga gacaacagcc atacagctca 34680
[4176] ttcatcctgc agagaccaac acaatggttc ccaggacaac tcccaagttt tcccatagta 34740
[4177] agtcagacac cacactccca gtagccatca ccagtcctgg gccagaagcc agttcagctg 34800
[4178] tttcaacgac aactatctca cctgatatgt cagatctggt gacctcactg gtccctagtt 34860
[4179] ctgggacaga caccagtaca accttcccaa cattgagtga gaccccatat gaaccagaga 34920
[4180] ctacagccac gtggctcact catcctgcag aaaccagcac aacggtttct gggacaattc 34980
[4181] ccaacttttc ccatagggga tcagacactg caccctcaat ggtcaccagt cctggagtag 35040
[4182] acacgaggtc aggtgttcca actacaacca tcccacccag tataccaggg gtagtgacct 35100
[4183] cacaggtcac tagttctgca acagacacta gtacagctat tccaactttg actccttctc 35160
[4184] ctggtgaacc agagaccaca gcctcatcag ctacccatcc tgggacacag actggcttca 35220
[4185] ctgttccaat tcggactgtt ccctctagtg agccagatac aatggcttcc tgggtcactc 35280
[4186] atcctccaca gaccagcaca cctgtttcca gaacaacctc cagtttttcc catagtagtc 35340
[4187] cagatgccac acctgtaatg gccaccagtc ctaggacaga agccagttca gctgtactga 35400
[4188] caacaatctc acctggtgca ccagagatgg tgacttcaca gatcactagt tctggggcag 35460
[4189] caaccagtac aactgttcca actttgactc attctcctgg tatgccagag accacagcct 35520
[4190] tattgagcac ccatcccaga acagagacaa gtaaaacatt tcctgcttca actgtgtttc 35580
[4191] ctcaagtatc agagaccaca gcctcactca ccattagacc tggtgcagag actagcacag 35640
[4192] ctctcccaac tcagacaaca tcctctctct tcaccctact tgtaactgga accagcagag 35700
[4193] ttgatctaag tccaactgct tcacctggtg tttctgcaaa aacagcccca ctttccaccc 35760
[4194] atccagggac agaaaccagc acaatgattc caacttcaac tctttccctt ggtttactag 35820
[4195] agactacagg cttactggcc accagctctt cagcagagac cagcacgagt actctaactc 35880
[4196] tgactgtttc ccctgctgtc tctgggcttt ccagtgcctc tataacaact gataagcccc 35940
[4197] aaactgtgac ctcctggaac acagaaacct caccatctgt aacttcagtt ggacccccag 36000
[4198] aattttccag gactgtcaca ggcaccacta tgaccttgat accatcagag atgccaacac 36060
[4199] cacctaaaac cagtcatgga gaaggagtga gtccaaccac tatcttgaga actacaatgg 36120

[4200] ttgaagccac taatttagct accacaggtt ccagtcccac tgtggccaag acaacaacca 36180
[4201] ccttcaatac actggctgga agcctcttta ctcctctgac cacacctggg atgtccacct 36240
[4202] tggcctctga gagtgtgacc tcaagaacaa gttataacca tcggtcctgg atctccacca 36300
[4203] ccagcagtta taaccgtcgg tactggaccc ctgccaccag cactccagtg acttctacat 36360
[4204] tctccccagg gatttccaca tcctccatcc ccagctccac agcagccaca gtcccattca 36420
[4205] tggtgccatt caccctcaac ttcaccatca ccaacctgca gtacgaggag gacatgcggc 36480
[4206] accctggttc caggaagttc aacgccacag agagagaact gcagggtctg ctcaaaccct 36540
[4207] tgttcaggaa tagcagtctg gaatacctct attcaggctg cagactagcc tcactcaggc 36600
[4208] cagagaagga tagctcagcc acggcagtgg atgccatctg cacacatcgc cctgaccctg 36660
[4209] aagacctcgg actggacaga gagcgactgt actgggagct gagcaatctg acaaatggca 36720
[4210] tccaggagct gggcccctac accctggacc ggaacagtct ctatgtcaat ggtttcaccc 36780
[4211] atcgaagctc tatgcccacc accagcactc ctgggacctc cacagtggat gtgggaacct 36840
[4212] cagggactcc atcctccagc cccagcccca cgactgctgg ccctctcctg atgccgttca 36900
[4213] ccctcaactt caccatcacc aacctgcagt acgaggagga catgcgtcgc actggctcca 36960
[4214] ggaagttcaa caccatggag agtgtcctgc agggtctgct caagcccttg ttcaagaaca 37020
[4215] ccagtgttgg ccctctgtac tctggctgca gattgacctt gctcaggccc gagaaagatg 37080
[4216] gggcagccac tggagtggat gccatctgca cccaccgcct tgaccccaaa agccctggac 37140
[4217] tcaacaggga gcagctgtac tgggagctaa gcaaactgac caatgacatt gaagagctgg 37200
[4218] gcccctacac cctggacagg aacagtctct atgtcaatgg tttcacccat cagagctctg 37260
[4219] tgtccaccac cagcactcct gggacctcca cagtggatct cagaacctca gggactccat 37320
[4220] cctccctctc cagccccaca attatggctg ctggccctct cctggtacca ttcaccctca 37380
[4221] acttcaccat caccaacctg cagtatgggg aggacatggg tcaccctggc tccaggaagt 37440
[4222] tcaacaccac agagagggtc ctgcagggtc tgcttggtcc catattcaag aacaccagtg 37500
[4223] ttggccctct gtactctggc tgcagactga cctctctcag gtctgagaag gatggagcag 37560
[4224] ccactggagt ggatgccatc tgcatccatc atcttgaccc caaaagccct ggactcaaca 37620
[4225] gagagcggct gtactgggag ctgagccaac tgaccaatgg catcaaagag ctgggccctt 37680
[4226] acaccctgga caggaacagt ctctatgtca atggtttcac ccatcggacc tctgtgccca 37740
[4227] ccagcagcac tcctgggacc tccacagtgg accttggaac ctcagggact ccattctccc 37800
[4228] tcccaagccc cgcaactgct ggccctctcc tggtgctgtt caccctcaac ttcaccatca 37860
[4229] ccaacctgaa gtatgaggag gacatgcatc gccctggctc caggaagttc aacaccactg 37920
[4230] agagggtcct gcagactctg cttggtccta tgttcaagaa caccagtgtt ggccttctgt 37980
[4231] actctggctg cagactgacc ttgctcaggt ccgagaagga tggagcagcc actggagtgg 38040
[4232] atgccatctg cacccaccgt cttgacccca aaagccctgg agtggacagg gagcagctat 38100
[4233] actgggagct gagccagctg accaatggca tcaaagagct gggcccctac accctggaca 38160
[4234] ggaacagtct ctatgtcaat ggtttcaccc attggatccc tgtgcccacc agcagcactc 38220
[4235] ctgggacctc cacagtggac cttgggtcag ggactccatc ctccctcccc agccccacaa 38280
[4236] ctgctggccc tctcctggtg ccgttcaccc tcaacttcac catcaccaac ctgaagtacg 38340
[4237] aggaggacat gcattgccct ggctccagga agttcaacac cacagagaga gtcctgcaga 38400
[4238] gtctgcttgg tcccatgttc aagaacacca gtgttggccc tctgtactct ggctgcagac 38460
[4239] tgaccttgct caggtccgag aaggatggag cagccactgg agtggatgcc atctgcaccc 38520
[4240] accgtcttga ccccaaaagc cctggagtgg acagggagca gctatactgg gagctgagcc 38580
[4241] agctgaccaa tggcatcaaa gagctgggtc cctacaccct ggacagaaac agtctctatg 38640

[4242] tcaatggttt cacccatcag acctctgcgc ccaacaccag cactcctggg acctccacag 38700
[4243] tggaccttgg gacctcaggg actccatcct ccctccccag ccctacatct gctggccctc 38760
[4244] tcctggtgcc attcaccctc aacttcacca tcaccaacct gcagtacgag gaggacatgc 38820
[4245] atcacccagg ctccaggaag ttcaacacca cggagcgggt cctgcagggt ctgcttggtc 38880
[4246] ccatgttcaa gaacaccagt gtcggccttc tgtactctgg ctgcagactg accttgctca 38940
[4247] ggcctgagaa gaatggggca gccactggaa tggatgccat ctgcagccac cgtcttgacc 39000
[4248] ccaaaagccc tggactcaac agagagcagc tgtactggga gctgagccag ctgacccatg 39060
[4249] gcatcaaaga gctgggcccc tacaccctgg acaggaacag tctctatgtc aatggtttca 39120
[4250] cccatcggag ctctgtggcc cccaccagca ctcctgggac ctccacagtg gaccttggga 39180
[4251] cctcagggac tccatcctcc ctccccagcc ccacaacagc tgttcctctc ctggtgccgt 39240
[4252] tcaccctcaa ctttaccatc accaatctgc agtatgggga ggacatgcgt caccctggct 39300
[4253] ccaggaagtt caacaccaca gagagggtcc tgcagggtct gcttggtccc ttgttcaaga 39360
[4254] actccagtgt cggccctctg tactctggct gcagactgat ctctctcagg tctgagaagg 39420
[4255] atggggcagc cactggagtg gatgccatct gcacccacca ccttaaccct caaagccctg 39480
[4256] gactggacag ggagcagctg tactggcagc tgagccagat gaccaatggc atcaaagagc 39540
[4257] tgggccccta caccctggac cggaacagtc tctacgtcaa tggtttcacc catcggagct 39600
[4258] ctgggctcac caccagcact ccttggactt ccacagttga ccttggaacc tcagggactc 39660
[4259] catcccccgt ccccagcccc acaaccaccg gccctctcct ggtgccattc acactcaact 39720
[4260] tcaccatcac taacctacag tatgaggaga acatgggtca ccctggctcc aggaagttca 39780
[4261] acatcacgga gagtgttctg cagggtctgc tcaagccctt gttcaagagc accagtgttg 39840
[4262] gccctctgta ttctggctgc agactgacct tgctcaggcc tgagaaggat ggagtagcca 39900
[4263] ccagagtgga cgccatctgc acccaccgcc ctgaccccaa aatccctggg ctagacagac 39960
[4264] agcagctata ctgggagctg agccagctga cccacagcat cactgagctg ggaccctaca 40020
[4265] ccctggatag ggacagtctc tatgtcaatg gtttcaccca gcggagctct gtgcccacca 40080
[4266] ccagcactcc tgggactttc acagtacagc cggaaacctc tgagactcca tcatccctcc 40140
[4267] ctggccccac agccactggc cctgtcctgc tgccattcac cctcaatttt accatcacta 40200
[4268] acctgcagta tgaggaggac atgcgtcgcc ctggctccag gaagttcaac accacggaga 40260
[4269] gggtccttca gggtctgctt atgcccttgt tcaagaacac cagtgtcagc tctctgtact 40320
[4270] ctggttgcag actgaccttg ctcaggcctg agaaggatgg ggcagccacc agagtggatg 40380
[4271] ctgtctgcac ccatcgtcct gaccccaaaa gccctggact ggacagagag cggctgtact 40440
[4272] ggaagctgag ccagctgacc cacggcatca ctgagctggg cccctacacc ctggacaggc 40500
[4273] acagtctcta tgtcaatggt ttcacccatc agagctctat gacgaccacc agaactcctg 40560
[4274] atacctccac aatgcacctg gcaacctcga gaactccagc ctccctgtct ggacccatga 40620
[4275] ccgccagccc tctcctggtg ctattcacaa ttaacttcac catcactaac ctgcggtatg 40680
[4276] aggagaacat gcatcaccct ggctctagaa agtttaacac cacggagaga gtccttcagg 40740
[4277] gtctgctcag gcctgtgttc aagaacacca gtgttggccc tctgtactct ggctgcagac 40800
[4278] tgaccttgct caggcccaag aaggatgggg cagccaccaa agtggatgcc atctgcacct 40860
[4279] accgccctga tcccaaaagc cctggactgg acagagagca gctatactgg gagctgagcc 40920
[4280] agctgaccca cagcatcact gagctgggcc cctacaccct ggacagggac agtctctatg 40980
[4281] tcaatggttt cacacagcgg agctctgtgc ccaccactag cattcctggg acccccacag 41040
[4282] tggacctggg aacatctggg actccagttt ctaaacctgg tccctcggct gccagccctc 41100
[4283] tcctggtgct attcactctc aacttcacca tcaccaacct gcggtatgag gagaacatgc 41160

[4284] agcaccctgg ctccaggaag ttcaacacca cggagagggt ccttcagggc ctgctcaggt 41220
[4285] ccctgttcaa gagcaccagt gttggccctc tgtactctgg ctgcagactg actttgctca 41280
[4286] ggcctgaaaa ggatgggaca gccactggag tggatgccat ctgcacccac caccctgacc 41340
[4287] ccaaaagccc taggctggac agagagcagc tgtattggga gctgagccag ctgacccaca 41400
[4288] atatcactga gctgggcccc tatgccctgg acaacgacag cctctttgtc aatggtttca 41460
[4289] ctcatcggag ctctgtgtcc accaccagca ctcctgggac ccccacagtg tatctgggag 41520
[4290] catctaagac tccagcctcg atatttggcc cttcagctgc cagccatctc ctgatactat 41580
[4291] tcaccctcaa cttcaccatc actaacctgc ggtatgagga gaacatgtgg cctggctcca 41640
[4292] ggaagttcaa cactacagag agggtccttc agggcctgct aaggcccttg ttcaagaaca 41700
[4293] ccagtgttgg ccctctgtac tctggctgca ggctgacctt gctcaggcca gagaaagatg 41760
[4294] gggaagccac cggagtggat gccatctgca cccaccgccc tgaccccaca ggccctgggc 41820
[4295] tggacagaga gcagctgtat ttggagctga gccagctgac ccacagcatc actgagctgg 41880
[4296] gcccctacac actggacagg gacagtctct atgtcaatgg tttcacccat cggagctctg 41940
[4297] tacccaccac cagcaccggg gtggtcagcg aggagccatt cacactgaac ttcaccatca 42000
[4298] acaacctgcg ctacatggcg gacatgggcc aacccggctc cctcaagttc aacatcacag 42060
[4299] acaacgtcat gcagcacctg ctcagtcctt tgttccagag gagcagcctg ggtgcacggt 42120
[4300] acacaggctg cagggtcatc gcactaaggt ctgtgaagaa cggtgctgag acacgggtgg 42180
[4301] acctcctctg cacctacctg cagcccctca gcggcccagg tctgcctatc aagcaggtgt 42240
[4302] tccatgagct gagccagcag acccatggca tcacccggct gggcccctac tctctggaca 42300
[4303] aagacagcct ctaccttaac ggttacaatg aacctggtcc agatgagcct cctacaactc 42360
[4304] ccaagccagc caccacattc ctgcctcctc tgtcagaagc cacaacagcc atggggtacc 42420
[4305] acctgaagac cctcacactc aacttcacca tctccaatct ccagtattca ccagatatgg 42480
[4306] gcaagggctc agctacattc aactccaccg agggggtcct tcagcacctg ctcagaccct 42540
[4307] tgttccagaa gagcagcatg ggccccttct acttgggttg ccaactgatc tccctcaggc 42600
[4308] ctgagaagga tggggcagcc actggtgtgg acaccacctg cacctaccac cctgaccctg 42660
[4309] tgggccccgg gctggacata cagcagcttt actgggagct gagtcagctg acccatggtg 42720
[4310] tcacccaact gggcttctat gtcctggaca gggatagcct cttcatcaat ggctatgcac 42780
[4311] cccagaattt atcaatccgg ggcgagtacc agataaattt ccacattgtc aactggaacc 42840
[4312] tcagtaatcc agaccccaca tcctcagagt acatcaccct gctgagggac atccaggaca 42900
[4313] aggtcaccac actctacaaa ggcagtcaac tacatgacac attccgcttc tgcctggtca 42960
[4314] ccaacttgac gatggactcc gtgttggtca ctgtcaaggc attgttctcc tccaatttgg 43020
[4315] accccagcct ggtggagcaa gtctttctag ataagaccct gaatgcctca ttccattggc 43080
[4316] tgggctccac ctaccagttg gtggacatcc atgtgacaga aatggagtca tcagtttatc 43140
[4317] aaccaacaag cagctccagc acccagcact tctacctgaa tttcaccatc accaacctac 43200
[4318] catattccca ggacaaagcc cagccaggca ccaccaatta ccagaggaac aaaaggaata 43260
[4319] ttgaggatgc gctcaaccaa ctcttccgaa acagcagcat caagagttat ttttctgact 43320
[4320] gtcaagtttc aacattcagg tctgtcccca acaggcacca caccggggtg gactccctgt 43380
[4321] gtaacttctc gccactggct cggagagtag acagagttgc catctatgag gaatttctgc 43440
[4322] ggatgacccg gaatggtacc cagctgcaga acttcaccct ggacaggagc agtgtccttg 43500
[4323] tggatgggta ttctcccaac agaaatgagc ccttaactgg gaattctgac cttccttct 43560
[4324] gggctgtcat cctcatcggc ttggcaggac tcctgggagt catcacatgc ctgatctgcg 43620
[4325] gtgtcctggt gaccacccgc cggcggaaga aggaaggaga atacaacgtc cagcaacagt 43680

[4326] gcccaggcta ctaccagtca cacctagacc tggaggatct gcaatgactg gaacttgccg 43740
[4327] gtgcctgggg tgcctttccc ccagccaggg tccaaagaag cttggctggg gcagaaataa 43800
[4328] accatattgg tcgga 43815
[4329] <210> 138
[4330] <211> 518
[4331] <212> PRT
[4332] <213> 人工序列
[4333] <220>
[4334] <223> 双特异性
[4335] <400> 138
[4336] Glu Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Ala Gly
[4337] 1 5 10 15
[4338] Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
[4339] 20 25 30
[4340] Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[4341] 35 40 45
[4342] Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
[4343] 50 55 60
[4344] Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser
[4345] 65 70 75 80
[4346] Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Phe Gly
[4347] 85 90 95
[4348] Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
[4349] 100 105 110
[4350] Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
[4351] 115 120 125
[4352] Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
[4353] 130 135 140
[4354] Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
[4355] 145 150 155 160
[4356] Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
[4357] 165 170 175
[4358] Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
[4359] 180 185 190
[4360] Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
[4361] 195 200 205
[4362] Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
[4363] 210 215 220
[4364] Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[4365] 225 230 235 240
[4366] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[4367] 245 250 255

[4368] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
[4369] 260 265 270
[4370] Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val
[4371] 275 280 285
[4372] Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
[4373] 290 295 300
[4374] Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
[4375] 305 310 315 320
[4376] Cys Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn
[4377] 325 330 335
[4378] Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
[4379] 340 345 350
[4380] Lys Asn Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
[4381] 355 360 365
[4382] Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp
[4383] 370 375 380
[4384] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
[4385] 385 390 395 400
[4386] Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
[4387] 405 410 415
[4388] Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
[4389] 420 425 430
[4390] Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln
[4391] 435 440 445
[4392] Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu
[4393] 450 455 460
[4394] Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
[4395] 465 470 475 480
[4396] Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr
[4397] 485 490 495
[4398] Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Cys Gly Thr
[4399] 500 505 510
[4400] Lys Leu Gln Ile Thr Arg
[4401] 515
[4402] <210> 139
[4403] <211> 114
[4404] <212> PRT
[4405] <213> 人工序列
[4406] <220>
[4407] <223> MUC16c114-N3
[4408] <400> 139
[4409] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu

[4410] 1 5 10 15
[4411] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Ala Phe Thr
[4412] 20 25 30
[4413] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[4414] 35 40 45
[4415] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu
[4416] 50 55 60
[4417] Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[4418] 65 70 75 80
[4419] Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val
[4420] 85 90 95
[4421] Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp
[4422] 100 105 110
[4423] Leu Gln
[4424] <210> 140
[4425] <211> 366
[4426] <212> DNA
[4427] <213> 人工序列
[4428] <220>
[4429] <223> 10C6 VH核酸
[4430] <400> 140
[4431] caggtaactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60
[4432] acttgttctt tctctgggtt ttcactgaac actcttggta tgggtgtagg ctggattcgg 120
[4433] cagccttcag ggaagggtct ggagtggctg gcacacattt ggtgggatga tgataagtac 180
[4434] tataacccag ccctgaagag tcggctcaca atctccaagg attcctccaa aaaccaggtt 240
[4435] ttcctcaaga tcgccaatgt ggacactgca gatattgcca catactactg ttctcgaatc 300
[4436] gggacagctc aggctacgga tgctctggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc 360
[4437] tcctca 366
[4438] <210> 141
[4439] <211> 330
[4440] <212> DNA
[4441] <213> 人工序列
[4442] <220>
[4443] <223> 10C6 VL核酸
[4444] <400> 141
[4445] gacattgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc 60
[4446] atctcataca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct atagttatat gcactggaac 120
[4447] caacagaaac caggacagcc acccagactc ctcatctatc ttgtatccaa cctagaatct 180
[4448] ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
[4449] cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc acattaggga gcttacacgt 300
[4450] tcggaggggg gaccaagctg gaaataaaac 330
[4451] <210> 142

[4452] <211> 369
[4453] <212> DNA
[4454] <213> 人工序列
[4455] <220>
[4456] <223> 7B12 VH核酸
[4457] <400> 142
[4458] caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60
[4459] acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc actgttggta tgggtgtagg ctggagtcgt 120
[4460] cagccctcag ggaagggtct ggagtggctg gcacacatct ggtgggatga tgaagataag 180
[4461] tattataatc cagccctgaa gagtcggctc acaatctcca aggatacctc caaaaaccag 240
[4462] gtcttcctca agatcgccaa tgtggacact gcagatagtg ccacatacta ctgtactcga 300
[4463] atcgggacag ctcaggctac ggatgctttg gactactggg gtcaaggaac ctcagtcacc 360
[4464] gtctcctca 369
[4465] <210> 143
[4466] <211> 336
[4467] <212> DNA
[4468] <213> 人工序列
[4469] <220>
[4470] <223> 7B12 VL核酸
[4471] <400> 143
[4472] gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtatctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60
[4473] atctcctgca ggtctagtaa gagtcttcgg aaaagtaatg gcaacactta cttgtattgg 120
[4474] ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag cgcctgatat attatatgtc caaccttgcc 180
[4475] tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcaga gggtcaggaa ctgatttcac actgagaatc 240
[4476] agtagagtgg aggctgaaga tgtgggtgtt tattactgta tgcaaagtct agaatatcct 300
[4477] ctcacgttcg gaggggggac taagctaaaa ataaaa 336
[4478] <210> 144
[4479] <211> 366
[4480] <212> DNA
[4481] <213> 人工序列
[4482] <220>
[4483] <223> 19C11 VH核酸
[4484] <400> 144
[4485] caggttaatc tgaaagagtc tggccctggg aaattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60
[4486] acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc actcttggta tgggtgtagg ttggattcgt 120
[4487] cagtcttcag ggaagggtct ggagtggctg gcacacattt ggtgggatga tgataagtac 180
[4488] tataacccag ccctgaagag tcggctcaca atctccaggg ctacctccaa aaaccaggtt 240
[4489] ttcctcaaga tcgtcaatgt gggcactgca gatactgcca catattactg tgctcgaatc 300
[4490] gggacagctc aggctacgga tgctttggac tattggggtc agggaacctc agtcaccgtt 360
[4491] tcctca 366
[4492] <210> 145
[4493] <211> 336

[4494] <212> DNA
[4495] <213> 人工序列
[4496] <220>
[4497] <223> 19C11 VL核酸
[4498] <400> 145
[4499] gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct atccctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60
[4500] atctcctgca ggtctagtaa gagtcttctg catagtaatg gcaacactta tttgtattgg 120
[4501] ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag cgcctgatat attatatgtc caaccttgcc 180
[4502] tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcaga gggtcaggaa ctgatttcac actgaaaatc 240
[4503] agtagagtgg aggctgggga tgtgggtgtt tattactgta tgcagggtct agagcatcct 300
[4504] ctcacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336
[4505] <210> 146
[4506] <211> 366
[4507] <212> DNA
[4508] <213> 人工序列
[4509] <220>
[4510] <223> 16C5 VH核酸
[4511] <400> 146
[4512] caggttactc tgaaagagtc tggccctgga atattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60
[4513] acttgttctt tctctgggtt ttcactgaac actcttggta tgggtgtagg ctggattcgt 120
[4514] cagccttcag ggaagggtct ggagtggctg gcacacattt ggtgggatga tgataagtac 180
[4515] tattacccag ccctgaagag tcggctcaca atctccaggg atacctccaa aaaccaggta 240
[4516] ttcctcaaga tcgccaatgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcgaatc 300
[4517] gggacagctc aggctacgga tgctctggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc 360
[4518] tcctca 366
[4519] <210> 147
[4520] <211> 327
[4521] <212> DNA
[4522] <213> 人工序列
[4523] <220>
[4524] <223> 16C5 VL核酸
[4525] <400> 147
[4526] gagctcgata tgacccagac tccaccctcc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcagg 60
[4527] attaggtgcc tggccagtga ggacatttat agtggtatat cctggtatca acagaagcca 120
[4528] gggaaacctc ctacactcct gatctatggt gcatccaatt tagaatctgg ggtcccacca 180
[4529] cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat tacaccctca ccattggcgg cgtgcaggct 240
[4530] gaagatgctg ccacctacta ctgtctaggc ggttatagtt atagtagtac cttgactttt 300
[4531] ggagctggca ccaatgtgga aatcaaa 327
[4532] <210> 148
[4533] <211> 369
[4534] <212> DNA
[4535] <213> 人工序列

[4536] <220>
[4537] <223> 18C6 VH核酸
[4538] <400> 148
[4539] caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60
[4540] acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc actgttggta tgggtgtagg ctggagtcgt 120
[4541] cagccttcag ggaagggtct ggagtggctg gcacacattt ggtgggatga tgaggataag 180
[4542] tattataacc cagccctgaa gagtcggctc acaatctcca aggatacctc caaaaaccag 240
[4543] gtattcctca agatcgccaa tgtggacact gcagatactg ccacatacta ctgtactcga 300
[4544] atcgggacag ctcaggctac ggatgctttg gactactggg gtcaaggaac ctcagtcacc 360
[4545] gtctcctca 369
[4546] <210> 149
[4547] <211> 336
[4548] <212> DNA
[4549] <213> 人工序列
[4550] <220>
[4551] <223> 18C6 VL核酸
[4552] <400> 149
[4553] gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcctggaga gtcagtatcc 60
[4554] atctcctgca ggtctagtaa gagtcttctg catagtaatg gcaacactta cttgtattgg 120
[4555] ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag cgcctgatat attatatgtc caaccttgcc 180
[4556] tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcaga gggtcaggaa ctgatttcac actgagaatc 240
[4557] agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaaagtct agaatatcct 300
[4558] ctcacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336
[4559] <210> 150
[4560] <211> 14447
[4561] <212> PRT
[4562] <213> 智人
[4563] <220>
[4564] <223> 成熟人MUC16氨基酸序列
[4565] <400> 150
[4566] Asp Lys Thr Leu Ala Ser Pro Thr Ser Ser Val Val Gly Arg Thr Thr
[4567] 1 5 10 15
[4568] Gln Ser Leu Gly Val Met Ser Ser Ala Leu Pro Glu Ser Thr Ser Arg
[4569] 20 25 30
[4570] Gly Met Thr His Ser Glu Gln Arg Thr Ser Pro Ser Leu Ser Pro Gln
[4571] 35 40 45
[4572] Val Asn Gly Thr Pro Ser Arg Asn Tyr Pro Ala Thr Ser Met Val Ser
[4573] 50 55 60
[4574] Gly Leu Ser Ser Pro Arg Thr Arg Thr Ser Ser Thr Glu Gly Asn Phe
[4575] 65 70 75 80
[4576] Thr Lys Glu Ala Ser Thr Tyr Thr Leu Thr Val Glu Thr Thr Ser Gly
[4577] 85 90 95

[4578] Pro Val Thr Glu Lys Tyr Thr Val Pro Thr Glu Thr Ser Thr Thr Glu
[4579] 100 105 110
[4580] Gly Asp Ser Thr Glu Thr Pro Trp Asp Thr Arg Tyr Ile Pro Val Lys
[4581] 115 120 125
[4582] Ile Thr Ser Pro Met Lys Thr Phe Ala Asp Ser Thr Ala Ser Lys Glu
[4583] 130 135 140
[4584] Asn Ala Pro Val Ser Met Thr Pro Ala Glu Thr Thr Val Thr Asp Ser
[4585] 145 150 155 160
[4586] His Thr Pro Gly Arg Thr Asn Pro Ser Phe Gly Thr Leu Tyr Ser Ser
[4587] 165 170 175
[4588] Phe Leu Asp Leu Ser Pro Lys Gly Thr Pro Asn Ser Arg Gly Glu Thr
[4589] 180 185 190
[4590] Ser Leu Glu Leu Ile Leu Ser Thr Thr Gly Tyr Pro Phe Ser Ser Pro
[4591] 195 200 205
[4592] Glu Pro Gly Ser Ala Gly His Ser Arg Ile Ser Thr Ser Ala Pro Leu
[4593] 210 215 220
[4594] Ser Ser Ser Ala Ser Val Leu Asp Asn Lys Ile Ser Glu Thr Ser Ile
[4595] 225 230 235 240
[4596] Phe Ser Gly Gln Ser Leu Thr Ser Pro Leu Ser Pro Gly Val Pro Glu
[4597] 245 250 255
[4598] Ala Arg Ala Ser Thr Met Pro Asn Ser Ala Ile Pro Phe Ser Met Thr
[4599] 260 265 270
[4600] Leu Ser Asn Ala Glu Thr Ser Ala Glu Arg Val Arg Ser Thr Ile Ser
[4601] 275 280 285
[4602] Ser Leu Gly Thr Pro Ser Ile Ser Thr Lys Gln Thr Ala Glu Thr Ile
[4603] 290 295 300
[4604] Leu Thr Phe His Ala Phe Ala Glu Thr Met Asp Ile Pro Ser Thr His
[4605] 305 310 315 320
[4606] Ile Ala Lys Thr Leu Ala Ser Glu Trp Leu Gly Ser Pro Gly Thr Leu
[4607] 325 330 335
[4608] Gly Gly Thr Ser Thr Ser Ala Leu Thr Thr Thr Ser Pro Ser Thr Thr
[4609] 340 345 350
[4610] Leu Val Ser Glu Glu Thr Asn Thr His His Ser Thr Ser Gly Lys Glu
[4611] 355 360 365
[4612] Thr Glu Gly Thr Leu Asn Thr Ser Met Thr Pro Leu Glu Thr Ser Ala
[4613] 370 375 380
[4614] Pro Gly Glu Glu Ser Glu Met Thr Ala Thr Leu Val Pro Thr Leu Gly
[4615] 385 390 395 400
[4616] Phe Thr Thr Leu Asp Ser Lys Ile Arg Ser Pro Ser Gln Val Ser Ser
[4617] 405 410 415
[4618] Ser His Pro Thr Arg Glu Leu Arg Thr Thr Gly Ser Thr Ser Gly Arg
[4619] 420 425 430

[4620] Gln Ser Ser Ser Thr Ala Ala His Gly Ser Ser Asp Ile Leu Arg Ala
[4621] 435 440 445
[4622] Thr Thr Ser Ser Thr Ser Lys Ala Ser Ser Trp Thr Ser Glu Ser Thr
[4623] 450 455 460
[4624] Ala Gln Gln Phe Ser Glu Pro Gln His Thr Gln Trp Val Glu Thr Ser
[4625] 465 470 475 480
[4626] Pro Ser Met Lys Thr Glu Arg Pro Pro Ala Ser Thr Ser Val Ala Ala
[4627] 485 490 495
[4628] Pro Ile Thr Thr Ser Val Pro Ser Val Val Ser Gly Phe Thr Thr Leu
[4629] 500 505 510
[4630] Lys Thr Ser Ser Thr Lys Gly Ile Trp Leu Glu Glu Thr Ser Ala Asp
[4631] 515 520 525
[4632] Thr Leu Ile Gly Glu Ser Thr Ala Gly Pro Thr Thr His Gln Phe Ala
[4633] 530 535 540
[4634] Val Pro Thr Gly Ile Ser Met Thr Gly Gly Ser Ser Thr Arg Gly Ser
[4635] 545 550 555 560
[4636] Gln Gly Thr Thr His Leu Leu Thr Arg Ala Thr Ala Ser Ser Glu Thr
[4637] 565 570 575
[4638] Ser Ala Asp Leu Thr Leu Ala Thr Asn Gly Val Pro Val Ser Val Ser
[4639] 580 585 590
[4640] Pro Ala Val Ser Lys Thr Ala Ala Gly Ser Ser Pro Pro Gly Gly Thr
[4641] 595 600 605
[4642] Lys Pro Ser Tyr Thr Met Val Ser Ser Val Ile Pro Glu Thr Ser Ser
[4643] 610 615 620
[4644] Leu Gln Ser Ser Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ser Leu Gly Leu Thr Pro
[4645] 625 630 635 640
[4646] Leu Asn Thr Arg His Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Asp Ser Ala Gly
[4647] 645 650 655
[4648] His Thr Lys Ile Ser Thr Ser Ile Pro Leu Leu Ser Ser Ala Ser Val
[4649] 660 665 670
[4650] Leu Glu Asp Lys Val Ser Ala Thr Ser Thr Phe Ser His His Lys Ala
[4651] 675 680 685
[4652] Thr Ser Ser Ile Thr Thr Gly Thr Pro Glu Ile Ser Thr Lys Thr Lys
[4653] 690 695 700
[4654] Pro Ser Ser Ala Val Leu Ser Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala Ala Thr
[4655] 705 710 715 720
[4656] Ser Pro Glu Arg Val Arg Asn Ala Thr Ser Pro Leu Thr His Pro Ser
[4657] 725 730 735
[4658] Pro Ser Gly Glu Glu Thr Ala Gly Ser Val Leu Thr Leu Ser Thr Ser
[4659] 740 745 750
[4660] Ala Glu Thr Thr Asp Ser Pro Asn Ile His Pro Thr Gly Thr Leu Thr
[4661] 755 760 765

[4662] Ser Glu Ser Ser Glu Ser Pro Ser Thr Leu Ser Leu Pro Ser Val Ser
[4663] 770 775 780
[4664] Gly Val Lys Thr Thr Phe Ser Ser Ser Thr Pro Ser Thr His Leu Phe
[4665] 785 790 795 800
[4666] Thr Ser Gly Glu Glu Thr Glu Glu Thr Ser Asn Pro Ser Val Ser Gln
[4667] 805 810 815
[4668] Pro Glu Thr Ser Val Ser Arg Val Arg Thr Thr Leu Ala Ser Thr Ser
[4669] 820 825 830
[4670] Val Pro Thr Pro Val Phe Pro Thr Met Asp Thr Trp Pro Thr Arg Ser
[4671] 835 840 845
[4672] Ala Gln Phe Ser Ser Ser His Leu Val Ser Glu Leu Arg Ala Thr Ser
[4673] 850 855 860
[4674] Ser Thr Ser Val Thr Asn Ser Thr Gly Ser Ala Leu Pro Lys Ile Ser
[4675] 865 870 875 880
[4676] His Leu Thr Gly Thr Ala Thr Met Ser Gln Thr Asn Arg Asp Thr Phe
[4677] 885 890 895
[4678] Asn Asp Ser Ala Ala Pro Gln Ser Thr Thr Trp Pro Glu Thr Ser Pro
[4679] 900 905 910
[4680] Arg Phe Lys Thr Gly Leu Pro Ser Ala Thr Thr Thr Val Ser Thr Ser
[4681] 915 920 925
[4682] Ala Thr Ser Leu Ser Ala Thr Val Met Val Ser Lys Phe Thr Ser Pro
[4683] 930 935 940
[4684] Ala Thr Ser Ser Met Glu Ala Thr Ser Ile Arg Glu Pro Ser Thr Thr
[4685] 945 950 955 960
[4686] Ile Leu Thr Thr Glu Thr Thr Asn Gly Pro Gly Ser Met Ala Val Ala
[4687] 965 970 975
[4688] Ser Thr Asn Ile Pro Ile Gly Lys Gly Tyr Ile Thr Glu Gly Arg Leu
[4689] 980 985 990
[4690] Asp Thr Ser His Leu Pro Ile Gly Thr Thr Ala Ser Ser Glu Thr Ser
[4691] 995 1000 1005
[4692] Met Asp Phe Thr Met Ala Lys Glu Ser Val Ser Met Ser Val Ser
[4693] 1010 1015 1020
[4694] Pro Ser Gln Ser Met Asp Ala Ala Gly Ser Ser Thr Pro Gly Arg
[4695] 1025 1030 1035
[4696] Thr Ser Gln Phe Val Asp Thr Phe Ser Asp Asp Val Tyr His Leu
[4697] 1040 1045 1050
[4698] Thr Ser Arg Glu Ile Thr Ile Pro Arg Asp Gly Thr Ser Ser Ala
[4699] 1055 1060 1065
[4700] Leu Thr Pro Gln Met Thr Ala Thr His Pro Pro Ser Pro Asp Pro
[4701] 1070 1075 1080
[4702] Gly Ser Ala Arg Ser Thr Trp Leu Gly Ile Leu Ser Ser Ser Pro
[4703] 1085 1090 1095

[4704] Ser Ser Pro Thr Pro Lys Val Thr Met Ser Ser Thr Phe Ser Thr
[4705] 1100 1105 1110
[4706] Gln Arg Val Thr Thr Ser Met Ile Met Asp Thr Val Glu Thr Ser
[4707] 1115 1120 1125
[4708] Arg Trp Asn Met Pro Asn Leu Pro Ser Thr Thr Ser Leu Thr Pro
[4709] 1130 1135 1140
[4710] Ser Asn Ile Pro Thr Ser Gly Ala Ile Gly Lys Ser Thr Leu Val
[4711] 1145 1150 1155
[4712] Pro Leu Asp Thr Pro Ser Pro Ala Thr Ser Leu Glu Ala Ser Glu
[4713] 1160 1165 1170
[4714] Gly Gly Leu Pro Thr Leu Ser Thr Tyr Pro Glu Ser Thr Asn Thr
[4715] 1175 1180 1185
[4716] Pro Ser Ile His Leu Gly Ala His Ala Ser Ser Glu Ser Pro Ser
[4717] 1190 1195 1200
[4718] Thr Ile Lys Leu Thr Met Ala Ser Val Val Lys Pro Gly Ser Tyr
[4719] 1205 1210 1215
[4720] Thr Pro Leu Thr Phe Pro Ser Ile Glu Thr His Ile His Val Ser
[4721] 1220 1225 1230
[4722] Thr Ala Arg Met Ala Tyr Ser Ser Gly Ser Ser Pro Glu Met Thr
[4723] 1235 1240 1245
[4724] Ala Pro Gly Glu Thr Asn Thr Gly Ser Thr Trp Asp Pro Thr Thr
[4725] 1250 1255 1260
[4726] Tyr Ile Thr Thr Thr Asp Pro Lys Asp Thr Ser Ser Ala Gln Val
[4727] 1265 1270 1275
[4728] Ser Thr Pro His Ser Val Arg Thr Leu Arg Thr Thr Glu Asn His
[4729] 1280 1285 1290
[4730] Pro Lys Thr Glu Ser Ala Thr Pro Ala Ala Tyr Ser Gly Ser Pro
[4731] 1295 1300 1305
[4732] Lys Ile Ser Ser Ser Pro Asn Leu Thr Ser Pro Ala Thr Lys Ala
[4733] 1310 1315 1320
[4734] Trp Thr Ile Thr Asp Thr Thr Glu His Ser Thr Gln Leu His Tyr
[4735] 1325 1330 1335
[4736] Thr Lys Leu Ala Glu Lys Ser Ser Gly Phe Glu Thr Gln Ser Ala
[4737] 1340 1345 1350
[4738] Pro Gly Pro Val Ser Val Val Ile Pro Thr Ser Pro Thr Ile Gly
[4739] 1355 1360 1365
[4740] Ser Ser Thr Leu Glu Leu Thr Ser Asp Val Pro Gly Glu Pro Leu
[4741] 1370 1375 1380
[4742] Val Leu Ala Pro Ser Glu Gln Thr Thr Ile Thr Leu Pro Met Ala
[4743] 1385 1390 1395
[4744] Thr Trp Leu Ser Thr Ser Leu Thr Glu Glu Met Ala Ser Thr Asp
[4745] 1400 1405 1410

[4746] Leu Asp Ile Ser Ser Pro Ser Ser Pro Met Ser Thr Phe Ala Ile
[4747] 1415 1420 1425
[4748] Phe Pro Pro Met Ser Thr Pro Ser His Glu Leu Ser Lys Ser Glu
[4749] 1430 1435 1440
[4750] Ala Asp Thr Ser Ala Ile Arg Asn Thr Asp Ser Thr Thr Leu Asp
[4751] 1445 1450 1455
[4752] Gln His Leu Gly Ile Arg Ser Leu Gly Arg Thr Gly Asp Leu Thr
[4753] 1460 1465 1470
[4754] Thr Val Pro Ile Thr Pro Leu Thr Thr Thr Trp Thr Ser Val Ile
[4755] 1475 1480 1485
[4756] Glu His Ser Thr Gln Ala Gln Asp Thr Leu Ser Ala Thr Met Ser
[4757] 1490 1495 1500
[4758] Pro Thr His Val Thr Gln Ser Leu Lys Asp Gln Thr Ser Ile Pro
[4759] 1505 1510 1515
[4760] Ala Ser Ala Ser Pro Ser His Leu Thr Glu Val Tyr Pro Glu Leu
[4761] 1520 1525 1530
[4762] Gly Thr Gln Gly Arg Ser Ser Ser Glu Ala Thr Thr Phe Trp Lys
[4763] 1535 1540 1545
[4764] Pro Ser Thr Asp Thr Leu Ser Arg Glu Ile Glu Thr Gly Pro Thr
[4765] 1550 1555 1560
[4766] Asn Ile Gln Ser Thr Pro Pro Met Asp Asn Thr Thr Thr Gly Ser
[4767] 1565 1570 1575
[4768] Ser Ser Ser Gly Val Thr Leu Gly Ile Ala His Leu Pro Ile Gly
[4769] 1580 1585 1590
[4770] Thr Ser Ser Pro Ala Glu Thr Ser Thr Asn Met Ala Leu Glu Arg
[4771] 1595 1600 1605
[4772] Arg Ser Ser Thr Ala Thr Val Ser Met Ala Gly Thr Met Gly Leu
[4773] 1610 1615 1620
[4774] Leu Val Thr Ser Ala Pro Gly Arg Ser Ile Ser Gln Ser Leu Gly
[4775] 1625 1630 1635
[4776] Arg Val Ser Ser Val Leu Ser Glu Ser Thr Thr Glu Gly Val Thr
[4777] 1640 1645 1650
[4778] Asp Ser Ser Lys Gly Ser Ser Pro Arg Leu Asn Thr Gln Gly Asn
[4779] 1655 1660 1665
[4780] Thr Ala Leu Ser Ser Ser Leu Glu Pro Ser Tyr Ala Glu Gly Ser
[4781] 1670 1675 1680
[4782] Gln Met Ser Thr Ser Ile Pro Leu Thr Ser Ser Pro Thr Thr Pro
[4783] 1685 1690 1695
[4784] Asp Val Glu Phe Ile Gly Gly Ser Thr Phe Trp Thr Lys Glu Val
[4785] 1700 1705 1710
[4786] Thr Thr Val Met Thr Ser Asp Ile Ser Lys Ser Ser Ala Arg Thr
[4787] 1715 1720 1725

[4788] Glu Ser Ser Ser Ala Thr Leu Met Ser Thr Ala Leu Gly Ser Thr
[4789] 1730 1735 1740
[4790] Glu Asn Thr Gly Lys Glu Lys Leu Arg Thr Ala Ser Met Asp Leu
[4791] 1745 1750 1755
[4792] Pro Ser Pro Thr Pro Ser Met Glu Val Thr Pro Trp Ile Ser Leu
[4793] 1760 1765 1770
[4794] Thr Leu Ser Asn Ala Pro Asn Thr Thr Asp Ser Leu Asp Leu Ser
[4795] 1775 1780 1785
[4796] His Gly Val His Thr Ser Ser Ala Gly Thr Leu Ala Thr Asp Arg
[4797] 1790 1795 1800
[4798] Ser Leu Asn Thr Gly Val Thr Arg Ala Ser Arg Leu Glu Asn Gly
[4799] 1805 1810 1815
[4800] Ser Asp Thr Ser Ser Lys Ser Leu Ser Met Gly Asn Ser Thr His
[4801] 1820 1825 1830
[4802] Thr Ser Met Thr Tyr Thr Glu Lys Ser Glu Val Ser Ser Ser Ile
[4803] 1835 1840 1845
[4804] His Pro Arg Pro Glu Thr Ser Ala Pro Gly Ala Glu Thr Thr Leu
[4805] 1850 1855 1860
[4806] Thr Ser Thr Pro Gly Asn Arg Ala Ile Ser Leu Thr Leu Pro Phe
[4807] 1865 1870 1875
[4808] Ser Ser Ile Pro Val Glu Glu Val Ile Ser Thr Gly Ile Thr Ser
[4809] 1880 1885 1890
[4810] Gly Pro Asp Ile Asn Ser Ala Pro Met Thr His Ser Pro Ile Thr
[4811] 1895 1900 1905
[4812] Pro Pro Thr Ile Val Trp Thr Ser Thr Gly Thr Ile Glu Gln Ser
[4813] 1910 1915 1920
[4814] Thr Gln Pro Leu His Ala Val Ser Ser Glu Lys Val Ser Val Gln
[4815] 1925 1930 1935
[4816] Thr Gln Ser Thr Pro Tyr Val Asn Ser Val Ala Val Ser Ala Ser
[4817] 1940 1945 1950
[4818] Pro Thr His Glu Asn Ser Val Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ser Ser
[4819] 1955 1960 1965
[4820] Pro Tyr Ser Ser Ala Ser Leu Glu Ser Leu Asp Ser Thr Ile Ser
[4821] 1970 1975 1980
[4822] Arg Arg Asn Ala Ile Thr Ser Trp Leu Trp Asp Leu Thr Thr Ser
[4823] 1985 1990 1995
[4824] Leu Pro Thr Thr Thr Trp Pro Ser Thr Ser Leu Ser Glu Ala Leu
[4825] 2000 2005 2010
[4826] Ser Ser Gly His Ser Gly Val Ser Asn Pro Ser Ser Thr Thr Thr
[4827] 2015 2020 2025
[4828] Glu Phe Pro Leu Phe Ser Ala Ala Ser Thr Ser Ala Ala Lys Gln
[4829] 2030 2035 2040

[4830] Arg Asn Pro Glu Thr Glu Thr His Gly Pro Gln Asn Thr Ala Ala
[4831] 2045 2050 2055
[4832] Ser Thr Leu Asn Thr Asp Ala Ser Ser Val Thr Gly Leu Ser Glu
[4833] 2060 2065 2070
[4834] Thr Pro Val Gly Ala Ser Ile Ser Ser Glu Val Pro Leu Pro Met
[4835] 2075 2080 2085
[4836] Ala Ile Thr Ser Arg Ser Asp Val Ser Gly Leu Thr Ser Glu Ser
[4837] 2090 2095 2100
[4838] Thr Ala Asn Pro Ser Leu Gly Thr Ala Ser Ser Ala Gly Thr Lys
[4839] 2105 2110 2115
[4840] Leu Thr Arg Thr Ile Ser Leu Pro Thr Ser Glu Ser Leu Val Ser
[4841] 2120 2125 2130
[4842] Phe Arg Met Asn Lys Asp Pro Trp Thr Val Ser Ile Pro Leu Gly
[4843] 2135 2140 2145
[4844] Ser His Pro Thr Thr Asn Thr Glu Thr Ser Ile Pro Val Asn Ser
[4845] 2150 2155 2160
[4846] Ala Gly Pro Pro Gly Leu Ser Thr Val Ala Ser Asp Val Ile Asp
[4847] 2165 2170 2175
[4848] Thr Pro Ser Asp Gly Ala Glu Ser Ile Pro Thr Val Ser Phe Ser
[4849] 2180 2185 2190
[4850] Pro Ser Pro Asp Thr Glu Val Thr Thr Ile Ser His Phe Pro Glu
[4851] 2195 2200 2205
[4852] Lys Thr Thr His Ser Phe Arg Thr Ile Ser Ser Leu Thr His Glu
[4853] 2210 2215 2220
[4854] Leu Thr Ser Arg Val Thr Pro Ile Pro Gly Asp Trp Met Ser Ser
[4855] 2225 2230 2235
[4856] Ala Met Ser Thr Lys Pro Thr Gly Ala Ser Pro Ser Ile Thr Leu
[4857] 2240 2245 2250
[4858] Gly Glu Arg Arg Thr Ile Thr Ser Ala Ala Pro Thr Thr Ser Pro
[4859] 2255 2260 2265
[4860] Ile Val Leu Thr Ala Ser Phe Thr Glu Thr Ser Thr Val Ser Leu
[4861] 2270 2275 2280
[4862] Asp Asn Glu Thr Thr Val Lys Thr Ser Asp Ile Leu Asp Ala Arg
[4863] 2285 2290 2295
[4864] Lys Thr Asn Glu Leu Pro Ser Asp Ser Ser Ser Ser Ser Asp Leu
[4865] 2300 2305 2310
[4866] Ile Asn Thr Ser Ile Ala Ser Ser Thr Met Asp Val Thr Lys Thr
[4867] 2315 2320 2325
[4868] Ala Ser Ile Ser Pro Thr Ser Ile Ser Gly Met Thr Ala Ser Ser
[4869] 2330 2335 2340
[4870] Ser Pro Ser Leu Phe Ser Ser Asp Arg Pro Gln Val Pro Thr Ser
[4871] 2345 2350 2355

[4872] Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Asn
[4873] 2360 2365 2370
[4874] Thr Tyr Ser Leu Asp Gly Gly Ser Asn Val Gly Gly Thr Pro Ser
[4875] 2375 2380 2385
[4876] Thr Leu Pro Pro Phe Thr Ile Thr His Pro Val Glu Thr Ser Ser
[4877] 2390 2395 2400
[4878] Ala Leu Leu Ala Trp Ser Arg Pro Val Arg Thr Phe Ser Thr Met
[4879] 2405 2410 2415
[4880] Val Ser Thr Asp Thr Ala Ser Gly Glu Asn Pro Thr Ser Ser Asn
[4881] 2420 2425 2430
[4882] Ser Val Val Thr Ser Val Pro Ala Pro Gly Thr Trp Thr Ser Val
[4883] 2435 2440 2445
[4884] Gly Ser Thr Thr Asp Leu Pro Ala Met Gly Phe Leu Lys Thr Ser
[4885] 2450 2455 2460
[4886] Pro Ala Gly Glu Ala His Ser Leu Leu Ala Ser Thr Ile Glu Pro
[4887] 2465 2470 2475
[4888] Ala Thr Ala Phe Thr Pro His Leu Ser Ala Ala Val Val Thr Gly
[4889] 2480 2485 2490
[4890] Ser Ser Ala Thr Ser Glu Ala Ser Leu Leu Thr Thr Ser Glu Ser
[4891] 2495 2500 2505
[4892] Lys Ala Ile His Ser Ser Pro Gln Thr Pro Thr Thr Pro Thr Ser
[4893] 2510 2515 2520
[4894] Gly Ala Asn Trp Glu Thr Ser Ala Thr Pro Glu Ser Leu Leu Val
[4895] 2525 2530 2535
[4896] Val Thr Glu Thr Ser Asp Thr Thr Leu Thr Ser Lys Ile Leu Val
[4897] 2540 2545 2550
[4898] Thr Asp Thr Ile Leu Phe Ser Thr Val Ser Thr Pro Pro Ser Lys
[4899] 2555 2560 2565
[4900] Phe Pro Ser Thr Gly Thr Leu Ser Gly Ala Ser Phe Pro Thr Leu
[4901] 2570 2575 2580
[4902] Leu Pro Asp Thr Pro Ala Ile Pro Leu Thr Ala Thr Glu Pro Thr
[4903] 2585 2590 2595
[4904] Ser Ser Leu Ala Thr Ser Phe Asp Ser Thr Pro Leu Val Thr Ile
[4905] 2600 2605 2610
[4906] Ala Ser Asp Ser Leu Gly Thr Val Pro Glu Thr Thr Leu Thr Met
[4907] 2615 2620 2625
[4908] Ser Glu Thr Ser Asn Gly Asp Ala Leu Val Leu Lys Thr Val Ser
[4909] 2630 2635 2640
[4910] Asn Pro Asp Arg Ser Ile Pro Gly Ile Thr Ile Gln Gly Val Thr
[4911] 2645 2650 2655
[4912] Glu Ser Pro Leu His Pro Ser Ser Thr Ser Pro Ser Lys Ile Val
[4913] 2660 2665 2670

[4914] Ala Pro Arg Asn Thr Thr Tyr Glu Gly Ser Ile Thr Val Ala Leu
[4915] 2675 2680 2685
[4916] Ser Thr Leu Pro Ala Gly Thr Thr Gly Ser Leu Val Phe Ser Gln
[4917] 2690 2695 2700
[4918] Ser Ser Glu Asn Ser Glu Thr Thr Ala Leu Val Asp Ser Ser Ala
[4919] 2705 2710 2715
[4920] Gly Leu Glu Arg Ala Ser Val Met Pro Leu Thr Thr Gly Ser Gln
[4921] 2720 2725 2730
[4922] Gly Met Ala Ser Ser Gly Gly Ile Arg Ser Gly Ser Thr His Ser
[4923] 2735 2740 2745
[4924] Thr Gly Thr Lys Thr Phe Ser Ser Leu Pro Leu Thr Met Asn Pro
[4925] 2750 2755 2760
[4926] Gly Glu Val Thr Ala Met Ser Glu Ile Thr Thr Asn Arg Leu Thr
[4927] 2765 2770 2775
[4928] Ala Thr Gln Ser Thr Ala Pro Lys Gly Ile Pro Val Lys Pro Thr
[4929] 2780 2785 2790
[4930] Ser Ala Glu Ser Gly Leu Leu Thr Pro Val Ser Ala Ser Ser Ser
[4931] 2795 2800 2805
[4932] Pro Ser Lys Ala Phe Ala Ser Leu Thr Thr Ala Pro Pro Thr Trp
[4933] 2810 2815 2820
[4934] Gly Ile Pro Gln Ser Thr Leu Thr Phe Glu Phe Ser Glu Val Pro
[4935] 2825 2830 2835
[4936] Ser Leu Asp Thr Lys Ser Ala Ser Leu Pro Thr Pro Gly Gln Ser
[4937] 2840 2845 2850
[4938] Leu Asn Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ala Ser Thr Ala Ser Ser Ser
[4939] 2855 2860 2865
[4940] Leu Ser Lys Ser Pro Glu Lys Asn Pro Arg Ala Arg Met Met Thr
[4941] 2870 2875 2880
[4942] Ser Thr Lys Ala Ile Ser Ala Ser Ser Phe Gln Ser Thr Gly Phe
[4943] 2885 2890 2895
[4944] Thr Glu Thr Pro Glu Gly Ser Ala Ser Pro Ser Met Ala Gly His
[4945] 2900 2905 2910
[4946] Glu Pro Arg Val Pro Thr Ser Gly Thr Gly Asp Pro Arg Tyr Ala
[4947] 2915 2920 2925
[4948] Ser Glu Ser Met Ser Tyr Pro Asp Pro Ser Lys Ala Ser Ser Ala
[4949] 2930 2935 2940
[4950] Met Thr Ser Thr Ser Leu Ala Ser Lys Leu Thr Thr Leu Phe Ser
[4951] 2945 2950 2955
[4952] Thr Gly Gln Ala Ala Arg Ser Gly Ser Ser Ser Ser Pro Ile Ser
[4953] 2960 2965 2970
[4954] Leu Ser Thr Glu Lys Glu Thr Ser Phe Leu Ser Pro Thr Ala Ser
[4955] 2975 2980 2985

[4956] Thr Ser Arg Lys Thr Ser Leu Phe Leu Gly Pro Ser Met Ala Arg
[4957] 2990 2995 3000
[4958] Gln Pro Asn Ile Leu Val His Leu Gln Thr Ser Ala Leu Thr Leu
[4959] 3005 3010 3015
[4960] Ser Pro Thr Ser Thr Leu Asn Met Ser Gln Glu Glu Pro Pro Glu
[4961] 3020 3025 3030
[4962] Leu Thr Ser Ser Gln Thr Ile Ala Glu Glu Glu Gly Thr Thr Ala
[4963] 3035 3040 3045
[4964] Glu Thr Gln Thr Leu Thr Phe Thr Pro Ser Glu Thr Pro Thr Ser
[4965] 3050 3055 3060
[4966] Leu Leu Pro Val Ser Ser Pro Thr Glu Pro Thr Ala Arg Arg Lys
[4967] 3065 3070 3075
[4968] Ser Ser Pro Glu Thr Trp Ala Ser Ser Ile Ser Val Pro Ala Lys
[4969] 3080 3085 3090
[4970] Thr Ser Leu Val Glu Thr Thr Asp Gly Thr Leu Val Thr Thr Ile
[4971] 3095 3100 3105
[4972] Lys Met Ser Ser Gln Ala Ala Gln Gly Asn Ser Thr Trp Pro Ala
[4973] 3110 3115 3120
[4974] Pro Ala Glu Glu Thr Gly Ser Ser Pro Ala Gly Thr Ser Pro Gly
[4975] 3125 3130 3135
[4976] Ser Pro Glu Met Ser Thr Thr Leu Lys Ile Met Ser Ser Lys Glu
[4977] 3140 3145 3150
[4978] Pro Ser Ile Ser Pro Glu Ile Arg Ser Thr Val Arg Asn Ser Pro
[4979] 3155 3160 3165
[4980] Trp Lys Thr Pro Glu Thr Thr Val Pro Met Glu Thr Thr Val Glu
[4981] 3170 3175 3180
[4982] Pro Val Thr Leu Gln Ser Thr Ala Leu Gly Ser Gly Ser Thr Ser
[4983] 3185 3190 3195
[4984] Ile Ser His Leu Pro Thr Gly Thr Thr Ser Pro Thr Lys Ser Pro
[4985] 3200 3205 3210
[4986] Thr Glu Asn Met Leu Ala Thr Glu Arg Val Ser Leu Ser Pro Ser
[4987] 3215 3220 3225
[4988] Pro Pro Glu Ala Trp Thr Asn Leu Tyr Ser Gly Thr Pro Gly Gly
[4989] 3230 3235 3240
[4990] Thr Arg Gln Ser Leu Ala Thr Met Ser Ser Val Ser Leu Glu Ser
[4991] 3245 3250 3255
[4992] Pro Thr Ala Arg Ser Ile Thr Gly Thr Gly Gln Gln Ser Ser Pro
[4993] 3260 3265 3270
[4994] Glu Leu Val Ser Lys Thr Thr Gly Met Glu Phe Ser Met Trp His
[4995] 3275 3280 3285
[4996] Gly Ser Thr Gly Gly Thr Thr Gly Asp Thr His Val Ser Leu Ser
[4997] 3290 3295 3300

[4998] Thr Ser Ser Asn Ile Leu Glu Asp Pro Val Thr Ser Pro Asn Ser
[4999] 3305 3310 3315
[5000] Val Ser Ser Leu Thr Asp Lys Ser Lys His Lys Thr Glu Thr Trp
[5001] 3320 3325 3330
[5002] Val Ser Thr Thr Ala Ile Pro Ser Thr Val Leu Asn Asn Lys Ile
[5003] 3335 3340 3345
[5004] Met Ala Ala Glu Gln Gln Thr Ser Arg Ser Val Asp Glu Ala Tyr
[5005] 3350 3355 3360
[5006] Ser Ser Thr Ser Ser Trp Ser Asp Gln Thr Ser Gly Ser Asp Ile
[5007] 3365 3370 3375
[5008] Thr Leu Gly Ala Ser Pro Asp Val Thr Asn Thr Leu Tyr Ile Thr
[5009] 3380 3385 3390
[5010] Ser Thr Ala Gln Thr Thr Ser Leu Val Ser Leu Pro Ser Gly Asp
[5011] 3395 3400 3405
[5012] Gln Gly Ile Thr Ser Leu Thr Asn Pro Ser Gly Gly Lys Thr Ser
[5013] 3410 3415 3420
[5014] Ser Ala Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Ile Gly Leu Glu Thr Leu
[5015] 3425 3430 3435
[5016] Arg Ala Asn Val Ser Ala Val Lys Ser Asp Ile Ala Pro Thr Ala
[5017] 3440 3445 3450
[5018] Gly His Leu Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ala Glu Val Ser Ile Leu
[5019] 3455 3460 3465
[5020] Asp Val Thr Thr Ala Pro Thr Pro Gly Ile Ser Thr Thr Ile Thr
[5021] 3470 3475 3480
[5022] Thr Met Gly Thr Asn Ser Ile Ser Thr Thr Thr Pro Asn Pro Glu
[5023] 3485 3490 3495
[5024] Val Gly Met Ser Thr Met Asp Ser Thr Pro Ala Thr Glu Arg Arg
[5025] 3500 3505 3510
[5026] Thr Thr Ser Thr Glu His Pro Ser Thr Trp Ser Ser Thr Ala Ala
[5027] 3515 3520 3525
[5028] Ser Asp Ser Trp Thr Val Thr Asp Met Thr Ser Asn Leu Lys Val
[5029] 3530 3535 3540
[5030] Ala Arg Ser Pro Gly Thr Ile Ser Thr Met His Thr Thr Ser Phe
[5031] 3545 3550 3555
[5032] Leu Ala Ser Ser Thr Glu Leu Asp Ser Met Ser Thr Pro His Gly
[5033] 3560 3565 3570
[5034] Arg Ile Thr Val Ile Gly Thr Ser Leu Val Thr Pro Ser Ser Asp
[5035] 3575 3580 3585
[5036] Ala Ser Ala Val Lys Thr Glu Thr Ser Thr Ser Glu Arg Thr Leu
[5037] 3590 3595 3600
[5038] Ser Pro Ser Asp Thr Thr Ala Ser Thr Pro Ile Ser Thr Phe Ser
[5039] 3605 3610 3615

[5040] Arg Val Gln Arg Met Ser Ile Ser Val Pro Asp Ile Leu Ser Thr
[5041] 3620 3625 3630
[5042] Ser Trp Thr Pro Ser Ser Thr Glu Ala Glu Asp Val Pro Val Ser
[5043] 3635 3640 3645
[5044] Met Val Ser Thr Asp His Ala Ser Thr Lys Thr Asp Pro Asn Thr
[5045] 3650 3655 3660
[5046] Pro Leu Ser Thr Phe Leu Phe Asp Ser Leu Ser Thr Leu Asp Trp
[5047] 3665 3670 3675
[5048] Asp Thr Gly Arg Ser Leu Ser Ser Ala Thr Ala Thr Thr Ser Ala
[5049] 3680 3685 3690
[5050] Pro Gln Gly Ala Thr Thr Pro Gln Glu Leu Thr Leu Glu Thr Met
[5051] 3695 3700 3705
[5052] Ile Ser Pro Ala Thr Ser Gln Leu Pro Phe Ser Ile Gly His Ile
[5053] 3710 3715 3720
[5054] Thr Ser Ala Val Thr Pro Ala Ala Met Ala Arg Ser Ser Gly Val
[5055] 3725 3730 3735
[5056] Thr Phe Ser Arg Pro Asp Pro Thr Ser Lys Lys Ala Glu Gln Thr
[5057] 3740 3745 3750
[5058] Ser Thr Gln Leu Pro Thr Thr Thr Ser Ala His Pro Gly Gln Val
[5059] 3755 3760 3765
[5060] Pro Arg Ser Ala Ala Thr Thr Leu Asp Val Ile Pro His Thr Ala
[5061] 3770 3775 3780
[5062] Lys Thr Pro Asp Ala Thr Phe Gln Arg Gln Gly Gln Thr Ala Leu
[5063] 3785 3790 3795
[5064] Thr Thr Glu Ala Arg Ala Thr Ser Asp Ser Trp Asn Glu Lys Glu
[5065] 3800 3805 3810
[5066] Lys Ser Thr Pro Ser Ala Pro Trp Ile Thr Glu Met Met Asn Ser
[5067] 3815 3820 3825
[5068] Val Ser Glu Asp Thr Ile Lys Glu Val Thr Ser Ser Ser Ser Val
[5069] 3830 3835 3840
[5070] Leu Arg Thr Leu Asn Thr Leu Asp Ile Asn Leu Glu Ser Gly Thr
[5071] 3845 3850 3855
[5072] Thr Ser Ser Pro Ser Trp Lys Ser Ser Pro Tyr Glu Arg Ile Ala
[5073] 3860 3865 3870
[5074] Pro Ser Glu Ser Thr Thr Asp Lys Glu Ala Ile His Pro Ser Thr
[5075] 3875 3880 3885
[5076] Asn Thr Val Glu Thr Thr Gly Trp Val Thr Ser Ser Glu His Ala
[5077] 3890 3895 3900
[5078] Ser His Ser Thr Ile Pro Ala His Ser Ala Ser Ser Lys Leu Thr
[5079] 3905 3910 3915
[5080] Ser Pro Val Val Thr Thr Ser Thr Arg Glu Gln Ala Ile Val Ser
[5081] 3920 3925 3930

[5082] Met Ser Thr Thr Thr Trp Pro Glu Ser Thr Arg Ala Arg Thr Glu
[5083] 3935 3940 3945
[5084] Pro Asn Ser Phe Leu Thr Ile Glu Leu Arg Asp Val Ser Pro Tyr
[5085] 3950 3955 3960
[5086] Met Asp Thr Ser Ser Thr Thr Gln Thr Ser Ile Ile Ser Ser Pro
[5087] 3965 3970 3975
[5088] Gly Ser Thr Ala Ile Thr Lys Gly Pro Arg Thr Glu Ile Thr Ser
[5089] 3980 3985 3990
[5090] Ser Lys Arg Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Gln Ser Met Arg Ser
[5091] 3995 4000 4005
[5092] Ser Asp Ser Pro Ser Glu Ala Ile Thr Arg Leu Ser Asn Phe Pro
[5093] 4010 4015 4020
[5094] Ala Met Thr Glu Ser Gly Gly Met Ile Leu Ala Met Gln Thr Ser
[5095] 4025 4030 4035
[5096] Pro Pro Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Pro Thr Leu Asp Thr Ser
[5097] 4040 4045 4050
[5098] Ala Thr Ala Ser Trp Thr Gly Thr Pro Leu Ala Thr Thr Gln Arg
[5099] 4055 4060 4065
[5100] Phe Thr Tyr Ser Glu Lys Thr Thr Leu Phe Ser Lys Gly Pro Glu
[5101] 4070 4075 4080
[5102] Asp Thr Ser Gln Pro Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser
[5103] 4085 4090 4095
[5104] Ser Ser Ser Leu Val Pro Ile His Ala Thr Thr Ser Pro Ser Asn
[5105] 4100 4105 4110
[5106] Ile Leu Leu Thr Ser Gln Gly His Ser Pro Ser Ser Thr Pro Pro
[5107] 4115 4120 4125
[5108] Val Thr Ser Val Phe Leu Ser Glu Thr Ser Gly Leu Gly Lys Thr
[5109] 4130 4135 4140
[5110] Thr Asp Met Ser Arg Ile Ser Leu Glu Pro Gly Thr Ser Leu Pro
[5111] 4145 4150 4155
[5112] Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ala Gly Glu Ala Leu Ser Thr Tyr Glu
[5113] 4160 4165 4170
[5114] Ala Ser Arg Asp Thr Lys Ala Ile His His Ser Ala Asp Thr Ala
[5115] 4175 4180 4185
[5116] Val Thr Asn Met Glu Ala Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Pro Ile Pro
[5117] 4190 4195 4200
[5118] Gly His Thr Lys Pro Ser Lys Ala Thr Ser Pro Leu Val Thr Ser
[5119] 4205 4210 4215
[5120] His Ile Met Gly Asp Ile Thr Ser Ser Thr Ser Val Phe Gly Ser
[5121] 4220 4225 4230
[5122] Ser Glu Thr Thr Glu Ile Glu Thr Val Ser Ser Val Asn Gln Gly
[5123] 4235 4240 4245

[5124] Leu Gln Glu Arg Ser Thr Ser Gln Val Ala Ser Ser Ala Thr Glu
[5125] 4250 4255 4260
[5126] Thr Ser Thr Val Ile Thr His Val Ser Ser Gly Asp Ala Thr Thr
[5127] 4265 4270 4275
[5128] His Val Thr Lys Thr Gln Ala Thr Phe Ser Ser Gly Thr Ser Ile
[5129] 4280 4285 4290
[5130] Ser Ser Pro His Gln Phe Ile Thr Ser Thr Asn Thr Phe Thr Asp
[5131] 4295 4300 4305
[5132] Val Ser Thr Asn Pro Ser Thr Ser Leu Ile Met Thr Glu Ser Ser
[5133] 4310 4315 4320
[5134] Gly Val Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro Thr Gly Ala Ala Thr
[5135] 4325 4330 4335
[5136] Gln Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Thr Met Pro Tyr Leu Thr
[5137] 4340 4345 4350
[5138] Glu Thr Pro Leu Ala Val Thr Pro Asp Phe Met Gln Ser Glu Lys
[5139] 4355 4360 4365
[5140] Thr Thr Leu Ile Ser Lys Gly Pro Lys Asp Val Ser Trp Thr Ser
[5141] 4370 4375 4380
[5142] Pro Pro Ser Val Ala Glu Thr Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Thr Pro
[5143] 4385 4390 4395
[5144] Phe Leu Val Thr Thr Ile Pro Pro Ala Thr Ser Thr Leu Gln Gly
[5145] 4400 4405 4410
[5146] Gln His Thr Ser Ser Pro Val Ser Ala Thr Ser Val Leu Thr Ser
[5147] 4415 4420 4425
[5148] Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Asn Thr Ser Met Glu Pro
[5149] 4430 4435 4440
[5150] Val Thr Asn Ser Pro Gln Asn Leu Asn Asn Pro Ser Asn Glu Ile
[5151] 4445 4450 4455
[5152] Leu Ala Thr Leu Ala Ala Thr Thr Asp Ile Glu Thr Ile His Pro
[5153] 4460 4465 4470
[5154] Ser Ile Asn Lys Ala Val Thr Asn Met Gly Thr Ala Ser Ser Ala
[5155] 4475 4480 4485
[5156] His Val Leu His Ser Thr Leu Pro Val Ser Ser Glu Pro Ser Thr
[5157] 4490 4495 4500
[5158] Ala Thr Ser Pro Met Val Pro Ala Ser Ser Met Gly Asp Ala Leu
[5159] 4505 4510 4515
[5160] Ala Ser Ile Ser Ile Pro Gly Ser Glu Thr Thr Asp Ile Glu Gly
[5161] 4520 4525 4530
[5162] Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ala Gly Arg Lys Glu Asn Ser Thr
[5163] 4535 4540 4545
[5164] Leu Gln Glu Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser Asn Ile Ile Leu Ser
[5165] 4550 4555 4560

[5166] Asn Val Ser Val Gly Ala Ile Thr Glu Ala Thr Lys Met Glu Val
[5167] 4565 4570 4575
[5168] Pro Ser Phe Asp Ala Thr Phe Ile Pro Thr Pro Ala Gln Ser Thr
[5169] 4580 4585 4590
[5170] Lys Phe Pro Asp Ile Phe Ser Val Ala Ser Ser Arg Leu Ser Asn
[5171] 4595 4600 4605
[5172] Ser Pro Pro Met Thr Ile Ser Thr His Met Thr Thr Thr Gln Thr
[5173] 4610 4615 4620
[5174] Gly Ser Ser Gly Ala Thr Ser Lys Ile Pro Leu Ala Leu Asp Thr
[5175] 4625 4630 4635
[5176] Ser Thr Leu Glu Thr Ser Ala Gly Thr Pro Ser Val Val Thr Glu
[5177] 4640 4645 4650
[5178] Gly Phe Ala His Ser Lys Ile Thr Thr Ala Met Asn Asn Asp Val
[5179] 4655 4660 4665
[5180] Lys Asp Val Ser Gln Thr Asn Pro Pro Phe Gln Asp Glu Ala Ser
[5181] 4670 4675 4680
[5182] Ser Pro Ser Ser Gln Ala Pro Val Leu Val Thr Thr Leu Pro Ser
[5183] 4685 4690 4695
[5184] Ser Val Ala Phe Thr Pro Gln Trp His Ser Thr Ser Ser Pro Val
[5185] 4700 4705 4710
[5186] Ser Met Ser Ser Val Leu Thr Ser Ser Leu Val Lys Thr Ala Gly
[5187] 4715 4720 4725
[5188] Lys Val Asp Thr Ser Leu Glu Thr Val Thr Ser Ser Pro Gln Ser
[5189] 4730 4735 4740
[5190] Met Ser Asn Thr Leu Asp Asp Ile Ser Val Thr Ser Ala Ala Thr
[5191] 4745 4750 4755
[5192] Thr Asp Ile Glu Thr Thr His Pro Ser Ile Asn Thr Val Val Thr
[5193] 4760 4765 4770
[5194] Asn Val Gly Thr Thr Gly Ser Ala Phe Glu Ser His Ser Thr Val
[5195] 4775 4780 4785
[5196] Ser Ala Tyr Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Asn Val Thr
[5197] 4790 4795 4800
[5198] Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Thr Ile Ser Arg Ser Ile Pro Lys
[5199] 4805 4810 4815
[5200] Ser Ser Lys Thr Thr Arg Thr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Ser Leu
[5201] 4820 4825 4830
[5202] Thr Pro Lys Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Glu Ile Thr Ser
[5203] 4835 4840 4845
[5204] Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val Pro Tyr Lys Glu Leu Thr Gly Ala
[5205] 4850 4855 4860
[5206] Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Asp Val Thr Ser Ser Ser Ser Thr
[5207] 4865 4870 4875

[5208] Ser Phe Pro Gly Pro Asp Gln Ser Thr Val Ser Leu Asp Ile Ser
[5209] 4880 4885 4890
[5210] Thr Glu Thr Asn Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu
[5211] 4895 4900 4905
[5212] Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro His Gly Ala
[5213] 4910 4915 4920
[5214] Thr Ser Gln Asp Thr Phe Thr Met Asp Pro Ser Asn Thr Thr Pro
[5215] 4925 4930 4935
[5216] Gln Ala Gly Ile His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln Leu
[5217] 4940 4945 4950
[5218] Asp Val Thr Thr Leu Met Ser Arg Ile Pro Gln Asp Val Ser Trp
[5219] 4955 4960 4965
[5220] Thr Ser Pro Pro Ser Val Asp Lys Thr Ser Ser Pro Ser Ser Phe
[5221] 4970 4975 4980
[5222] Leu Ser Ser Pro Ala Met Thr Thr Pro Ser Leu Ile Ser Ser Thr
[5223] 4985 4990 4995
[5224] Leu Pro Glu Asp Lys Leu Ser Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr
[5225] 5000 5005 5010
[5226] Ser Gly Leu Val Lys Ile Thr Asp Ile Leu Arg Thr Arg Leu Glu
[5227] 5015 5020 5025
[5228] Pro Val Thr Ser Ser Leu Pro Asn Phe Ser Ser Thr Ser Asp Lys
[5229] 5030 5035 5040
[5230] Ile Leu Ala Thr Ser Lys Asp Ser Lys Asp Thr Lys Glu Ile Phe
[5231] 5045 5050 5055
[5232] Pro Ser Ile Asn Thr Glu Glu Thr Asn Val Lys Ala Asn Asn Ser
[5233] 5060 5065 5070
[5234] Gly His Glu Ser His Ser Pro Ala Leu Ala Asp Ser Glu Thr Pro
[5235] 5075 5080 5085
[5236] Lys Ala Thr Thr Gln Met Val Ile Thr Thr Thr Val Gly Asp Pro
[5237] 5090 5095 5100
[5238] Ala Pro Ser Thr Ser Met Pro Val His Gly Ser Ser Glu Thr Thr
[5239] 5105 5110 5115
[5240] Asn Ile Lys Arg Glu Pro Thr Tyr Phe Leu Thr Pro Arg Leu Arg
[5241] 5120 5125 5130
[5242] Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ser Ser Phe Pro Thr Asp Thr Ser
[5243] 5135 5140 5145
[5244] Phe Leu Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Thr Ile Thr Glu Val Ser
[5245] 5150 5155 5160
[5246] Ser Thr Gly Val Asn Ser Ser Ser Lys Ile Ser Thr Pro Asp His
[5247] 5165 5170 5175
[5248] Asp Lys Ser Thr Val Pro Pro Asp Thr Phe Thr Gly Glu Ile Pro
[5249] 5180 5185 5190

[5250] Arg Val Phe Thr Ser Ser Ile Lys Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr
[5251] 5195 5200 5205
[5252] Ile Thr Thr Gln Ala Ser Pro Pro Glu Ser Ala Ser His Ser Thr
[5253] 5210 5215 5220
[5254] Leu Pro Leu Asp Thr Ser Thr Thr Leu Ser Gln Gly Gly Thr His
[5255] 5225 5230 5235
[5256] Ser Thr Val Thr Gln Gly Phe Pro Tyr Ser Glu Val Thr Thr Leu
[5257] 5240 5245 5250
[5258] Met Gly Met Gly Pro Gly Asn Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro
[5259] 5255 5260 5265
[5260] Val Glu Glu Thr Ser Ser Val Ser Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala
[5261] 5270 5275 5280
[5262] Met Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Gln Ser Ile
[5263] 5285 5290 5295
[5264] Pro Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ala Leu Pro Thr Ser Val Leu
[5265] 5300 5305 5310
[5266] Val Thr Thr Thr Asp Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Ser Val
[5267] 5315 5320 5325
[5268] Thr Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Ile Thr His Glu Arg Pro
[5269] 5330 5335 5340
[5270] Ala Thr Tyr Lys Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Ala Met His His
[5271] 5345 5350 5355
[5272] Ser Thr Asn Thr Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Ser Gly Ser Gly
[5273] 5360 5365 5370
[5274] His Lys Ser Gln Ser Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Ser Lys
[5275] 5375 5380 5385
[5276] Ala Thr Pro Leu Met Ser Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asp Thr Ser
[5277] 5390 5395 5400
[5278] Val Ser Thr Ser Thr Pro Asn Ile Ser Gln Thr Asn Gln Ile Gln
[5279] 5405 5410 5415
[5280] Thr Glu Pro Thr Ala Ser Leu Ser Pro Arg Leu Arg Glu Ser Ser
[5281] 5420 5425 5430
[5282] Thr Ser Glu Lys Thr Ser Ser Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Phe
[5283] 5435 5440 5445
[5284] Ser Tyr Val Pro Thr Gly Ala Ile Thr Gln Ala Ser Arg Thr Glu
[5285] 5450 5455 5460
[5286] Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Asp Leu Asp Arg Pro Thr
[5287] 5465 5470 5475
[5288] Ile Ala Pro Asp Ile Ser Thr Gly Met Ile Thr Arg Leu Phe Thr
[5289] 5480 5485 5490
[5290] Ser Pro Ile Met Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr Val Thr Thr Gln
[5291] 5495 5500 5505

[5292] Thr Thr Thr Pro Gly Ala Thr Ser Gln Gly Ile Leu Pro Trp Asp
[5293] 5510 5515 5520
[5294] Thr Ser Thr Thr Leu Phe Gln Gly Gly Thr His Ser Thr Val Ser
[5295] 5525 5530 5535
[5296] Gln Gly Phe Pro His Ser Glu Ile Thr Thr Leu Arg Ser Arg Thr
[5297] 5540 5545 5550
[5298] Pro Gly Asp Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro Val Glu Glu Thr
[5299] 5555 5560 5565
[5300] Ser Ser Gly Phe Ser Leu Met Ser Pro Ser Met Thr Ser Pro Ser
[5301] 5570 5575 5580
[5302] Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Glu Ser Ile Pro Ser Ser Pro Leu
[5303] 5585 5590 5595
[5304] Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Ser Val Leu Val Thr Thr Thr Asn
[5305] 5600 5605 5610
[5306] Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Pro Val Thr Ser Ser Pro Pro
[5307] 5615 5620 5625
[5308] Asn Leu Ser Ser Pro Thr Gln Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys Asp
[5309] 5630 5635 5640
[5310] Thr Ala His Thr Glu Ala Met His Ala Ser Met His Thr Asn Thr
[5311] 5645 5650 5655
[5312] Ala Val Ala Asn Val Gly Thr Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln
[5313] 5660 5665 5670
[5314] Ser Ser Val Pro Ala Asp Ser His Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro
[5315] 5675 5680 5685
[5316] Met Gly Ile Thr Phe Ala Met Gly Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser
[5317] 5690 5695 5700
[5318] Thr Pro Ala Phe Phe Glu Thr Arg Ile Gln Thr Glu Ser Thr Ser
[5319] 5705 5710 5715
[5320] Ser Leu Ile Pro Gly Leu Arg Asp Thr Arg Thr Ser Glu Glu Ile
[5321] 5720 5725 5730
[5322] Asn Thr Val Thr Glu Thr Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Thr
[5323] 5735 5740 5745
[5324] Thr Thr Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Ile Thr Ser Ser
[5325] 5750 5755 5760
[5326] Arg Thr Thr Ile Ser Gly Pro Asp His Ser Lys Met Ser Pro Tyr
[5327] 5765 5770 5775
[5328] Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Ser Thr Phe Pro Phe Val
[5329] 5780 5785 5790
[5330] Thr Gly Ser Thr Glu Met Ala Ile Thr Asn Gln Thr Gly Pro Ile
[5331] 5795 5800 5805
[5332] Gly Thr Ile Ser Gln Ala Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Ser Thr
[5333] 5810 5815 5820

[5334] Ala Ser Trp Glu Gly Thr His Ser Pro Val Thr Gln Arg Phe Pro
[5335] 5825 5830 5835
[5336] His Ser Glu Glu Thr Thr Thr Met Ser Arg Ser Thr Lys Gly Val
[5337] 5840 5845 5850
[5338] Ser Trp Gln Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Pro Ser
[5339] 5855 5860 5865
[5340] Ser Pro Val Pro Leu Pro Ala Ile Thr Ser His Ser Ser Leu Tyr
[5341] 5870 5875 5880
[5342] Ser Ala Val Ser Gly Ser Ser Pro Thr Ser Ala Leu Pro Val Thr
[5343] 5885 5890 5895
[5344] Ser Leu Leu Thr Ser Gly Arg Arg Lys Thr Ile Asp Met Leu Asp
[5345] 5900 5905 5910
[5346] Thr His Ser Glu Leu Val Thr Ser Ser Leu Pro Ser Ala Ser Ser
[5347] 5915 5920 5925
[5348] Phe Ser Gly Glu Ile Leu Thr Ser Glu Ala Ser Thr Asn Thr Glu
[5349] 5930 5935 5940
[5350] Thr Ile His Phe Ser Glu Asn Thr Ala Glu Thr Asn Met Gly Thr
[5351] 5945 5950 5955
[5352] Thr Asn Ser Met His Lys Leu His Ser Ser Val Ser Ile His Ser
[5353] 5960 5965 5970
[5354] Gln Pro Ser Gly His Thr Pro Pro Lys Val Thr Gly Ser Met Met
[5355] 5975 5980 5985
[5356] Glu Asp Ala Ile Val Ser Thr Ser Thr Pro Gly Ser Pro Glu Thr
[5357] 5990 5995 6000
[5358] Lys Asn Val Asp Arg Asp Ser Thr Ser Pro Leu Thr Pro Glu Leu
[5359] 6005 6010 6015
[5360] Lys Glu Asp Ser Thr Ala Leu Val Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser
[5361] 6020 6025 6030
[5362] Asn Thr Val Phe Ser Ser Val Ser Leu Asp Ala Ala Thr Glu Val
[5363] 6035 6040 6045
[5364] Ser Arg Ala Glu Val Thr Tyr Tyr Asp Pro Thr Phe Met Pro Ala
[5365] 6050 6055 6060
[5366] Ser Ala Gln Ser Thr Lys Ser Pro Asp Ile Ser Pro Glu Ala Ser
[5367] 6065 6070 6075
[5368] Ser Ser His Ser Asn Ser Pro Pro Leu Thr Ile Ser Thr His Lys
[5369] 6080 6085 6090
[5370] Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly Val Thr Ser Leu Gly
[5371] 6095 6100 6105
[5372] Gln Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Ile Ala Thr Ser Ala Gly Thr
[5373] 6110 6115 6120
[5374] Pro Ser Ala Arg Thr Gln Asp Phe Val Asp Ser Glu Thr Thr Ser
[5375] 6125 6130 6135

[5376] Val Met Asn Asn Asp Leu Asn Asp Val Leu Lys Thr Ser Pro Phe
[5377] 6140 6145 6150
[5378] Ser Ala Glu Glu Ala Asn Ser Leu Ser Ser Gln Ala Pro Leu Leu
[5379] 6155 6160 6165
[5380] Val Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Thr Ser Thr Leu Gln Glu His
[5381] 6170 6175 6180
[5382] Ser Thr Ser Ser Leu Val Ser Val Thr Ser Val Pro Thr Pro Thr
[5383] 6185 6190 6195
[5384] Leu Ala Lys Ile Thr Asp Met Asp Thr Asn Leu Glu Pro Val Thr
[5385] 6200 6205 6210
[5386] Arg Ser Pro Gln Asn Leu Arg Asn Thr Leu Ala Thr Ser Glu Ala
[5387] 6215 6220 6225
[5388] Thr Thr Asp Thr His Thr Met His Pro Ser Ile Asn Thr Ala Val
[5389] 6230 6235 6240
[5390] Ala Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Pro Asn Glu Phe Tyr Phe Thr
[5391] 6245 6250 6255
[5392] Val Ser Pro Asp Ser Asp Pro Tyr Lys Ala Thr Ser Ala Val Val
[5393] 6260 6265 6270
[5394] Ile Thr Ser Thr Ser Gly Asp Ser Ile Val Ser Thr Ser Met Pro
[5395] 6275 6280 6285
[5396] Arg Ser Ser Ala Met Lys Lys Ile Glu Ser Glu Thr Thr Phe Ser
[5397] 6290 6295 6300
[5398] Leu Ile Phe Arg Leu Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Lys Ile Gly
[5399] 6305 6310 6315
[5400] Ser Ser Ser Asp Thr Ser Thr Val Phe Asp Lys Ala Phe Thr Ala
[5401] 6320 6325 6330
[5402] Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Leu Thr Ser Ser Ser Arg
[5403] 6335 6340 6345
[5404] Thr Ser Ile Gln Gly Thr Glu Lys Pro Thr Met Ser Pro Asp Thr
[5405] 6350 6355 6360
[5406] Ser Thr Arg Ser Val Thr Met Leu Ser Thr Phe Ala Gly Leu Thr
[5407] 6365 6370 6375
[5408] Lys Ser Glu Glu Arg Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro His Arg
[5409] 6380 6385 6390
[5410] Ala Thr Ser Gln Gly Thr Leu Thr Trp Asp Thr Ser Ile Thr Thr
[5411] 6395 6400 6405
[5412] Ser Gln Ala Gly Thr His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln
[5413] 6410 6415 6420
[5414] Leu Asp Leu Ser Thr Leu Thr Ser Arg Val Pro Glu Tyr Ile Ser
[5415] 6425 6430 6435
[5416] Gly Thr Ser Pro Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
[5417] 6440 6445 6450

[5418] Leu Leu Ser Leu Pro Ala Ile Thr Ser Pro Ser Pro Val Pro Thr
[5419] 6455 6460 6465
[5420] Thr Leu Pro Glu Ser Arg Pro Ser Ser Pro Val His Leu Thr Ser
[5421] 6470 6475 6480
[5422] Leu Pro Thr Ser Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Ala Ser
[5423] 6485 6490 6495
[5424] Val Ala Ser Leu Pro Pro Asn Leu Gly Ser Thr Ser His Lys Ile
[5425] 6500 6505 6510
[5426] Pro Thr Thr Ser Glu Asp Ile Lys Asp Thr Glu Lys Met Tyr Pro
[5427] 6515 6520 6525
[5428] Ser Thr Asn Ile Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Thr Ser Glu
[5429] 6530 6535 6540
[5430] Lys Glu Ser Tyr Ser Ser Val Pro Ala Tyr Ser Glu Pro Pro Lys
[5431] 6545 6550 6555
[5432] Val Thr Ser Pro Met Val Thr Ser Phe Asn Ile Arg Asp Thr Ile
[5433] 6560 6565 6570
[5434] Val Ser Thr Ser Met Pro Gly Ser Ser Glu Ile Thr Arg Ile Glu
[5435] 6575 6580 6585
[5436] Met Glu Ser Thr Phe Ser Leu Ala His Gly Leu Lys Gly Thr Ser
[5437] 6590 6595 6600
[5438] Thr Ser Gln Asp Pro Ile Val Ser Thr Glu Lys Ser Ala Val Leu
[5439] 6605 6610 6615
[5440] His Lys Leu Thr Thr Gly Ala Thr Glu Thr Ser Arg Thr Glu Val
[5441] 6620 6625 6630
[5442] Ala Ser Ser Arg Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Asp His Ser Thr
[5443] 6635 6640 6645
[5444] Glu Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Pro Ser Leu Pro Ile
[5445] 6650 6655 6660
[5446] Ser Leu Gly Ile Thr Glu Ser Ser Asn Met Thr Ile Ile Thr Arg
[5447] 6665 6670 6675
[5448] Thr Gly Pro Pro Leu Gly Ser Thr Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu
[5449] 6680 6685 6690
[5450] Asp Thr Pro Thr Thr Ser Ser Arg Ala Gly Thr His Ser Met Ala
[5451] 6695 6700 6705
[5452] Thr Gln Glu Phe Pro His Ser Glu Met Thr Thr Val Met Asn Lys
[5453] 6710 6715 6720
[5454] Asp Pro Glu Ile Leu Ser Trp Thr Ile Pro Pro Ser Ile Glu Lys
[5455] 6725 6730 6735
[5456] Thr Ser Phe Ser Ser Ser Leu Met Pro Ser Pro Ala Met Thr Ser
[5457] 6740 6745 6750
[5458] Pro Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Lys Thr Ile His Thr Thr Pro
[5459] 6755 6760 6765

[5460] Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr Pro Ser Leu Val Met Thr Thr
[5461] 6770 6775 6780
[5462] Asp Thr Leu Gly Thr Ser Pro Glu Pro Thr Thr Ser Ser Pro Pro
[5463] 6785 6790 6795
[5464] Asn Leu Ser Ser Thr Ser His Glu Ile Leu Thr Thr Asp Glu Asp
[5465] 6800 6805 6810
[5466] Thr Thr Ala Ile Glu Ala Met His Pro Ser Thr Ser Thr Ala Ala
[5467] 6815 6820 6825
[5468] Thr Asn Val Glu Thr Thr Ser Ser Gly His Gly Ser Gln Ser Ser
[5469] 6830 6835 6840
[5470] Val Leu Ala Asp Ser Glu Lys Thr Lys Ala Thr Ala Pro Met Asp
[5471] 6845 6850 6855
[5472] Thr Thr Ser Thr Met Gly His Thr Thr Val Ser Thr Ser Met Ser
[5473] 6860 6865 6870
[5474] Val Ser Ser Glu Thr Thr Lys Ile Lys Arg Glu Ser Thr Tyr Ser
[5475] 6875 6880 6885
[5476] Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Asn Ala Ser
[5477] 6890 6895 6900
[5478] Phe Ser Thr Asp Thr Ser Ile Val Leu Ser Glu Val Pro Thr Gly
[5479] 6905 6910 6915
[5480] Thr Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Gly Arg
[5481] 6920 6925 6930
[5482] Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ser Gln Ser Thr Val Leu Pro Glu Ile
[5483] 6935 6940 6945
[5484] Ser Thr Arg Thr Met Thr Arg Leu Phe Ala Ser Pro Thr Met Thr
[5485] 6950 6955 6960
[5486] Glu Ser Ala Glu Met Thr Ile Pro Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly
[5487] 6965 6970 6975
[5488] Ser Thr Ser Gln Asp Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Lys
[5489] 6980 6985 6990
[5490] Ser Gln Ala Lys Thr His Ser Thr Leu Thr Gln Arg Phe Pro His
[5491] 6995 7000 7005
[5492] Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Gly Pro Gly Asp Met Ser
[5493] 7010 7015 7020
[5494] Trp Gln Ser Ser Pro Ser Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Pro Ser
[5495] 7025 7030 7035
[5496] Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Pro Pro Ile Ser Ser
[5497] 7040 7045 7050
[5498] Thr Leu Pro Val Thr Ile Ser Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ser
[5499] 7055 7060 7065
[5500] Leu Leu Thr Ser Ser Pro Val Thr Thr Thr Asp Met Leu His Thr
[5501] 7070 7075 7080

[5502] Ser Pro Glu Leu Val Thr Ser Ser Pro Pro Lys Leu Ser His Thr
[5503] 7085 7090 7095
[5504] Ser Asp Glu Arg Leu Thr Thr Gly Lys Asp Thr Thr Asn Thr Glu
[5505] 7100 7105 7110
[5506] Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ile
[5507] 7115 7120 7125
[5508] Pro Ser Ser Gly His Glu Ser Pro Ser Ser Ala Leu Ala Asp Ser
[5509] 7130 7135 7140
[5510] Glu Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro Met Phe Ile Thr Ser Thr Gln
[5511] 7145 7150 7155
[5512] Glu Asp Thr Thr Val Ala Ile Ser Thr Pro His Phe Leu Glu Thr
[5513] 7160 7165 7170
[5514] Ser Arg Ile Gln Lys Glu Ser Ile Ser Ser Leu Ser Pro Lys Leu
[5515] 7175 7180 7185
[5516] Arg Glu Thr Gly Ser Ser Val Glu Thr Ser Ser Ala Ile Glu Thr
[5517] 7190 7195 7200
[5518] Ser Ala Val Leu Ser Glu Val Ser Ile Gly Ala Thr Thr Glu Ile
[5519] 7205 7210 7215
[5520] Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Gly
[5521] 7220 7225 7230
[5522] Ser Ala Glu Ser Thr Met Leu Pro Glu Ile Ser Thr Thr Arg Lys
[5523] 7235 7240 7245
[5524] Ile Ile Lys Phe Pro Thr Ser Pro Ile Leu Ala Glu Ser Ser Glu
[5525] 7250 7255 7260
[5526] Met Thr Ile Lys Thr Gln Thr Ser Pro Pro Gly Ser Thr Ser Glu
[5527] 7265 7270 7275
[5528] Ser Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Pro Ser Leu Val Ile
[5529] 7280 7285 7290
[5530] Thr His Ser Thr Met Thr Gln Arg Leu Pro His Ser Glu Ile Thr
[5531] 7295 7300 7305
[5532] Thr Leu Val Ser Arg Gly Ala Gly Asp Val Pro Arg Pro Ser Ser
[5533] 7310 7315 7320
[5534] Leu Pro Val Glu Glu Thr Ser Pro Pro Ser Ser Gln Leu Ser Leu
[5535] 7325 7330 7335
[5536] Ser Ala Met Ile Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Ala
[5537] 7340 7345 7350
[5538] Ser Ser His Ser Ser Ser Ala Ser Val Thr Ser Leu Leu Thr Pro
[5539] 7355 7360 7365
[5540] Gly Gln Val Lys Thr Thr Glu Val Leu Asp Ala Ser Ala Glu Pro
[5541] 7370 7375 7380
[5542] Glu Thr Ser Ser Pro Pro Ser Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile
[5543] 7385 7390 7395

[5544] Leu Ala Thr Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro
[5545] 7400 7405 7410
[5546] Phe Ser Asn Thr Ala Val Thr Lys Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly
[5547] 7415 7420 7425
[5548] His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Pro Asp Ser Glu Thr Thr Lys
[5549] 7430 7435 7440
[5550] Ala Thr Ser Ala Met Gly Thr Ile Ser Ile Met Gly Asp Thr Ser
[5551] 7445 7450 7455
[5552] Val Ser Thr Leu Thr Pro Ala Leu Ser Asn Thr Arg Lys Ile Gln
[5553] 7460 7465 7470
[5554] Ser Glu Pro Ala Ser Ser Leu Thr Thr Arg Leu Arg Glu Thr Ser
[5555] 7475 7480 7485
[5556] Thr Ser Glu Glu Thr Ser Leu Ala Thr Glu Ala Asn Thr Val Leu
[5557] 7490 7495 7500
[5558] Ser Lys Val Ser Thr Gly Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu
[5559] 7505 7510 7515
[5560] Ala Ile Ser Phe Ser Arg Thr Ser Met Ser Gly Pro Glu Gln Ser
[5561] 7520 7525 7530
[5562] Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Ile Gly Thr Ile Pro Arg Ile Ser
[5563] 7535 7540 7545
[5564] Ala Ser Ser Val Leu Thr Glu Ser Ala Lys Met Thr Ile Thr Thr
[5565] 7550 7555 7560
[5566] Gln Thr Gly Pro Ser Glu Ser Thr Leu Glu Ser Thr Leu Asn Leu
[5567] 7565 7570 7575
[5568] Asn Thr Ala Thr Thr Pro Ser Trp Val Glu Thr His Ser Ile Val
[5569] 7580 7585 7590
[5570] Ile Gln Gly Phe Pro His Pro Glu Met Thr Thr Ser Met Gly Arg
[5571] 7595 7600 7605
[5572] Gly Pro Gly Gly Val Ser Trp Pro Ser Pro Pro Phe Val Lys Glu
[5573] 7610 7615 7620
[5574] Thr Ser Pro Pro Ser Ser Pro Leu Ser Leu Pro Ala Val Thr Ser
[5575] 7625 7630 7635
[5576] Pro His Pro Val Ser Thr Thr Phe Leu Ala His Ile Pro Pro Ser
[5577] 7640 7645 7650
[5578] Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Pro Ala Thr Thr
[5579] 7655 7660 7665
[5580] Thr Asp Ile Leu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Gly Thr Ser Ser Ser
[5581] 7670 7675 7680
[5582] Ser Ser Leu Ser Thr Thr Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys
[5583] 7685 7690 7695
[5584] Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Gly
[5585] 7700 7705 7710

[5586] Gly Thr Asn Val Ala Thr Thr Ser Ser Gly Tyr Lys Ser Gln Ser
[5587] 7715 7720 7725
[5588] Ser Val Leu Ala Asp Ser Ser Pro Met Cys Thr Thr Ser Thr Met
[5589] 7730 7735 7740
[5590] Gly Asp Thr Ser Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Leu Glu Thr
[5591] 7745 7750 7755
[5592] Arg Arg Ile Gln Thr Glu Leu Ala Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu
[5593] 7760 7765 7770
[5594] Arg Glu Ser Ser Gly Ser Glu Gly Thr Ser Ser Gly Thr Lys Met
[5595] 7775 7780 7785
[5596] Ser Thr Val Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr Glu Ile
[5597] 7790 7795 7800
[5598] Ser Lys Glu Asp Val Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr
[5599] 7805 7810 7815
[5600] Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Arg Thr Val Ser Trp Phe Ser Thr
[5601] 7820 7825 7830
[5602] Ser Pro Val Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Met Asn Thr His
[5603] 7835 7840 7845
[5604] Thr Ser Pro Leu Gly Ala Thr Thr Gln Gly Thr Ser Thr Leu Asp
[5605] 7850 7855 7860
[5606] Thr Ser Ser Thr Thr Ser Leu Thr Met Thr His Ser Thr Ile Ser
[5607] 7865 7870 7875
[5608] Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Ser Thr Leu Met Arg Arg Gly
[5609] 7880 7885 7890
[5610] Pro Glu Asp Val Ser Trp Met Ser Pro Pro Leu Leu Glu Lys Thr
[5611] 7895 7900 7905
[5612] Arg Pro Ser Phe Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala Thr Thr Ser Pro
[5613] 7910 7915 7920
[5614] Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile Ser Ser Ser Pro
[5615] 7925 7930 7935
[5616] Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Ala Lys Thr Thr
[5617] 7940 7945 7950
[5618] Asp Met Leu His Lys Ser Ser Glu Pro Val Thr Asn Ser Pro Ala
[5619] 7955 7960 7965
[5620] Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Leu Ala Thr Ser Glu Val
[5621] 7970 7975 7980
[5622] Thr Thr Asp Thr Glu Lys Thr His Pro Ser Ser Asn Arg Thr Val
[5623] 7985 7990 7995
[5624] Thr Asp Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly His Glu Ser Thr Ser Phe
[5625] 8000 8005 8010
[5626] Val Leu Ala Asp Ser Gln Thr Ser Lys Val Thr Ser Pro Met Val
[5627] 8015 8020 8025

[5628] Ile Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser Thr Pro
[5629] 8030 8035 8040
[5630] Gly Phe Phe Glu Thr Ser Arg Ile Gln Thr Glu Pro Thr Ser Ser
[5631] 8045 8050 8055
[5632] Leu Thr Leu Gly Leu Arg Lys Thr Ser Ser Ser Glu Gly Thr Ser
[5633] 8060 8065 8070
[5634] Leu Ala Thr Glu Met Ser Thr Val Leu Ser Gly Val Pro Thr Gly
[5635] 8075 8080 8085
[5636] Ala Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg
[5637] 8090 8095 8100
[5638] Thr Ser Ile Ser Gly Phe Ala Gln Leu Thr Val Ser Pro Glu Thr
[5639] 8105 8110 8115
[5640] Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Pro Thr Ser Ser Ile Met Thr
[5641] 8120 8125 8130
[5642] Glu Ser Ala Glu Met Met Ile Lys Thr Gln Thr Asp Pro Pro Gly
[5643] 8135 8140 8145
[5644] Ser Thr Pro Glu Ser Thr His Thr Val Asp Ile Ser Thr Thr Pro
[5645] 8150 8155 8160
[5646] Asn Trp Val Glu Thr His Ser Thr Val Thr Gln Arg Phe Ser His
[5647] 8165 8170 8175
[5648] Ser Glu Met Thr Thr Leu Val Ser Arg Ser Pro Gly Asp Met Leu
[5649] 8180 8185 8190
[5650] Trp Pro Ser Gln Ser Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Ala Ser Ser
[5651] 8195 8200 8205
[5652] Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser
[5653] 8210 8215 8220
[5654] Thr Leu Val Glu Asp Phe Pro Ser Ala Ser Leu Pro Val Thr Ser
[5655] 8225 8230 8235
[5656] Leu Leu Asn Pro Gly Leu Val Ile Thr Thr Asp Arg Met Gly Ile
[5657] 8240 8245 8250
[5658] Ser Arg Glu Pro Gly Thr Ser Ser Thr Ser Asn Leu Ser Ser Thr
[5659] 8255 8260 8265
[5660] Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Leu Glu Asp Thr Val Asp Thr Glu
[5661] 8270 8275 8280
[5662] Asp Met Gln Pro Ser Thr His Thr Ala Val Thr Asn Val Arg Thr
[5663] 8285 8290 8295
[5664] Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln Ser Ser Val Leu Ser Asp Ser
[5665] 8300 8305 8310
[5666] Glu Thr Pro Lys Ala Thr Ser Pro Met Gly Thr Thr Tyr Thr Met
[5667] 8315 8320 8325
[5668] Gly Glu Thr Ser Val Ser Ile Ser Thr Ser Asp Phe Phe Glu Thr
[5669] 8330 8335 8340

[5670] Ser Arg Ile Gln Ile Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu
[5671] 8345 8350 8355
[5672] Arg Glu Thr Ser Ser Ser Glu Arg Ile Ser Ser Ala Thr Glu Gly
[5673] 8360 8365 8370
[5674] Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Ser Gly Ala Thr Thr Glu Val
[5675] 8375 8380 8385
[5676] Ser Arg Thr Glu Val Ile Ser Ser Arg Gly Thr Ser Met Ser Gly
[5677] 8390 8395 8400
[5678] Pro Asp Gln Phe Thr Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Ala Ile
[5679] 8405 8410 8415
[5680] Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ser
[5681] 8420 8425 8430
[5682] Ala Ile Thr Ile Glu Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Glu Gly
[5683] 8435 8440 8445
[5684] Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Thr Phe Trp Ser Gly Thr
[5685] 8450 8455 8460
[5686] His Ser Thr Ala Ser Pro Gly Phe Ser His Ser Glu Met Thr Thr
[5687] 8465 8470 8475
[5688] Leu Met Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Pro Ser Leu Pro
[5689] 8480 8485 8490
[5690] Ser Val Glu Glu Ala Ser Ser Val Ser Ser Ser Leu Ser Ser Pro
[5691] 8495 8500 8505
[5692] Ala Met Thr Ser Thr Ser Phe Phe Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile
[5693] 8510 8515 8520
[5694] Ser Ser Ser Pro His Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Leu Gly Pro
[5695] 8525 8530 8535
[5696] Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Arg Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr
[5697] 8540 8545 8550
[5698] Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala
[5699] 8555 8560 8565
[5700] Thr Ser Glu Val Thr Lys Asp Arg Glu Lys Ile His Pro Ser Ser
[5701] 8570 8575 8580
[5702] Asn Thr Pro Val Val Asn Val Gly Thr Val Ile Tyr Lys His Leu
[5703] 8585 8590 8595
[5704] Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala Asp Leu Val Thr Thr Lys Pro Thr
[5705] 8600 8605 8610
[5706] Ser Pro Met Ala Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asn Thr Ser Val Ser
[5707] 8615 8620 8625
[5708] Thr Ser Thr Pro Ala Phe Pro Glu Thr Met Met Thr Gln Pro Thr
[5709] 8630 8635 8640
[5710] Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu Arg Glu Ile Ser Thr Ser Gln Glu
[5711] 8645 8650 8655

[5712] Thr Ser Ser Ala Thr Glu Arg Ser Ala Ser Leu Ser Gly Met Pro
[5713] 8660 8665 8670
[5714] Thr Gly Ala Thr Thr Lys Val Ser Arg Thr Glu Ala Leu Ser Leu
[5715] 8675 8680 8685
[5716] Gly Arg Thr Ser Thr Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Ile Ser Pro
[5717] 8690 8695 8700
[5718] Glu Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr
[5719] 8705 8710 8715
[5720] Thr Thr Gly Ser Ala Glu Met Thr Ile Thr Pro Lys Thr Gly His
[5721] 8720 8725 8730
[5722] Ser Gly Ala Ser Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ser
[5723] 8735 8740 8745
[5724] Arg Ala Ser Trp Pro Gly Thr His Ser Ala Ala Thr His Arg Ser
[5725] 8750 8755 8760
[5726] Pro His Ser Gly Met Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp
[5727] 8765 8770 8775
[5728] Val Ser Trp Pro Ser Arg Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Pro Pro
[5729] 8780 8785 8790
[5730] Ser Ser Leu Val Ser Leu Ser Ala Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu
[5731] 8795 8800 8805
[5732] Tyr Ser Thr Pro Ser Glu Ser Ser His Ser Ser Pro Leu Arg Val
[5733] 8810 8815 8820
[5734] Thr Ser Leu Phe Thr Pro Val Met Met Lys Thr Thr Asp Met Leu
[5735] 8825 8830 8835
[5736] Asp Thr Ser Leu Glu Pro Val Thr Thr Ser Pro Pro Ser Met Asn
[5737] 8840 8845 8850
[5738] Ile Thr Ser Asp Glu Ser Leu Ala Thr Ser Lys Ala Thr Met Glu
[5739] 8855 8860 8865
[5740] Thr Glu Ala Ile Gln Leu Ser Glu Asn Thr Ala Val Thr Gln Met
[5741] 8870 8875 8880
[5742] Gly Thr Ile Ser Ala Arg Gln Glu Phe Tyr Ser Ser Tyr Pro Gly
[5743] 8885 8890 8895
[5744] Leu Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Val Val Thr Ser Ser
[5745] 8900 8905 8910
[5746] Thr Ile Lys Asp Ile Val Ser Thr Thr Ile Pro Ala Ser Ser Glu
[5747] 8915 8920 8925
[5748] Ile Thr Arg Ile Glu Met Glu Ser Thr Ser Thr Leu Thr Pro Thr
[5749] 8930 8935 8940
[5750] Pro Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ile His Ser Ala Thr Lys
[5751] 8945 8950 8955
[5752] Pro Ser Thr Val Pro Tyr Lys Ala Leu Thr Ser Ala Thr Ile Glu
[5753] 8960 8965 8970

[5754] Asp Ser Met Thr Gln Val Met Ser Ser Ser Arg Gly Pro Ser Pro
[5755] 8975 8980 8985
[5756] Asp Gln Ser Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Thr
[5757] 8990 8995 9000
[5758] Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Lys Thr Glu Ser Thr Glu Met Thr
[5759] 9005 9010 9015
[5760] Ile Thr Thr Gln Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Arg Gly Thr
[5761] 9020 9025 9030
[5762] Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Phe Met Ser Gly Thr His Ser
[5763] 9035 9040 9045
[5764] Thr Ala Ser Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Thr Ala Leu Met
[5765] 9050 9055 9060
[5766] Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Leu Ser His Pro Ser Val
[5767] 9065 9070 9075
[5768] Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ser Phe Ser Leu Ser Ser Pro Val Met
[5769] 9080 9085 9090
[5770] Thr Ser Ser Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Asp Ser Ile His
[5771] 9095 9100 9105
[5772] Ser Ser Ser Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Val
[5773] 9110 9115 9120
[5774] Lys Thr Thr Glu Leu Leu Gly Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr Ser
[5775] 9125 9130 9135
[5776] Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala Ile
[5777] 9140 9145 9150
[5778] Thr Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Leu Glu Met Thr Asn Val
[5779] 9155 9160 9165
[5780] Val Thr Ser Gly Tyr Thr His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala
[5781] 9170 9175 9180
[5782] Asp Ser Val Thr Thr Lys Ala Thr Ser Ser Met Gly Ile Thr Tyr
[5783] 9185 9190 9195
[5784] Pro Thr Gly Asp Thr Asn Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Ser
[5785] 9200 9205 9210
[5786] Asp Thr Ser Arg Ile Gln Thr Lys Ser Lys Leu Ser Leu Thr Pro
[5787] 9215 9220 9225
[5788] Gly Leu Met Glu Thr Ser Ile Ser Glu Glu Thr Ser Ser Ala Thr
[5789] 9230 9235 9240
[5790] Glu Lys Ser Thr Val Leu Ser Ser Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr
[5791] 9245 9250 9255
[5792] Glu Val Ser Arg Thr Glu Ala Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile
[5793] 9260 9265 9270
[5794] Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Met Ser Ser Asp Thr Ser Met Glu
[5795] 9275 9280 9285

[5796] Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr Arg Lys Glu Ser Thr
[5797] 9290 9295 9300
[5798] Asp Met Ala Ile Thr Pro Lys Thr Gly Pro Ser Gly Ala Thr Ser
[5799] 9305 9310 9315
[5800] Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Ser Ser Ser Thr Ala Ser Trp Pro
[5801] 9320 9325 9330
[5802] Gly Thr His Ser Ala Thr Thr Gln Arg Phe Pro Gln Ser Val Val
[5803] 9335 9340 9345
[5804] Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp Val Ser Trp Pro Ser
[5805] 9350 9355 9360
[5806] Pro Leu Ser Val Glu Lys Asn Ser Pro Pro Ser Ser Leu Val Ser
[5807] 9365 9370 9375
[5808] Ser Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu Tyr Ser Thr Pro Ser
[5809] 9380 9385 9390
[5810] Gly Ser Ser His Ser Ser Pro Val Pro Val Thr Ser Leu Phe Thr
[5811] 9395 9400 9405
[5812] Ser Ile Met Met Lys Ala Thr Asp Met Leu Asp Ala Ser Leu Glu
[5813] 9410 9415 9420
[5814] Pro Glu Thr Thr Ser Ala Pro Asn Met Asn Ile Thr Ser Asp Glu
[5815] 9425 9430 9435
[5816] Ser Leu Ala Ala Ser Lys Ala Thr Thr Glu Thr Glu Ala Ile His
[5817] 9440 9445 9450
[5818] Val Phe Glu Asn Thr Ala Ala Ser His Val Glu Thr Thr Ser Ala
[5819] 9455 9460 9465
[5820] Thr Glu Glu Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Gly Phe Ser Glu Pro Thr
[5821] 9470 9475 9480
[5822] Lys Val Ile Ser Pro Val Val Thr Ser Ser Ser Ile Arg Asp Asn
[5823] 9485 9490 9495
[5824] Met Val Ser Thr Thr Met Pro Gly Ser Ser Gly Ile Thr Arg Ile
[5825] 9500 9505 9510
[5826] Glu Ile Glu Ser Met Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr
[5827] 9515 9520 9525
[5828] Arg Thr Ser Gln Asp Ile Thr Ser Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val
[5829] 9530 9535 9540
[5830] Leu Tyr Lys Met Pro Ser Gly Ala Thr Pro Glu Val Ser Arg Thr
[5831] 9545 9550 9555
[5832] Glu Val Met Pro Ser Ser Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln
[5833] 9560 9565 9570
[5834] Ser Thr Met Ser Leu Asp Ile Ser Asp Glu Val Val Thr Arg Leu
[5835] 9575 9580 9585
[5836] Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr
[5837] 9590 9595 9600

[5838] Thr Gln Thr Gly Tyr Ser Leu Ala Thr Ser Gln Val Thr Leu Pro
[5839] 9605 9610 9615
[5840] Leu Gly Thr Ser Met Thr Phe Leu Ser Gly Thr His Ser Thr Met
[5841] 9620 9625 9630
[5842] Ser Gln Gly Leu Ser His Ser Glu Met Thr Asn Leu Met Ser Arg
[5843] 9635 9640 9645
[5844] Gly Pro Glu Ser Leu Ser Trp Thr Ser Pro Arg Phe Val Glu Thr
[5845] 9650 9655 9660
[5846] Thr Arg Ser Ser Ser Ser Leu Thr Ser Leu Pro Leu Thr Thr Ser
[5847] 9665 9670 9675
[5848] Leu Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Leu Asp Ser Ser Pro Ser Ser
[5849] 9680 9685 9690
[5850] Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Ile Leu Pro Gly Leu Val Lys Thr
[5851] 9695 9700 9705
[5852] Thr Glu Val Leu Asp Thr Ser Ser Glu Pro Lys Thr Ser Ser Ser
[5853] 9710 9715 9720
[5854] Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Pro Ala Thr Ser Glu
[5855] 9725 9730 9735
[5856] Ile Met Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro Ser Ser Asn Thr Ala
[5857] 9740 9745 9750
[5858] Val Ala Lys Val Arg Thr Ser Ser Ser Val His Glu Ser His Ser
[5859] 9755 9760 9765
[5860] Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Thr Ile Thr Ile Pro Ser Met
[5861] 9770 9775 9780
[5862] Gly Ile Thr Ser Ala Val Asp Asp Thr Thr Val Phe Thr Ser Asn
[5863] 9785 9790 9795
[5864] Pro Ala Phe Ser Glu Thr Arg Arg Ile Pro Thr Glu Pro Thr Phe
[5865] 9800 9805 9810
[5866] Ser Leu Thr Pro Gly Phe Arg Glu Thr Ser Thr Ser Glu Glu Thr
[5867] 9815 9820 9825
[5868] Thr Ser Ile Thr Glu Thr Ser Ala Val Leu Tyr Gly Val Pro Thr
[5869] 9830 9835 9840
[5870] Ser Ala Thr Thr Glu Val Ser Met Thr Glu Ile Met Ser Ser Asn
[5871] 9845 9850 9855
[5872] Arg Ile His Ile Pro Asp Ser Asp Gln Ser Thr Met Ser Pro Asp
[5873] 9860 9865 9870
[5874] Ile Ile Thr Glu Val Ile Thr Arg Leu Ser Ser Ser Ser Met Met
[5875] 9875 9880 9885
[5876] Ser Glu Ser Thr Gln Met Thr Ile Thr Thr Gln Lys Ser Ser Pro
[5877] 9890 9895 9900
[5878] Gly Ala Thr Ala Gln Ser Thr Leu Thr Leu Ala Thr Thr Thr Ala
[5879] 9905 9910 9915

[5880] Pro Leu Ala Arg Thr His Ser Thr Val Pro Pro Arg Phe Leu His
[5881] 9920 9925 9930
[5882] Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Ser Pro Glu Asn Pro Ser
[5883] 9935 9940 9945
[5884] Trp Lys Ser Ser Leu Phe Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
[5885] 9950 9955 9960
[5886] Leu Leu Ser Leu Pro Val Thr Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Thr
[5887] 9965 9970 9975
[5888] Leu Pro Gln Ser Ile Pro Ser Ser Ser Phe Ser Val Thr Ser Leu
[5889] 9980 9985 9990
[5890] Leu Thr Pro Gly Met Val Lys Thr Thr Asp Thr Ser Thr Glu Pro
[5891] 9995 10000 10005
[5892] Gly Thr Ser Leu Ser Pro Asn Leu Ser Gly Thr Ser Val Glu Ile
[5893] 10010 10015 10020
[5894] Leu Ala Ala Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro
[5895] 10025 10030 10035
[5896] Ser Ser Ser Met Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Gly
[5897] 10040 10045 10050
[5898] His Glu Leu Tyr Ser Ser Val Ser Ile His Ser Glu Pro Ser Lys
[5899] 10055 10060 10065
[5900] Ala Thr Tyr Pro Val Gly Thr Pro Ser Ser Met Ala Glu Thr Ser
[5901] 10070 10075 10080
[5902] Ile Ser Thr Ser Met Pro Ala Asn Phe Glu Thr Thr Gly Phe Glu
[5903] 10085 10090 10095
[5904] Ala Glu Pro Phe Ser His Leu Thr Ser Gly Phe Arg Lys Thr Asn
[5905] 10100 10105 10110
[5906] Met Ser Leu Asp Thr Ser Ser Val Thr Pro Thr Asn Thr Pro Ser
[5907] 10115 10120 10125
[5908] Ser Pro Gly Ser Thr His Leu Leu Gln Ser Ser Lys Thr Asp Phe
[5909] 10130 10135 10140
[5910] Thr Ser Ser Ala Lys Thr Ser Ser Pro Asp Trp Pro Pro Ala Ser
[5911] 10145 10150 10155
[5912] Gln Tyr Thr Glu Ile Pro Val Asp Ile Ile Thr Pro Phe Asn Ala
[5913] 10160 10165 10170
[5914] Ser Pro Ser Ile Thr Glu Ser Thr Gly Ile Thr Ser Phe Pro Glu
[5915] 10175 10180 10185
[5916] Ser Arg Phe Thr Met Ser Val Thr Glu Ser Thr His His Leu Ser
[5917] 10190 10195 10200
[5918] Thr Asp Leu Leu Pro Ser Ala Glu Thr Ile Ser Thr Gly Thr Val
[5919] 10205 10210 10215
[5920] Met Pro Ser Leu Ser Glu Ala Met Thr Ser Phe Ala Thr Thr Gly
[5921] 10220 10225 10230

[5922] Val Pro Arg Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Pro Phe Ser Arg Thr
[5923] 10235 10240 10245
[5924] Glu Ser Gly Pro Gly Asp Ala Thr Leu Ser Thr Ile Ala Glu Ser
[5925] 10250 10255 10260
[5926] Leu Pro Ser Ser Thr Pro Val Pro Phe Ser Ser Ser Thr Phe Thr
[5927] 10265 10270 10275
[5928] Thr Thr Asp Ser Ser Thr Ile Pro Ala Leu His Glu Ile Thr Ser
[5929] 10280 10285 10290
[5930] Ser Ser Ala Thr Pro Tyr Arg Val Asp Thr Ser Leu Gly Thr Glu
[5931] 10295 10300 10305
[5932] Ser Ser Thr Thr Glu Gly Arg Leu Val Met Val Ser Thr Leu Asp
[5933] 10310 10315 10320
[5934] Thr Ser Ser Gln Pro Gly Arg Thr Ser Ser Ser Pro Ile Leu Asp
[5935] 10325 10330 10335
[5936] Thr Arg Met Thr Glu Ser Val Glu Leu Gly Thr Val Thr Ser Ala
[5937] 10340 10345 10350
[5938] Tyr Gln Val Pro Ser Leu Ser Thr Arg Leu Thr Arg Thr Asp Gly
[5939] 10355 10360 10365
[5940] Ile Met Glu His Ile Thr Lys Ile Pro Asn Glu Ala Ala His Arg
[5941] 10370 10375 10380
[5942] Gly Thr Ile Arg Pro Val Lys Gly Pro Gln Thr Ser Thr Ser Pro
[5943] 10385 10390 10395
[5944] Ala Ser Pro Lys Gly Leu His Thr Gly Gly Thr Lys Arg Met Glu
[5945] 10400 10405 10410
[5946] Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr
[5947] 10415 10420 10425
[5948] Thr Ser Arg Ala Thr Leu Thr Thr Ser Val Tyr Thr Pro Thr Leu
[5949] 10430 10435 10440
[5950] Gly Thr Leu Thr Pro Leu Asn Ala Ser Met Gln Met Ala Ser Thr
[5951] 10445 10450 10455
[5952] Ile Pro Thr Glu Met Met Ile Thr Thr Pro Tyr Val Phe Pro Asp
[5953] 10460 10465 10470
[5954] Val Pro Glu Thr Thr Ser Ser Leu Ala Thr Ser Leu Gly Ala Glu
[5955] 10475 10480 10485
[5956] Thr Ser Thr Ala Leu Pro Arg Thr Thr Pro Ser Val Phe Asn Arg
[5957] 10490 10495 10500
[5958] Glu Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Val Ser Arg Ser Gly Ala Glu
[5959] 10505 10510 10515
[5960] Arg Ser Pro Val Ile Gln Thr Leu Asp Val Ser Ser Ser Glu Pro
[5961] 10520 10525 10530
[5962] Asp Thr Thr Ala Ser Trp Val Ile His Pro Ala Glu Thr Ile Pro
[5963] 10535 10540 10545

[5964] Thr Val Ser Lys Thr Thr Pro Asn Phe Phe His Ser Glu Leu Asp
[5965] 10550 10555 10560
[5966] Thr Val Ser Ser Thr Ala Thr Ser His Gly Ala Asp Val Ser Ser
[5967] 10565 10570 10575
[5968] Ala Ile Pro Thr Asn Ile Ser Pro Ser Glu Leu Asp Ala Leu Thr
[5969] 10580 10585 10590
[5970] Pro Leu Val Thr Ile Ser Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro
[5971] 10595 10600 10605
[5972] Thr Leu Thr Lys Ser Pro His Glu Thr Glu Thr Arg Thr Thr Trp
[5973] 10610 10615 10620
[5974] Leu Thr His Pro Ala Glu Thr Ser Ser Thr Ile Pro Arg Thr Ile
[5975] 10625 10630 10635
[5976] Pro Asn Phe Ser His His Glu Ser Asp Ala Thr Pro Ser Ile Ala
[5977] 10640 10645 10650
[5978] Thr Ser Pro Gly Ala Glu Thr Ser Ser Ala Ile Pro Ile Met Thr
[5979] 10655 10660 10665
[5980] Val Ser Pro Gly Ala Glu Asp Leu Val Thr Ser Gln Val Thr Ser
[5981] 10670 10675 10680
[5982] Ser Gly Thr Asp Arg Asn Met Thr Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser
[5983] 10685 10690 10695
[5984] Pro Gly Glu Pro Lys Thr Ile Ala Ser Leu Val Thr His Pro Glu
[5985] 10700 10705 10710
[5986] Ala Gln Thr Ser Ser Ala Ile Pro Thr Ser Thr Ile Ser Pro Ala
[5987] 10715 10720 10725
[5988] Val Ser Arg Leu Val Thr Ser Met Val Thr Ser Leu Ala Ala Lys
[5989] 10730 10735 10740
[5990] Thr Ser Thr Thr Asn Arg Ala Leu Thr Asn Ser Pro Gly Glu Pro
[5991] 10745 10750 10755
[5992] Ala Thr Thr Val Ser Leu Val Thr His Pro Ala Gln Thr Ser Pro
[5993] 10760 10765 10770
[5994] Thr Val Pro Trp Thr Thr Ser Ile Phe Phe His Ser Lys Ser Asp
[5995] 10775 10780 10785
[5996] Thr Thr Pro Ser Met Thr Thr Ser His Gly Ala Glu Ser Ser Ser
[5997] 10790 10795 10800
[5998] Ala Val Pro Thr Pro Thr Val Ser Thr Glu Val Pro Gly Val Val
[5999] 10805 10810 10815
[6000] Thr Pro Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Ile Ser Thr Thr Ile
[6001] 10820 10825 10830
[6002] Pro Ile Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser
[6003] 10835 10840 10845
[6004] Met Ala Thr Ser His Gly Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ile Pro Thr
[6005] 10850 10855 10860

[6006] Pro Thr Val Ser Pro Gly Val Pro Gly Val Val Thr Ser Leu Val
[6007] 10865 10870 10875
[6008] Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr
[6009] 10880 10885 10890
[6010] Phe Ser Leu Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser
[6011] 10895 10900 10905
[6012] His Gly Thr Glu Ala Gly Ser Ala Val Pro Thr Val Leu Pro Glu
[6013] 10910 10915 10920
[6014] Val Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Ala Ser Ser Arg Ala Val
[6015] 10925 10930 10935
[6016] Thr Ser Thr Thr Leu Pro Thr Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro
[6017] 10940 10945 10950
[6018] Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser
[6019] 10955 10960 10965
[6020] Ser Thr Val Pro Thr Val Ser Pro Glu Val Pro Gly Val Val Thr
[6021] 10970 10975 10980
[6022] Ser Leu Val Thr Ser Ser Ser Gly Val Asn Ser Thr Ser Ile Pro
[6023] 10985 10990 10995
[6024] Thr Leu Ile Leu Ser Pro Gly Glu Leu Glu Thr Thr Pro Ser Met
[6025] 11000 11005 11010
[6026] Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser Ser Ala Val Pro Thr Pro
[6027] 11015 11020 11025
[6028] Thr Val Ser Pro Gly Val Ser Gly Val Val Thr Pro Leu Val Thr
[6029] 11030 11035 11040
[6030] Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr Leu
[6031] 11045 11050 11055
[6032] Ser Ser Ser Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His
[6033] 11060 11065 11070
[6034] Gly Val Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr Val Ser Pro Glu Val
[6035] 11075 11080 11085
[6036] Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr
[6037] 11090 11095 11100
[6038] Ser Thr Thr Ile Pro Thr Leu Thr Ile Ser Ser Asp Glu Pro Glu
[6039] 11105 11110 11115
[6040] Thr Thr Thr Ser Leu Val Thr His Ser Glu Ala Lys Met Ile Ser
[6041] 11120 11125 11130
[6042] Ala Ile Pro Thr Leu Ala Val Ser Pro Thr Val Gln Gly Leu Val
[6043] 11135 11140 11145
[6044] Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Ser Glu Thr Ser Ala Phe Ser
[6045] 11150 11155 11160
[6046] Asn Leu Thr Val Ala Ser Ser Gln Pro Glu Thr Ile Asp Ser Trp
[6047] 11165 11170 11175

[6048] Val Ala His Pro Gly Thr Glu Ala Ser Ser Val Val Pro Thr Leu
[6049] 11180 11185 11190
[6050] Thr Val Ser Thr Gly Glu Pro Phe Thr Asn Ile Ser Leu Val Thr
[6051] 11195 11200 11205
[6052] His Pro Ala Glu Ser Ser Ser Thr Leu Pro Arg Thr Thr Ser Arg
[6053] 11210 11215 11220
[6054] Phe Ser His Ser Glu Leu Asp Thr Met Pro Ser Thr Val Thr Ser
[6055] 11225 11230 11235
[6056] Pro Glu Ala Glu Ser Ser Ser Ala Ile Ser Thr Thr Ile Ser Pro
[6057] 11240 11245 11250
[6058] Gly Ile Pro Gly Val Leu Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Arg
[6059] 11255 11260 11265
[6060] Asp Ile Ser Ala Thr Phe Pro Thr Val Pro Glu Ser Pro His Glu
[6061] 11270 11275 11280
[6062] Ser Glu Ala Thr Ala Ser Trp Val Thr His Pro Ala Val Thr Ser
[6063] 11285 11290 11295
[6064] Thr Thr Val Pro Arg Thr Thr Pro Asn Tyr Ser His Ser Glu Pro
[6065] 11300 11305 11310
[6066] Asp Thr Thr Pro Ser Ile Ala Thr Ser Pro Gly Ala Glu Ala Thr
[6067] 11315 11320 11325
[6068] Ser Asp Phe Pro Thr Ile Thr Val Ser Pro Asp Val Pro Asp Met
[6069] 11330 11335 11340
[6070] Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Gly Thr Asp Thr Ser Ile Thr
[6071] 11345 11350 11355
[6072] Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser Ser Gly Glu Pro Glu Thr Thr Thr
[6073] 11360 11365 11370
[6074] Ser Phe Ile Thr Tyr Ser Glu Thr His Thr Ser Ser Ala Ile Pro
[6075] 11375 11380 11385
[6076] Thr Leu Pro Val Ser Pro Gly Ala Ser Lys Met Leu Thr Ser Leu
[6077] 11390 11395 11400
[6078] Val Ile Ser Ser Gly Thr Asp Ser Thr Thr Thr Phe Pro Thr Leu
[6079] 11405 11410 11415
[6080] Thr Glu Thr Pro Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Ile Gln Leu Ile
[6081] 11420 11425 11430
[6082] His Pro Ala Glu Thr Asn Thr Met Val Pro Arg Thr Thr Pro Lys
[6083] 11435 11440 11445
[6084] Phe Ser His Ser Lys Ser Asp Thr Thr Leu Pro Val Ala Ile Thr
[6085] 11450 11455 11460
[6086] Ser Pro Gly Pro Glu Ala Ser Ser Ala Val Ser Thr Thr Thr Ile
[6087] 11465 11470 11475
[6088] Ser Pro Asp Met Ser Asp Leu Val Thr Ser Leu Val Pro Ser Ser
[6089] 11480 11485 11490

[6090] Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro Thr Leu Ser Glu Thr Pro
[6091] 11495 11500 11505
[6092] Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Thr Trp Leu Thr His Pro Ala Glu
[6093] 11510 11515 11520
[6094] Thr Ser Thr Thr Val Ser Gly Thr Ile Pro Asn Phe Ser His Arg
[6095] 11525 11530 11535
[6096] Gly Ser Asp Thr Ala Pro Ser Met Val Thr Ser Pro Gly Val Asp
[6097] 11540 11545 11550
[6098] Thr Arg Ser Gly Val Pro Thr Thr Thr Ile Pro Pro Ser Ile Pro
[6099] 11555 11560 11565
[6100] Gly Val Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Ala Thr Asp Thr Ser
[6101] 11570 11575 11580
[6102] Thr Ala Ile Pro Thr Leu Thr Pro Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr
[6103] 11585 11590 11595
[6104] Thr Ala Ser Ser Ala Thr His Pro Gly Thr Gln Thr Gly Phe Thr
[6105] 11600 11605 11610
[6106] Val Pro Ile Arg Thr Val Pro Ser Ser Glu Pro Asp Thr Met Ala
[6107] 11615 11620 11625
[6108] Ser Trp Val Thr His Pro Pro Gln Thr Ser Thr Pro Val Ser Arg
[6109] 11630 11635 11640
[6110] Thr Thr Ser Ser Phe Ser His Ser Ser Pro Asp Ala Thr Pro Val
[6111] 11645 11650 11655
[6112] Met Ala Thr Ser Pro Arg Thr Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr
[6113] 11660 11665 11670
[6114] Thr Ile Ser Pro Gly Ala Pro Glu Met Val Thr Ser Gln Ile Thr
[6115] 11675 11680 11685
[6116] Ser Ser Gly Ala Ala Thr Ser Thr Thr Val Pro Thr Leu Thr His
[6117] 11690 11695 11700
[6118] Ser Pro Gly Met Pro Glu Thr Thr Ala Leu Leu Ser Thr His Pro
[6119] 11705 11710 11715
[6120] Arg Thr Glu Thr Ser Lys Thr Phe Pro Ala Ser Thr Val Phe Pro
[6121] 11720 11725 11730
[6122] Gln Val Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Thr Ile Arg Pro Gly Ala
[6123] 11735 11740 11745
[6124] Glu Thr Ser Thr Ala Leu Pro Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Phe
[6125] 11750 11755 11760
[6126] Thr Leu Leu Val Thr Gly Thr Ser Arg Val Asp Leu Ser Pro Thr
[6127] 11765 11770 11775
[6128] Ala Ser Pro Gly Val Ser Ala Lys Thr Ala Pro Leu Ser Thr His
[6129] 11780 11785 11790
[6130] Pro Gly Thr Glu Thr Ser Thr Met Ile Pro Thr Ser Thr Leu Ser
[6131] 11795 11800 11805

[6132] Leu Gly Leu Leu Glu Thr Thr Gly Leu Leu Ala Thr Ser Ser Ser
[6133] 11810 11815 11820
[6134] Ala Glu Thr Ser Thr Ser Thr Leu Thr Leu Thr Val Ser Pro Ala
[6135] 11825 11830 11835
[6136] Val Ser Gly Leu Ser Ser Ala Ser Ile Thr Thr Asp Lys Pro Gln
[6137] 11840 11845 11850
[6138] Thr Val Thr Ser Trp Asn Thr Glu Thr Ser Pro Ser Val Thr Ser
[6139] 11855 11860 11865
[6140] Val Gly Pro Pro Glu Phe Ser Arg Thr Val Thr Gly Thr Thr Met
[6141] 11870 11875 11880
[6142] Thr Leu Ile Pro Ser Glu Met Pro Thr Pro Pro Lys Thr Ser His
[6143] 11885 11890 11895
[6144] Gly Glu Gly Val Ser Pro Thr Thr Ile Leu Arg Thr Thr Met Val
[6145] 11900 11905 11910
[6146] Glu Ala Thr Asn Leu Ala Thr Thr Gly Ser Ser Pro Thr Val Ala
[6147] 11915 11920 11925
[6148] Lys Thr Thr Thr Thr Phe Asn Thr Leu Ala Gly Ser Leu Phe Thr
[6149] 11930 11935 11940
[6150] Pro Leu Thr Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ala Ser Glu Ser Val
[6151] 11945 11950 11955
[6152] Thr Ser Arg Thr Ser Tyr Asn His Arg Ser Trp Ile Ser Thr Thr
[6153] 11960 11965 11970
[6154] Ser Ser Tyr Asn Arg Arg Tyr Trp Thr Pro Ala Thr Ser Thr Pro
[6155] 11975 11980 11985
[6156] Val Thr Ser Thr Phe Ser Pro Gly Ile Ser Thr Ser Ser Ile Pro
[6157] 11990 11995 12000
[6158] Ser Ser Thr Ala Ala Thr Val Pro Phe Met Val Pro Phe Thr Leu
[6159] 12005 12010 12015
[6160] Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met Arg His
[6161] 12020 12025 12030
[6162] Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Ala Thr Glu Arg Glu Leu Gln Gly
[6163] 12035 12040 12045
[6164] Leu Leu Lys Pro Leu Phe Arg Asn Ser Ser Leu Glu Tyr Leu Tyr
[6165] 12050 12055 12060
[6166] Ser Gly Cys Arg Leu Ala Ser Leu Arg Pro Glu Lys Asp Ser Ser
[6167] 12065 12070 12075
[6168] Ala Thr Ala Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Glu
[6169] 12080 12085 12090
[6170] Asp Leu Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Asn
[6171] 12095 12100 12105
[6172] Leu Thr Asn Gly Ile Gln Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg
[6173] 12110 12115 12120

[6174] Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Met Pro
[6175] 12125 12130 12135
[6176] Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Val Gly Thr Ser
[6177] 12140 12145 12150
[6178] Gly Thr Pro Ser Ser Ser Pro Ser Pro Thr Thr Ala Gly Pro Leu
[6179] 12155 12160 12165
[6180] Leu Met Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr
[6181] 12170 12175 12180
[6182] Glu Glu Asp Met Arg Arg Thr Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Met
[6183] 12185 12190 12195
[6184] Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu Lys Pro Leu Phe Lys Asn Thr
[6185] 12200 12205 12210
[6186] Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg
[6187] 12215 12220 12225
[6188] Pro Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr
[6189] 12230 12235 12240
[6190] His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu
[6191] 12245 12250 12255
[6192] Tyr Trp Glu Leu Ser Lys Leu Thr Asn Asp Ile Glu Glu Leu Gly
[6193] 12260 12265 12270
[6194] Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr
[6195] 12275 12280 12285
[6196] His Gln Ser Ser Val Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr
[6197] 12290 12295 12300
[6198] Val Asp Leu Arg Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Ser Ser Pro
[6199] 12305 12310 12315
[6200] Thr Ile Met Ala Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn
[6201] 12320 12325 12330
[6202] Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Gly Glu Asp Met Gly His Pro
[6203] 12335 12340 12345
[6204] Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu
[6205] 12350 12355 12360
[6206] Leu Gly Pro Ile Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser
[6207] 12365 12370 12375
[6208] Gly Cys Arg Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala
[6209] 12380 12385 12390
[6210] Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Ile His His Leu Asp Pro Lys Ser
[6211] 12395 12400 12405
[6212] Pro Gly Leu Asn Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu
[6213] 12410 12415 12420
[6214] Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn
[6215] 12425 12430 12435

[6216] Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Thr Ser Val Pro Thr
[6217] 12440 12445 12450
[6218] Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly
[6219] 12455 12460 12465
[6220] Thr Pro Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ala Thr Ala Gly Pro Leu Leu
[6221] 12470 12475 12480
[6222] Val Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Lys Tyr Glu
[6223] 12485 12490 12495
[6224] Glu Asp Met His Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu
[6225] 12500 12505 12510
[6226] Arg Val Leu Gln Thr Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser
[6227] 12515 12520 12525
[6228] Val Gly Leu Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Ser
[6229] 12530 12535 12540
[6230] Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His
[6231] 12545 12550 12555
[6232] Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp Arg Glu Gln Leu Tyr
[6233] 12560 12565 12570
[6234] Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro
[6235] 12575 12580 12585
[6236] Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His
[6237] 12590 12595 12600
[6238] Trp Ile Pro Val Pro Thr Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val
[6239] 12605 12610 12615
[6240] Asp Leu Gly Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr
[6241] 12620 12625 12630
[6242] Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr
[6243] 12635 12640 12645
[6244] Asn Leu Lys Tyr Glu Glu Asp Met His Cys Pro Gly Ser Arg Lys
[6245] 12650 12655 12660
[6246] Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Ser Leu Leu Gly Pro Met
[6247] 12665 12670 12675
[6248] Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu
[6249] 12680 12685 12690
[6250] Thr Leu Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp
[6251] 12695 12700 12705
[6252] Ala Ile Cys Thr His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp
[6253] 12710 12715 12720
[6254] Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile
[6255] 12725 12730 12735
[6256] Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val
[6257] 12740 12745 12750

[6258] Asn Gly Phe Thr His Gln Thr Ser Ala Pro Asn Thr Ser Thr Pro
[6259] 12755 12760 12765
[6260] Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser
[6261] 12770 12775 12780
[6262] Leu Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr
[6263] 12785 12790 12795
[6264] Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met His
[6265] 12800 12805 12810
[6266] His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln
[6267] 12815 12820 12825
[6268] Gly Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Leu Leu
[6269] 12830 12835 12840
[6270] Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asn Gly
[6271] 12845 12850 12855
[6272] Ala Ala Thr Gly Met Asp Ala Ile Cys Ser His Arg Leu Asp Pro
[6273] 12860 12865 12870
[6274] Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser
[6275] 12875 12880 12885
[6276] Gln Leu Thr His Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp
[6277] 12890 12895 12900
[6278] Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
[6279] 12905 12910 12915
[6280] Ala Pro Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr
[6281] 12920 12925 12930
[6282] Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr Ala Val Pro
[6283] 12935 12940 12945
[6284] Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln
[6285] 12950 12955 12960
[6286] Tyr Gly Glu Asp Met Arg His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr
[6287] 12965 12970 12975
[6288] Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Gly Pro Leu Phe Lys Asn
[6289] 12980 12985 12990
[6290] Ser Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Ile Ser Leu
[6291] 12995 13000 13005
[6292] Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys
[6293] 13010 13015 13020
[6294] Thr His His Leu Asn Pro Gln Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln
[6295] 13025 13030 13035
[6296] Leu Tyr Trp Gln Leu Ser Gln Met Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu
[6297] 13040 13045 13050
[6298] Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe
[6299] 13055 13060 13065

[6300] Thr His Arg Ser Ser Gly Leu Thr Thr Ser Thr Pro Trp Thr Ser
[6301] 13070 13075 13080
[6302] Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Pro Val Pro Ser
[6303] 13085 13090 13095
[6304] Pro Thr Thr Thr Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe
[6305] 13100 13105 13110
[6306] Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asn Met Gly His Pro Gly
[6307] 13115 13120 13125
[6308] Ser Arg Lys Phe Asn Ile Thr Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu
[6309] 13130 13135 13140
[6310] Lys Pro Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly
[6311] 13145 13150 13155
[6312] Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly Val Ala Thr
[6313] 13160 13165 13170
[6314] Arg Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Lys Ile Pro
[6315] 13175 13180 13185
[6316] Gly Leu Asp Arg Gln Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr
[6317] 13190 13195 13200
[6318] His Ser Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser
[6319] 13205 13210 13215
[6320] Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr
[6321] 13220 13225 13230
[6322] Ser Thr Pro Gly Thr Phe Thr Val Gln Pro Glu Thr Ser Glu Thr
[6323] 13235 13240 13245
[6324] Pro Ser Ser Leu Pro Gly Pro Thr Ala Thr Gly Pro Val Leu Leu
[6325] 13250 13255 13260
[6326] Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu
[6327] 13265 13270 13275
[6328] Asp Met Arg Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg
[6329] 13280 13285 13290
[6330] Val Leu Gln Gly Leu Leu Met Pro Leu Phe Lys Asn Thr Ser Val
[6331] 13295 13300 13305
[6332] Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu
[6333] 13310 13315 13320
[6334] Lys Asp Gly Ala Ala Thr Arg Val Asp Ala Val Cys Thr His Arg
[6335] 13325 13330 13335
[6336] Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp
[6337] 13340 13345 13350
[6338] Lys Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr
[6339] 13355 13360 13365
[6340] Thr Leu Asp Arg His Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Gln
[6341] 13370 13375 13380

[6342] Ser Ser Met Thr Thr Thr Arg Thr Pro Asp Thr Ser Thr Met His
[6343] 13385 13390 13395
[6344] Leu Ala Thr Ser Arg Thr Pro Ala Ser Leu Ser Gly Pro Met Thr
[6345] 13400 13405 13410
[6346] Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr Ile Asn Phe Thr Ile Thr
[6347] 13415 13420 13425
[6348] Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met His His Pro Gly Ser Arg Lys
[6349] 13430 13435 13440
[6350] Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Val
[6351] 13445 13450 13455
[6352] Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu
[6353] 13460 13465 13470
[6354] Thr Leu Leu Arg Pro Lys Lys Asp Gly Ala Ala Thr Lys Val Asp
[6355] 13475 13480 13485
[6356] Ala Ile Cys Thr Tyr Arg Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp
[6357] 13490 13495 13500
[6358] Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile
[6359] 13505 13510 13515
[6360] Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val
[6361] 13520 13525 13530
[6362] Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Ile Pro
[6363] 13535 13540 13545
[6364] Gly Thr Pro Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Val Ser
[6365] 13550 13555 13560
[6366] Lys Pro Gly Pro Ser Ala Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr
[6367] 13565 13570 13575
[6368] Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met Gln
[6369] 13580 13585 13590
[6370] His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln
[6371] 13595 13600 13605
[6372] Gly Leu Leu Arg Ser Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu
[6373] 13610 13615 13620
[6374] Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly
[6375] 13625 13630 13635
[6376] Thr Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His His Pro Asp Pro
[6377] 13640 13645 13650
[6378] Lys Ser Pro Arg Leu Asp Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser
[6379] 13655 13660 13665
[6380] Gln Leu Thr His Asn Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Ala Leu Asp
[6381] 13670 13675 13680
[6382] Asn Asp Ser Leu Phe Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
[6383] 13685 13690 13695

[6384] Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Pro Thr Val Tyr Leu Gly Ala
[6385] 13700 13705 13710
[6386] Ser Lys Thr Pro Ala Ser Ile Phe Gly Pro Ser Ala Ala Ser His
[6387] 13715 13720 13725
[6388] Leu Leu Ile Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg
[6389] 13730 13735 13740
[6390] Tyr Glu Glu Asn Met Trp Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr
[6391] 13745 13750 13755
[6392] Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Leu Phe Lys Asn Thr
[6393] 13760 13765 13770
[6394] Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg
[6395] 13775 13780 13785
[6396] Pro Glu Lys Asp Gly Glu Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr
[6397] 13790 13795 13800
[6398] His Arg Pro Asp Pro Thr Gly Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln Leu
[6399] 13805 13810 13815
[6400] Tyr Leu Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile Thr Glu Leu Gly
[6401] 13820 13825 13830
[6402] Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr
[6403] 13835 13840 13845
[6404] His Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Thr Gly Val Val Ser Glu
[6405] 13850 13855 13860
[6406] Glu Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Asn Asn Leu Arg Tyr Met
[6407] 13865 13870 13875
[6408] Ala Asp Met Gly Gln Pro Gly Ser Leu Lys Phe Asn Ile Thr Asp
[6409] 13880 13885 13890
[6410] Asn Val Met Gln His Leu Leu Ser Pro Leu Phe Gln Arg Ser Ser
[6411] 13895 13900 13905
[6412] Leu Gly Ala Arg Tyr Thr Gly Cys Arg Val Ile Ala Leu Arg Ser
[6413] 13910 13915 13920
[6414] Val Lys Asn Gly Ala Glu Thr Arg Val Asp Leu Leu Cys Thr Tyr
[6415] 13925 13930 13935
[6416] Leu Gln Pro Leu Ser Gly Pro Gly Leu Pro Ile Lys Gln Val Phe
[6417] 13940 13945 13950
[6418] His Glu Leu Ser Gln Gln Thr His Gly Ile Thr Arg Leu Gly Pro
[6419] 13955 13960 13965
[6420] Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Ser Leu Tyr Leu Asn Gly Tyr Asn Glu
[6421] 13970 13975 13980
[6422] Pro Gly Pro Asp Glu Pro Pro Thr Thr Pro Lys Pro Ala Thr Thr
[6423] 13985 13990 13995
[6424] Phe Leu Pro Pro Leu Ser Glu Ala Thr Thr Ala Met Gly Tyr His
[6425] 14000 14005 14010

[6426] Leu Lys Thr Leu Thr Leu Asn Phe Thr Ile Ser Asn Leu Gln Tyr
[6427] 14015 14020 14025
[6428] Ser Pro Asp Met Gly Lys Gly Ser Ala Thr Phe Asn Ser Thr Glu
[6429] 14030 14035 14040
[6430] Gly Val Leu Gln His Leu Leu Arg Pro Leu Phe Gln Lys Ser Ser
[6431] 14045 14050 14055
[6432] Met Gly Pro Phe Tyr Leu Gly Cys Gln Leu Ile Ser Leu Arg Pro
[6433] 14060 14065 14070
[6434] Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Thr Thr Cys Thr Tyr
[6435] 14075 14080 14085
[6436] His Pro Asp Pro Val Gly Pro Gly Leu Asp Ile Gln Gln Leu Tyr
[6437] 14090 14095 14100
[6438] Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe
[6439] 14105 14110 14115
[6440] Tyr Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro
[6441] 14120 14125 14130
[6442] Gln Asn Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile
[6443] 14135 14140 14145
[6444] Val Asn Trp Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr
[6445] 14150 14155 14160
[6446] Ile Thr Leu Leu Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr
[6447] 14165 14170 14175
[6448] Lys Gly Ser Gln Leu His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr
[6449] 14180 14185 14190
[6450] Asn Leu Thr Met Asp Ser Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe
[6451] 14195 14200 14205
[6452] Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp
[6453] 14210 14215 14220
[6454] Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His Trp Leu Gly Ser Thr Tyr Gln
[6455] 14225 14230 14235
[6456] Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met Glu Ser Ser Val Tyr Gln
[6457] 14240 14245 14250
[6458] Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe Tyr Leu Asn Phe Thr
[6459] 14255 14260 14265
[6460] Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala Gln Pro Gly Thr
[6461] 14270 14275 14280
[6462] Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp Ala Leu Asn
[6463] 14285 14290 14295
[6464] Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser Asp Cys
[6465] 14300 14305 14310
[6466] Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr Gly
[6467] 14315 14320 14325

[6468] Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp
[6469] 14330 14335 14340
[6470] Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly
[6471] 14345 14350 14355
[6472] Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val
[6473] 14360 14365 14370
[6474] Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser
[6475] 14375 14380 14385
[6476] Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu
[6477] 14390 14395 14400
[6478] Leu Gly Val Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr
[6479] 14405 14410 14415
[6480] Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys
[6481] 14420 14425 14430
[6482] Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln
[6483] 14435 14440 14445
[6484] <210> 151
[6485] <211> 114
[6486] <212> PRT
[6487] <213> 人工序列
[6488] <220>
[6489] <223> MUC16c114-N1
[6490] <400> 151
[6491] Ala Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[6492] 1 5 10 15
[6493] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr
[6494] 20 25 30
[6495] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[6496] 35 40 45
[6497] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu
[6498] 50 55 60
[6499] Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[6500] 65 70 75 80
[6501] Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val
[6502] 85 90 95
[6503] Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp
[6504] 100 105 110
[6505] Leu Gln
[6506] <210> 152
[6507] <211> 114
[6508] <212> PRT
[6509] <213> 人工序列

[6510] <220>
[6511] <223> MUC16c114-N2
[6512] <400> 152
[6513] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[6514] 1 5 10 15
[6515] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Ala Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr
[6516] 20 25 30
[6517] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[6518] 35 40 45
[6519] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu
[6520] 50 55 60
[6521] Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[6522] 65 70 75 80
[6523] Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val
[6524] 85 90 95
[6525] Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp
[6526] 100 105 110
[6527] Leu Gln
[6528] <210> 153
[6529] <211> 114
[6530] <212> PRT
[6531] <213> 人工序列
[6532] <220>
[6533] <223> MUC16c114-N12
[6534] <400> 153
[6535] Ala Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[6536] 1 5 10 15
[6537] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Ala Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr
[6538] 20 25 30
[6539] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[6540] 35 40 45
[6541] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu
[6542] 50 55 60
[6543] Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[6544] 65 70 75 80
[6545] Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val
[6546] 85 90 95
[6547] Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp
[6548] 100 105 110
[6549] Leu Gln
[6550] <210> 154
[6551] <211> 114

[6552] <212> PRT
[6553] <213> 人工序列
[6554] <220>
[6555] <223> MUC16c114-N123
[6556] <400> 154
[6557] Ala Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[6558] 1 5 10 15
[6559] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Ala Gly Thr Gln Leu Gln Ala Phe Thr
[6560] 20 25 30
[6561] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[6562] 35 40 45
[6563] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu
[6564] 50 55 60
[6565] Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[6566] 65 70 75 80
[6567] Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val
[6568] 85 90 95
[6569] Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp
[6570] 100 105 110
[6571] Leu Gln
[6572] <210> 155
[6573] <211> 6
[6574] <212> PRT
[6575] <213> 人工序列
[6576] <220>
[6577] <223> MUC16c344第一串联重复的N端
[6578] <400> 155
[6579] Trp Glu Leu Ser Gln Leu
[6580] 1 5
[6581] <210> 156
[6582] <211> 7
[6583] <212> PRT
[6584] <213> 人工序列
[6585] <220>
[6586] <223> MUC16c344第一串联重复的C端
[6587] <400> 156
[6588] Thr Gly Val Asp Ser Leu Cys
[6589] 1 5
[6590] <210> 157
[6591] <211> 7
[6592] <212> PRT
[6593] <213> 人工序列

[6594] <220>
[6595] <223> MUC16c344胞外域N端
[6596] <400> 157
[6597] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg
[6598] 1 5
[6599] <210> 158
[6600] <211> 7
[6601] <212> PRT
[6602] <213> 人工序列
[6603] <220>
[6604] <223> MUC16c344胞外域C端
[6605] <400> 158
[6606] Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro
[6607] 1 5
[6608] <210> 159
[6609] <211> 25
[6610] <212> PRT
[6611] <213> 人工序列
[6612] <220>
[6613] <223> 跨膜
[6614] <400> 159
[6615] Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile
[6616] 1 5 10 15
[6617] Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val
[6618] 20 25
[6619] <210> 160
[6620] <211> 31
[6621] <212> PRT
[6622] <213> 人工序列
[6623] <220>
[6624] <223> 胞质尾区
[6625] <400> 160
[6626] Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln
[6627] 1 5 10 15
[6628] Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln
[6629] 20 25 30
[6630] <210> 161
[6631] <211> 58
[6632] <212> PRT
[6633] <213> 人工序列
[6634] <220>
[6635] <223> MUC16c114胞外域

[6636] <400> 161

[6637] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu

[6638] 1 5 10 15

[6639] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr

[6640] 20 25 30

[6641] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn

[6642] 35 40 45

[6643] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro

[6644] 50 55

[6645] <210> 162

[6646] <211> 24

[6647] <212> PRT

[6648] <213> 人工序列

[6649] <220>

[6650] <223> MUC16c80胞外域

[6651] <400> 162

[6652] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu

[6653] 1 5 10 15

[6654] Glu Phe Leu Arg Met Asp Leu Pro

[6655] 20

[6656] <210> 163

[6657] <211> 58

[6658] <212> PRT

[6659] <213> 人工序列

[6660] <220>

[6661] <223> MUC16c86胞外域

[6662] <400> 163

[6663] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu

[6664] 1 5 10 15

[6665] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr

[6666] 20 25 30

[6667] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn

[6668] 35 40 45

[6669] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro

[6670] 50 55

[6671] <210> 164

[6672] <211> 22

[6673] <212> PRT

[6674] <213> 人工序列

[6675] <220>

[6676] <223> MUC16c86跨膜

[6677] <400> 164

[6678] Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile
[6679] 1 5 10 15
[6680] Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[6681] 20
[6682] <210> 165
[6683] <211> 6
[6684] <212> PRT
[6685] <213> 人工序列
[6686] <220>
[6687] <223> MUC16c86胞质
[6688] <400> 165
[6689] Asp Leu Glu Asp Leu Gln
[6690] 1 5
[6691] <210> 166
[6692] <211> 58
[6693] <212> PRT
[6694] <213> 人工序列
[6695] <220>
[6696] <223> MUC16 3(N to A)c114胞外域
[6697] <400> 166
[6698] Ala Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[6699] 1 5 10 15
[6700] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Ala Gly Thr Gln Leu Gln Ala Phe Thr
[6701] 20 25 30
[6702] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[6703] 35 40 45
[6704] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro
[6705] 50 55
[6706] <210> 167
[6707] <211> 128
[6708] <212> PRT
[6709] <213> 人工序列
[6710] <220>
[6711] <223> LGALS3糖结合域
[6712] <400> 167
[6713] Pro Tyr Asn Leu Pro Leu Pro Gly Gly Val Val Pro Arg Met Leu Ile
[6714] 1 5 10 15
[6715] Thr Ile Leu Gly Thr Val Lys Pro Asn Ala Asn Arg Ile Ala Leu Asp
[6716] 20 25 30
[6717] Phe Gln Arg Gly Asn Asp Val Ala Phe His Phe Asn Pro Arg Phe Asn
[6718] 35 40 45
[6719] Glu Asn Asn Arg Arg Val Ile Val Cys Asn Thr Lys Leu Asp Asn Asn

[6720] 50 55 60

[6721] Trp Gly Arg Glu Glu Arg Gln Ser Val Phe Pro Phe Glu Ser Gly Lys

[6722] 65 70 75 80

[6723] Pro Phe Lys Ile Gln Val Leu Val Glu Pro Asp His Phe Lys Val Ala

[6724] 85 90 95

[6725] Val Asn Asp Ala His Leu Leu Gln Tyr Asn His Arg Val Lys Lys Leu

[6726] 100 105 110

[6727] Asn Glu Ile Ser Lys Leu Gly Ile Ser Gly Asp Ile Asp Leu Thr Ser

[6728] 115 120 125

[6729] <210> 168

[6730] <211> 19

[6731] <212> PRT

[6732] <213> 人工序列

[6733] <220>

[6734] <223> MUC16非糖基化的肽2

[6735] <400> 168

[6736] Cys Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn

[6737] 1 5 10 15

[6738] Arg Asn Glu

[6739] <210> 169

[6740] <211> 18

[6741] <212> PRT

[6742] <213> 人工序列

[6743] <220>

[6744] <223> MUC16无关肽18mer

[6745] <400> 169

[6746] Gly Ala Val Pro Arg Ser Ala Thr Ile Asn Val Ser Arg Ile Ala Thr

[6747] 1 5 10 15

[6748] Gly Pro

[6749] <210> 170

[6750] <211> 17

[6751] <212> PRT

[6752] <213> 人工序列

[6753] <220>

[6754] <223> 18mer (无C)

[6755] <400> 170

[6756] Thr Arg Asn Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser

[6757] 1 5 10 15

[6758] Val

[6759] <210> 171

[6760] <211> 14

[6761] <212> PRT

[6762] <213> 人工序列
[6763] <220>
[6764] <223> 15mer (无C)
[6765] <400> 171
[6766] Gly Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val
[6767] 1 5 10
[6768] <210> 172
[6769] <211> 114
[6770] <212> PRT
[6771] <213> 人工序列
[6772] <220>
[6773] <223> MUC16c114-N23
[6774] <400> 172
[6775] Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp Arg Val Ala Ile Tyr Glu
[6776] 1 5 10 15
[6777] Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Ala Gly Thr Gln Leu Gln Ala Phe Thr
[6778] 20 25 30
[6779] Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn
[6780] 35 40 45
[6781] Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu
[6782] 50 55 60
[6783] Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly
[6784] 65 70 75 80
[6785] Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val
[6786] 85 90 95
[6787] Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp
[6788] 100 105 110
[6789] Leu Gln
[6790] <210> 173
[6791] <211> 344
[6792] <212> PRT
[6793] <213> 人工序列
[6794] <220>
[6795] <223> N24 mut c344
[6796] <400> 173
[6797] Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe Tyr
[6798] 1 5 10 15
[6799] Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro Gln Asn
[6800] 20 25 30
[6801] Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile Val Asn Gln
[6802] 35 40 45
[6803] Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr Ile Thr Leu Leu

[6804] 50 55 60

[6805] Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr Lys Gly Ser Gln Leu

[6806] 65 70 75 80

[6807] His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr Asn Leu Thr Met Asp Ser

[6808] 85 90 95

[6809] Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser

[6810] 100 105 110

[6811] Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His

[6812] 115 120 125

[6813] Gln Leu Gly Ser Thr Tyr Gln Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met

[6814] 130 135 140

[6815] Glu Ser Ser Val Tyr Gln Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe

[6816] 145 150 155 160

[6817] Tyr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala

[6818] 165 170 175

[6819] Gln Pro Gly Thr Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp

[6820] 180 185 190

[6821] Ala Leu Asn Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser

[6822] 195 200 205

[6823] Asp Cys Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr

[6824] 210 215 220

[6825] Gly Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp

[6826] 225 230 235 240

[6827] Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Ala Gly Thr

[6828] 245 250 255

[6829] Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly

[6830] 260 265 270

[6831] Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro

[6832] 275 280 285

[6833] Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile

[6834] 290 295 300

[6835] Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys

[6836] 305 310 315 320

[6837] Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser

[6838] 325 330 335

[6839] His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln

[6840] 340

[6841] <210> 174

[6842] <211> 344

[6843] <212> PRT

[6844] <213> 人工序列

[6845] <220>

[6846] <223> N30 mut c344

[6847] <400> 174

[6848] Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe Tyr

[6849] 1 5 10 15

[6850] Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro Gln Asn

[6851] 20 25 30

[6852] Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile Val Asn Gln

[6853] 35 40 45

[6854] Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr Ile Thr Leu Leu

[6855] 50 55 60

[6856] Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr Lys Gly Ser Gln Leu

[6857] 65 70 75 80

[6858] His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr Asn Leu Thr Met Asp Ser

[6859] 85 90 95

[6860] Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser

[6861] 100 105 110

[6862] Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His

[6863] 115 120 125

[6864] Gln Leu Gly Ser Thr Tyr Gln Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met

[6865] 130 135 140

[6866] Glu Ser Ser Val Tyr Gln Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe

[6867] 145 150 155 160

[6868] Tyr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala

[6869] 165 170 175

[6870] Gln Pro Gly Thr Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp

[6871] 180 185 190

[6872] Ala Leu Asn Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser

[6873] 195 200 205

[6874] Asp Cys Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr

[6875] 210 215 220

[6876] Gly Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp

[6877] 225 230 235 240

[6878] Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly Thr

[6879] 245 250 255

[6880] Gln Leu Gln Ala Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly

[6881] 260 265 270

[6882] Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro

[6883] 275 280 285

[6884] Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile

[6885] 290 295 300

[6886] Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys

[6887] 305 310 315 320

[6888] Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser
[6889] 325 330 335
[6890] His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln
[6891] 340
[6892] <210> 175
[6893] <211> 344
[6894] <212> PRT
[6895] <213> 人工序列
[6896] <220>
[6897] <223> N24-N30 mut c344
[6898] <400> 175
[6899] Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe Tyr
[6900] 1 5 10 15
[6901] Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro Gln Asn
[6902] 20 25 30
[6903] Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile Val Asn Gln
[6904] 35 40 45
[6905] Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr Ile Thr Leu Leu
[6906] 50 55 60
[6907] Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr Lys Gly Ser Gln Leu
[6908] 65 70 75 80
[6909] His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr Asn Leu Thr Met Asp Ser
[6910] 85 90 95
[6911] Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser
[6912] 100 105 110
[6913] Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His
[6914] 115 120 125
[6915] Gln Leu Gly Ser Thr Tyr Gln Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met
[6916] 130 135 140
[6917] Glu Ser Ser Val Tyr Gln Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe
[6918] 145 150 155 160
[6919] Tyr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala
[6920] 165 170 175
[6921] Gln Pro Gly Thr Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp
[6922] 180 185 190
[6923] Ala Leu Asn Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser
[6924] 195 200 205
[6925] Asp Cys Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr
[6926] 210 215 220
[6927] Gly Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp
[6928] 225 230 235 240
[6929] Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Ala Gly Thr

[6930] 245 250 255

[6931] Gln Leu Gln Ala Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val Asp Gly

[6932] 260 265 270

[6933] Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser Asp Leu Pro

[6934] 275 280 285

[6935] Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Leu Ile

[6936] 290 295 300

[6937] Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr Arg Arg Arg Lys Lys

[6938] 305 310 315 320

[6939] Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser

[6940] 325 330 335

[6941] His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln

[6942] 340

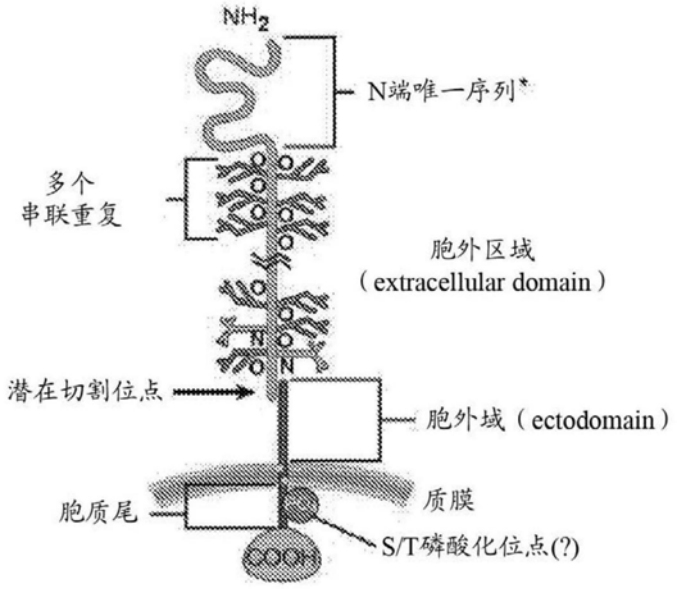

NH2
N端唯一序列*
多个
串联重复
胞外区域
(extracellular domain)
潜在切割位点
胞外域(ectodomain)
胞质尾
质膜
S/T磷酸化位点(?)
COOH

图1A

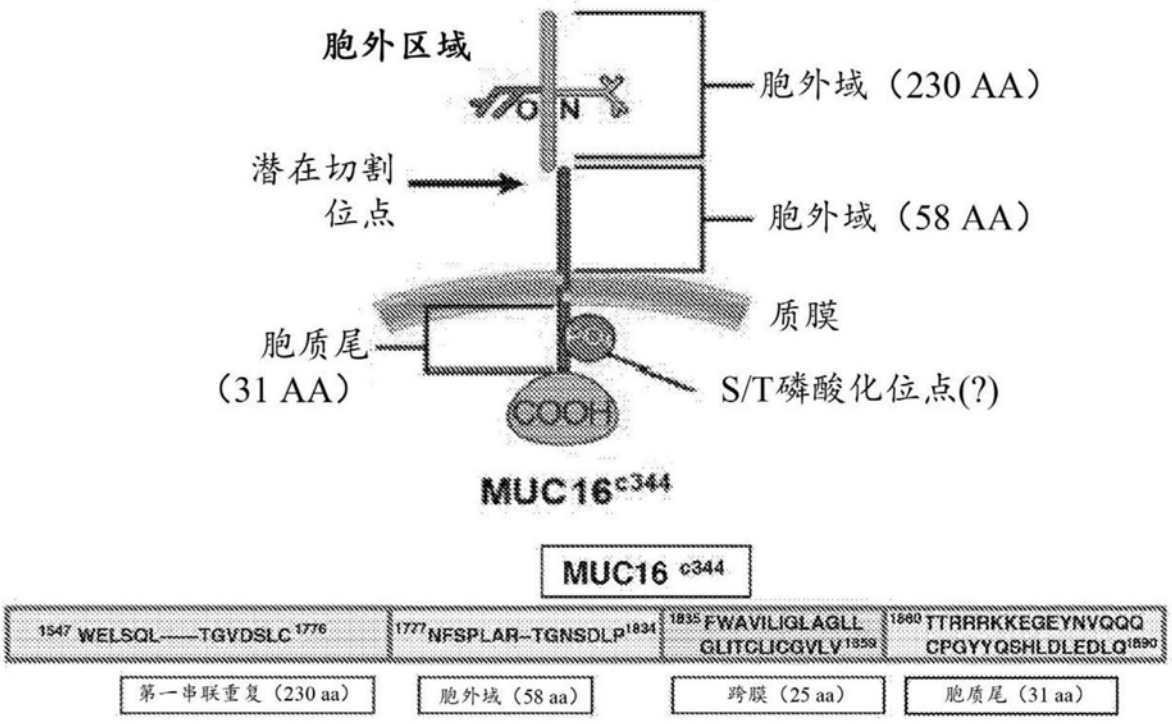

胞外区域
胞外域(230 AA)
潜在切割
位点
胞外域(58 AA)
质膜
胞质尾
(31 AA)
S/T磷酸化位点(?)
COOH
MUC16c344
MUC16 c344
1547 WELSQL------TGVDSLC 1776
1777 NFSPLAR--TGNSDLP 1831
1835 FWAVILIGLAGLL GLITCLICGVLV 1859
1860 TTRRRKKEGEYNVQQQ CPGYYQSHLDLEDLQ 1890
第一串联重复(230 aa)
胞外域(58 aa)
跨膜(25 aa)
胞质尾(31 aa)

图1B

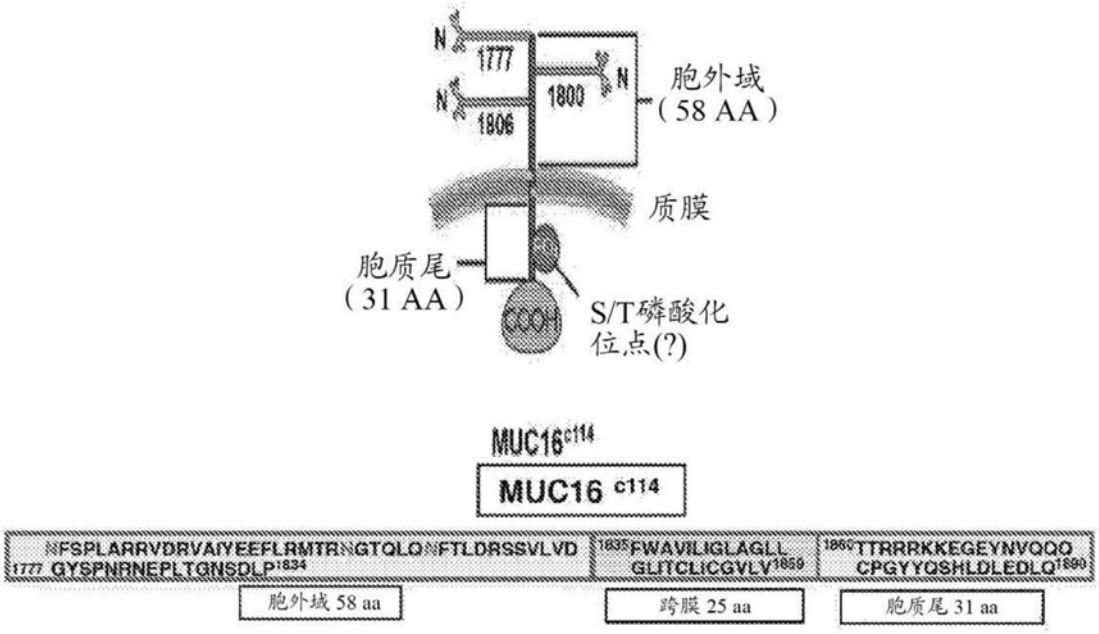

N
1777
N
1806
1800
N
胞外域
(58 AA)
质膜
胞质尾
(31 AA)
COOH
S/T磷酸化
位点(?)
MUC16c114
MUC16 c114
NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVD
1777 GYSPNRNEPLTGNSDLP1834
1835FWAVILIGLAGLL
GLITCLICGVLV1859
1860TTRRRKKEGEYNVQQQ
CPGYYQSHLDLEDLQ1890
胞外域 58 aa
跨膜 25 aa
胞质尾 31 aa

图1C

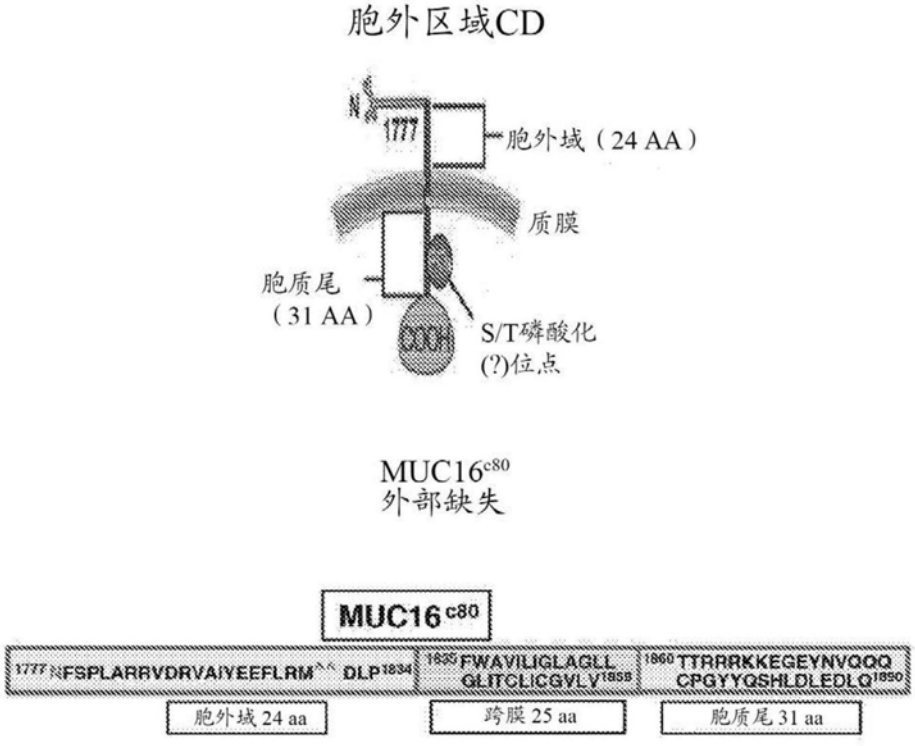
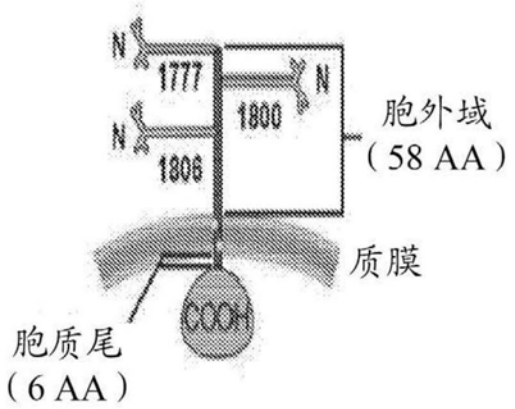

胞外区域CD
N
1777
胞外域（24 AA）
质膜
胞质尾
（31 AA）
COOH
S/T磷酸化
(?)位点
MUC16c80
外部缺失
MUC16 c80
1777NFSPLARRVDRVAIYEEFLRM^^ DLP1834
1835FWAVILIGLAGLL
GLITCLICGVLV1858
1860TTRRRKKEGEYNVQQQ
CPGYYQSHLDLEDLQ1890
胞外域 24 aa
跨膜 25 aa
胞质尾 31 aa

图1D



MUC16^{c86}
内部缺失

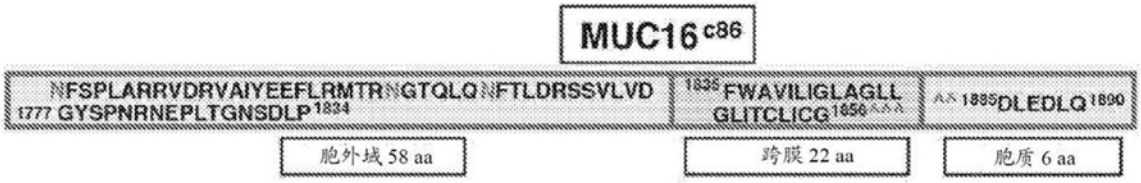


图1E

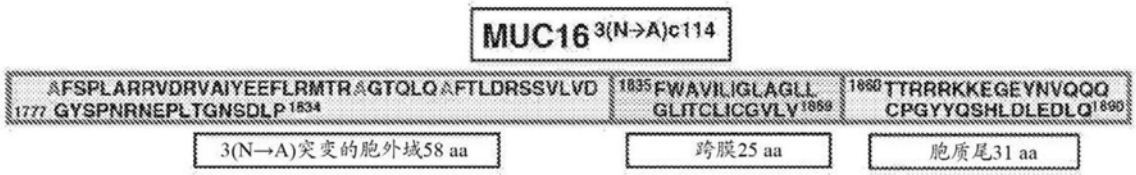


图1F

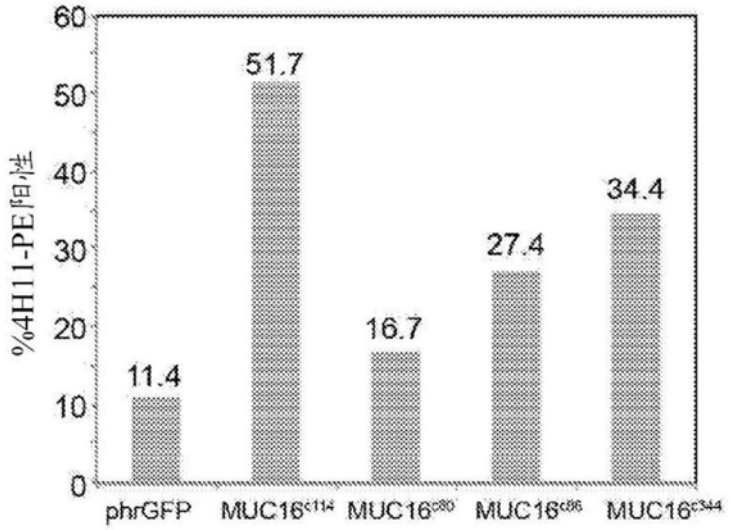

%4H11-PE阳性
60
50
40
30
20
10
0
51.7
34.4
27.4
16.7
11.4
phrGFP
MUC16c114
MUC16c80
MUC16c86
MUC16c344

图1G

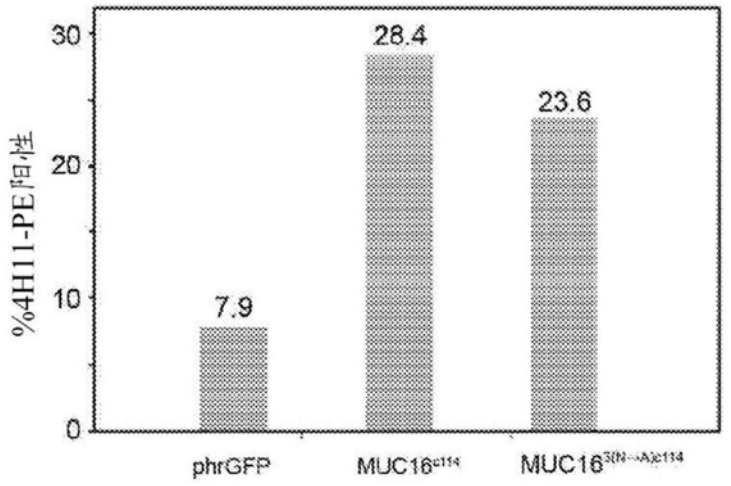

%4H11-PE阳性
30
20
10
0
28.4
23.6
7.9
phrGFP
MUC16c114
MUC16

图1H

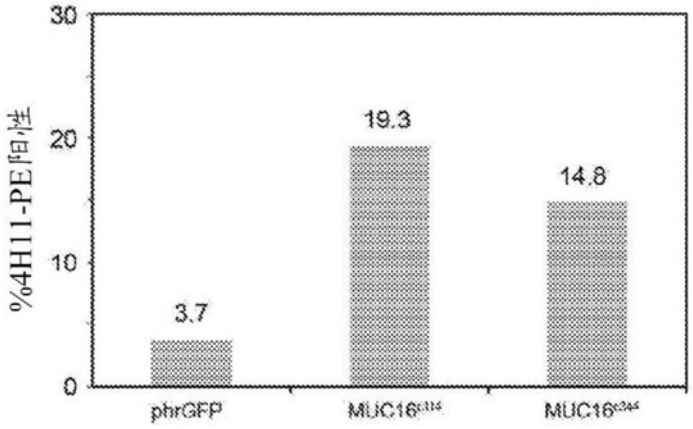

%4H11-PE阳性
30
20
10
0
19.3
14.8
3.7
phrGFP
MUC16c114
MUC16c344

图1I

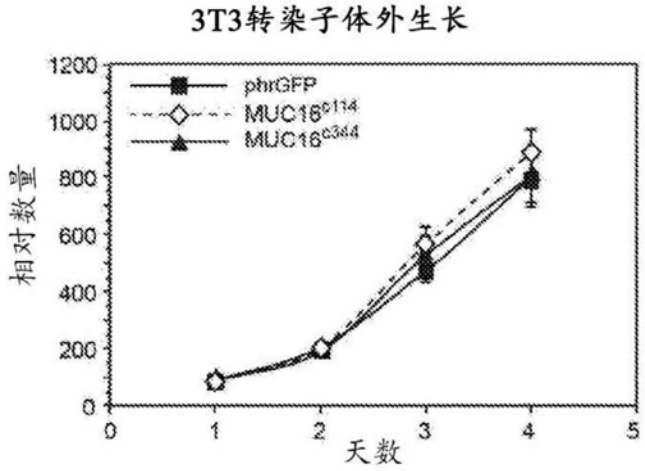

3T3转染子体外生长
相对数量
1200
1000
800
600
400
200
0
phrGFP
MUC16c114
MUC16c344
0
1
2
3
4
5
天数

图2A

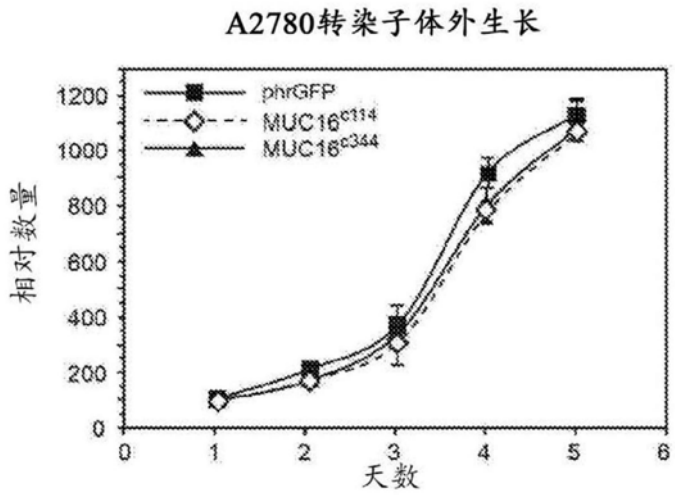

A2780转染子体外生长
相对数量
1200
1000
800
600
400
200
0
phrGFP
MUC16c114
MUC16c344
0
1
2
3
4
5
6
天数

图2B

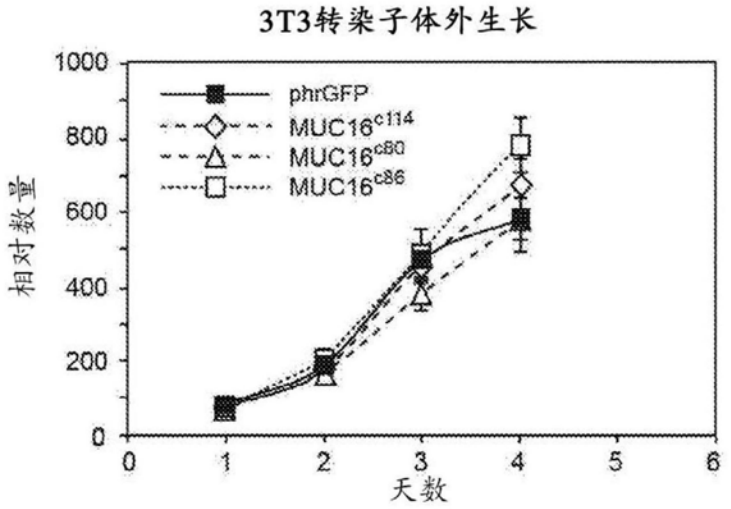

3T3转染子体外生长
1000
800
600
400
200
0
相对数量
phrGFP
MUC16c114
MUC16c80
MUC16c86
0
1
2
3
4
5
6
天数

图2C

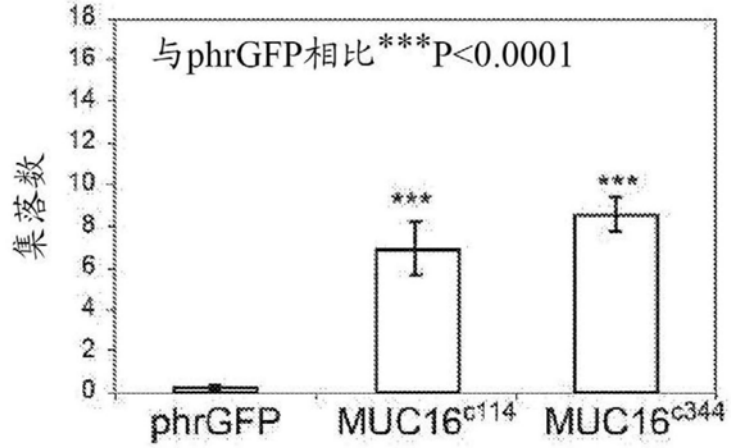

18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
集落数
与phrGFP相比***P<0.0001
***
***
phrGFP
MUC16c114
MUC16c344

图3A

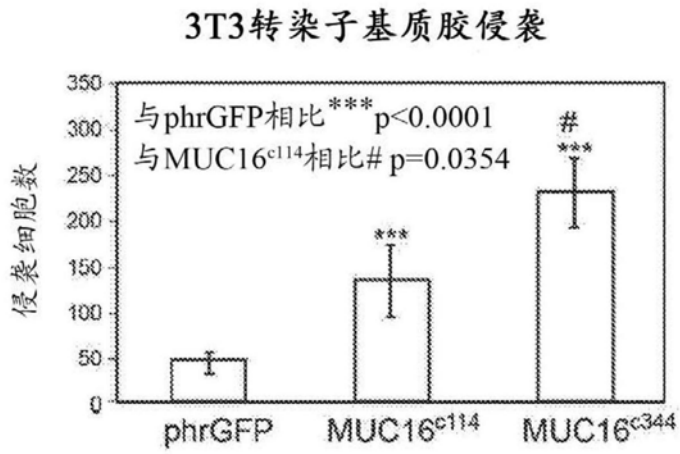


图3B

符号	3T3 phr相对于MUC16c114		3T3 phr相对于MUC16c344	
	P值	变化倍数	P值	变化倍数
CXCL12	0.0008	10.74	0.0071	3.48
NF2	0.0075	-1.31	0.0317	-1.28
FN1	0.0166	-3.06	0.0377	-2.20
CTBP1	0.0283	-1.76	0.2043	-1.36
SMAD4	0.0324	-2.42	0.1759	-1.34
CDH11	0.0790	2.73	0.0057	9.25
MMP2	0.1634	1.43	0.0445	1.86
MMP9	0.7675	1.03	0.0315	1.12

图3C

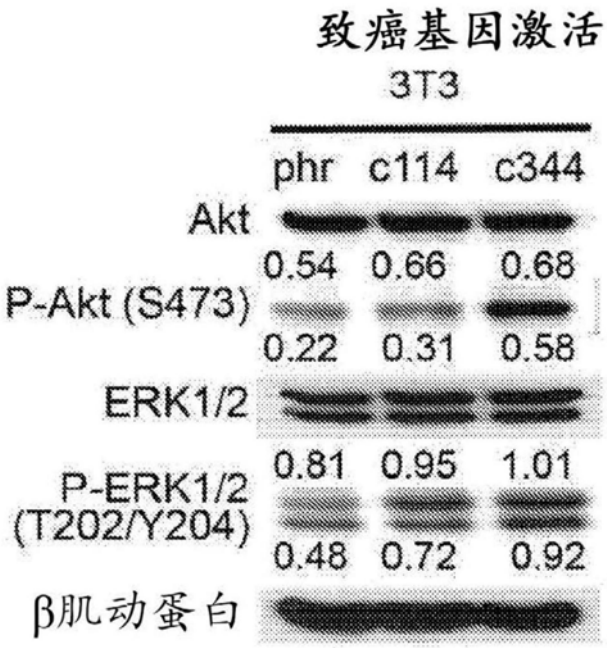

致癌基因激活
3T3
phr
c114
c344
Akt
0.54
0.66
0.68
P-Akt (S473)
0.22
0.31
0.58
ERK1/2
0.81
0.95
1.01
P-ERK1/2
(T202/Y204)
0.48
0.72
0.92
β肌动蛋白

图3D

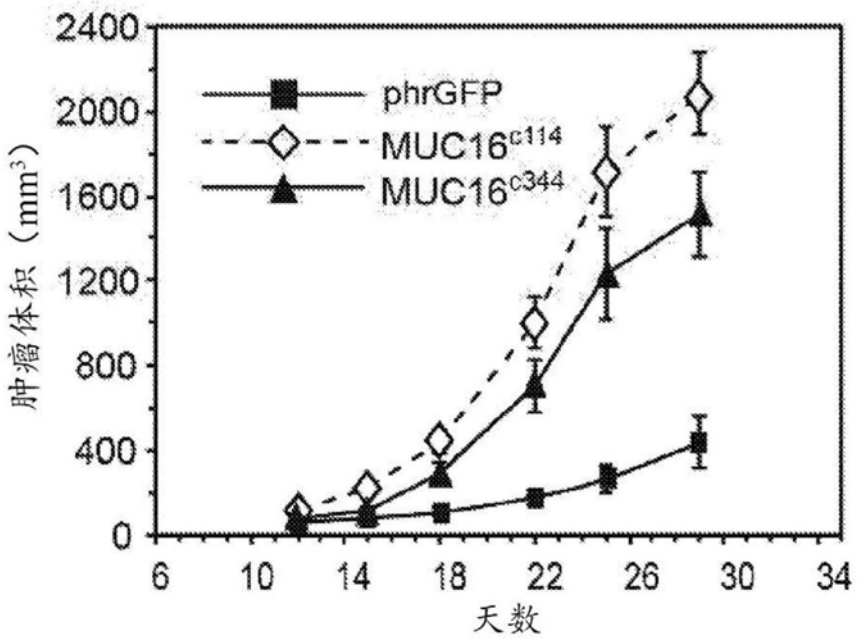

2400
2000
1600
1200
800
400
0
肿瘤体积（mm³）
phrGFP
MUC16c114
MUC16c344
6
10
14
18
22
26
30
34
天数

图3E

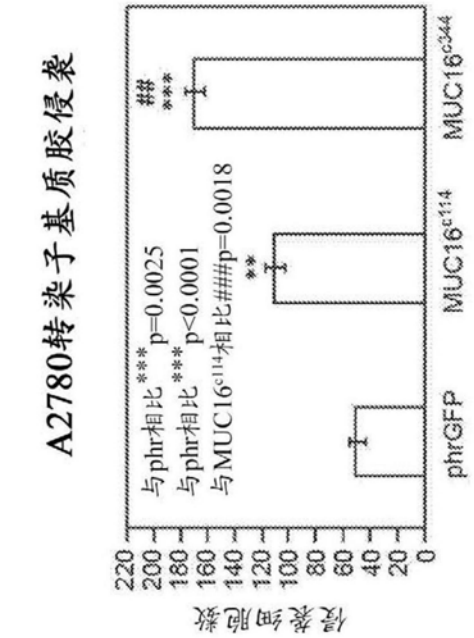

A2780转染子基质胶侵袭
侵袭细胞数
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
与phr相比*** p=0.0025
与phr相比*** p<0.0001
与MUC16c114相比###p=0.0018
**
###
***
***
phrGFP
MUC16c114
MUC16c344

图4A

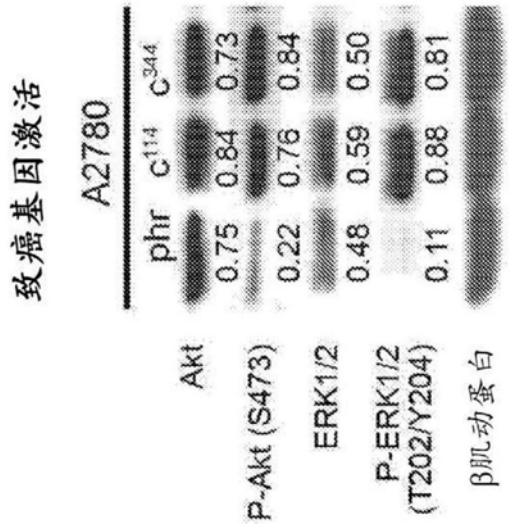

致癌基因激活
A2780
phr
c114
c344
Akt
0.75
0.84
0.73
P-Akt (S473)
0.22
0.76
0.84
ERK1/2
0.48
0.59
0.50
P-ERK1/2
(T202/Y204)
0.11
0.88
0.81
β肌动蛋白

图4B

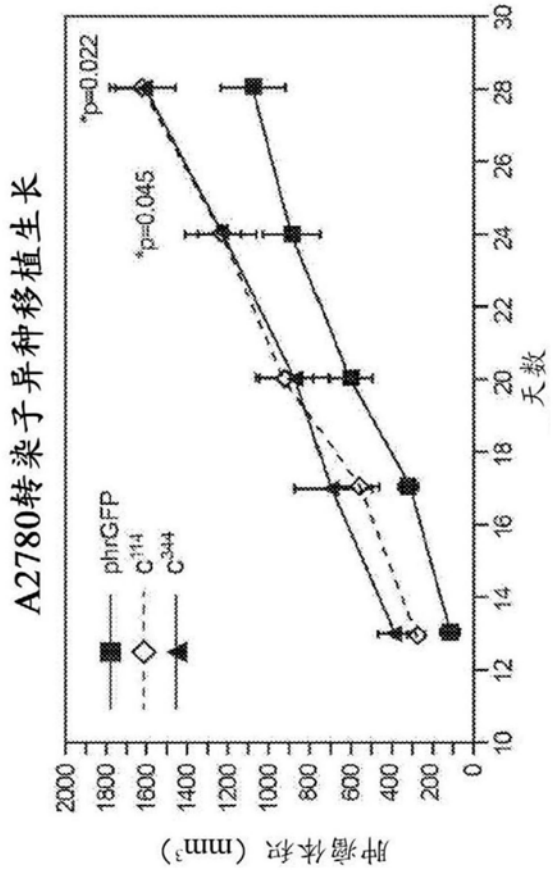

A2780转染子异种移植生长
*p=0.022
*p=0.045
phrGFP
c114
c344
肿瘤体积 (mm3)
天数
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30

图4C

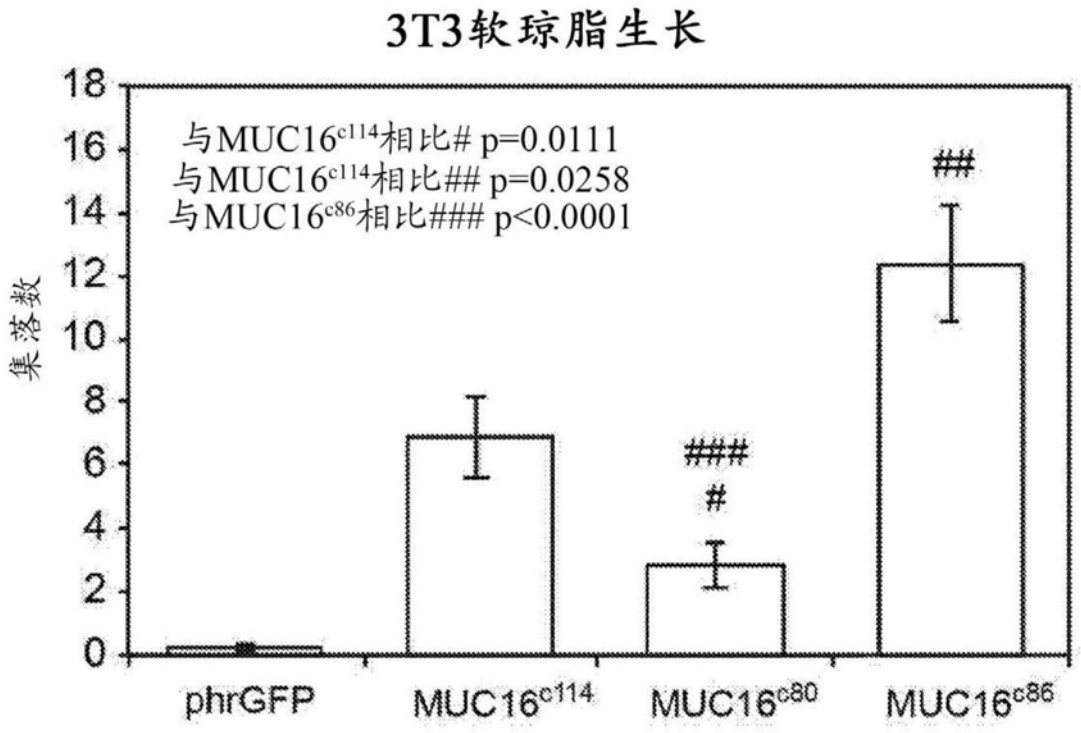

3T3软琼脂生长
集落数
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
与MUC16c114相比# p=0.0111
与MUC16c114相比## p=0.0258
与MUC16c86相比### p<0.0001
##
###
#
phrGFP
MUC16c114
MUC16c80
MUC16c86

图5A

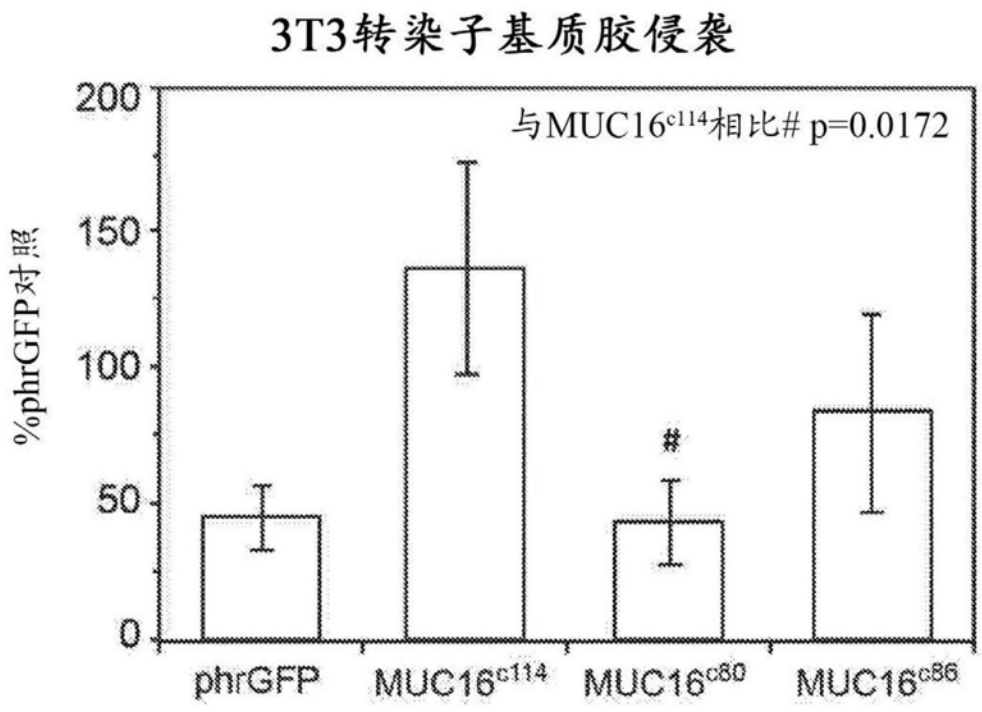

3T3转染子基质胶侵袭
%phrGFP对照
200
150
100
50
0
与MUC16c114相比# p=0.0172
#
phrGFP
MUC16c114
MUC16c80
MUC16c86

图5B

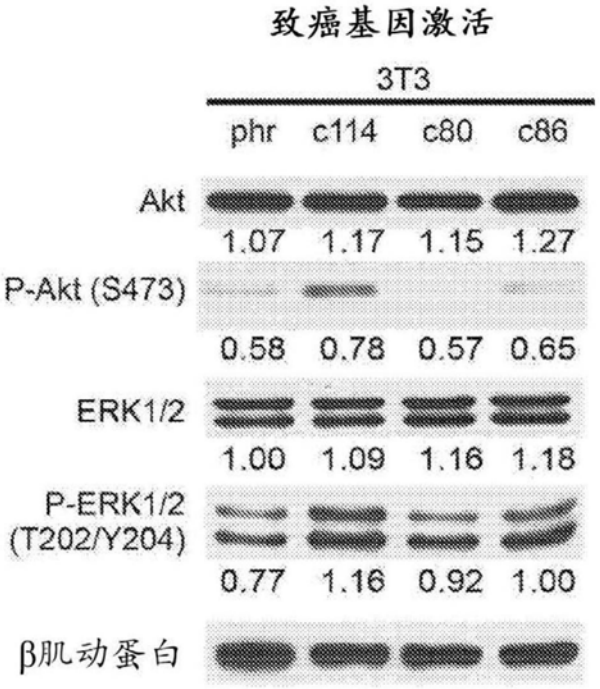

致癌基因激活
3T3
phr
c114
c80
c86
Akt
1.07 1.17 1.15 1.27
P-Akt (S473)
0.58 0.78 0.57 0.65
ERK1/2
1.00 1.09 1.16 1.18
P-ERK1/2
(T202/Y204)
0.77 1.16 0.92 1.00
β肌动蛋白

图5C

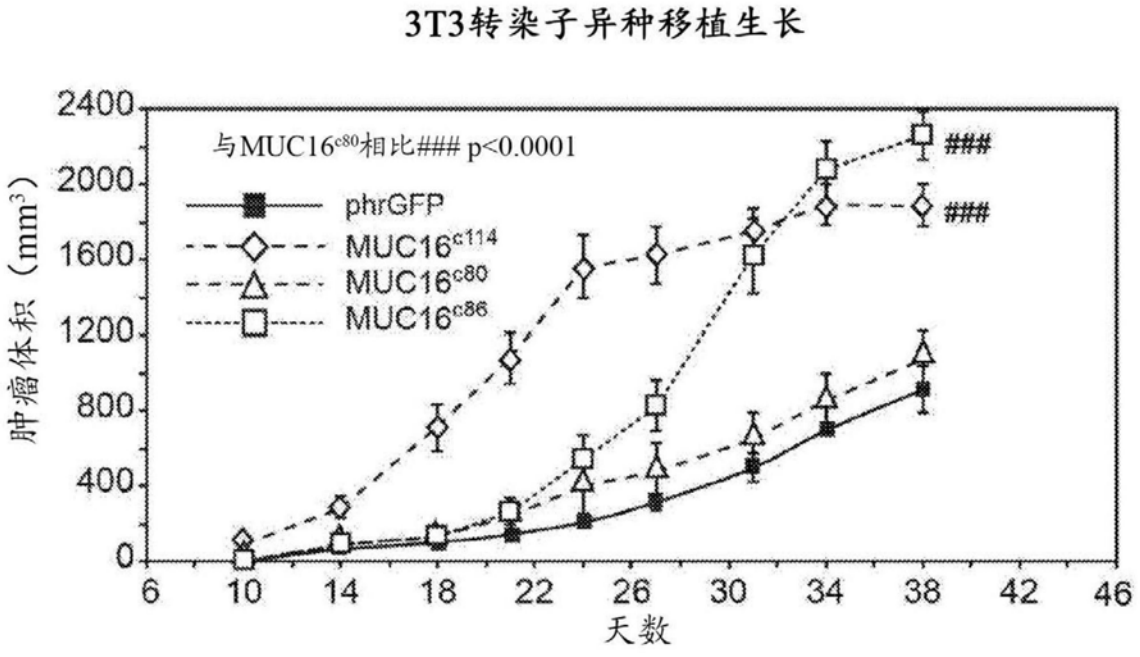

3T3转染子异种移植生长
与MUC16c80相比### p<0.0001
phrGFP
MUC16c114
MUC16c80
MUC16c86
###
###
肿瘤体积（mm3）
2400
2000
1600
1200
800
400
0
6
10
14
18
22
26
30
34
38
42
46
天数

图5D


MUC16c114构建体
1736
24 AA 缺失
NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSS 1813
1777
切割
1800
1806
MUC16c114构建体
1857
28 AA 缺失
1884
VLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ 1890
跨膜域
34 AA 缺失
1831
MUC16c114构建体

图6A

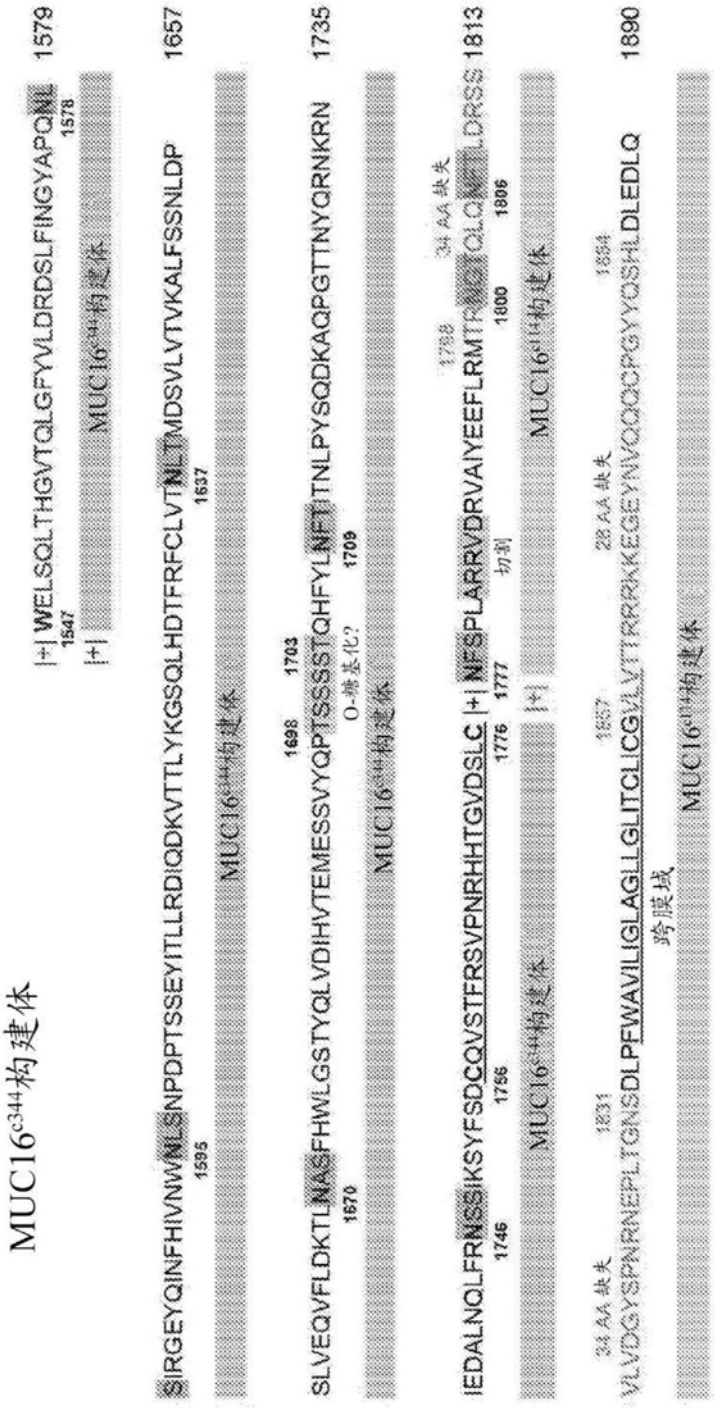

MUC16^e344构建体
|+| WELSQLTHGVTQLGFYVLDRDSLFINGYAPQNL 1579
1547 1578
|+| MUC16^e344构建体
SIRGEYQINFHIVNWNLSNPDPTSSEYITLLRDIQDKVTTLYKGSQLHDTFRFCLVTNLTMDSVLVTVKALFSSNLDP 1657
1595 1637
MUC16^e344构建体
1698 1703
SLVEQVFLDKTLNASFHWLGSTYQLVDIHVTEMESSVYQPTSSSSTQHFYLNFTITNLPYSQDKAQPGTTNYQRNKRN 1735
1670 O-糖基化? 1709
MUC16^e344构建体
1788 34 AA 缺失
IEDALNQLFRNSSIKSYFSDCQVSTFRSVPNRHHTGVDSLC |+| NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSS 1813
1746 1756 1776 1777 切割 1800 1806
MUC16^e344构建体 |+| MUC16^cTM构建体
34 AA 缺失 1831 1857 28 AA 缺失 1884
VLVDGYSPNRNEPLTGNSDLPFWAVILIGLAGLLGLITCLICGVLVTTRRRKKEGEYNVQQQCPGYYQSHLDLEDLQ 1890
跨膜域
MUC16^cTM构建体

图6B

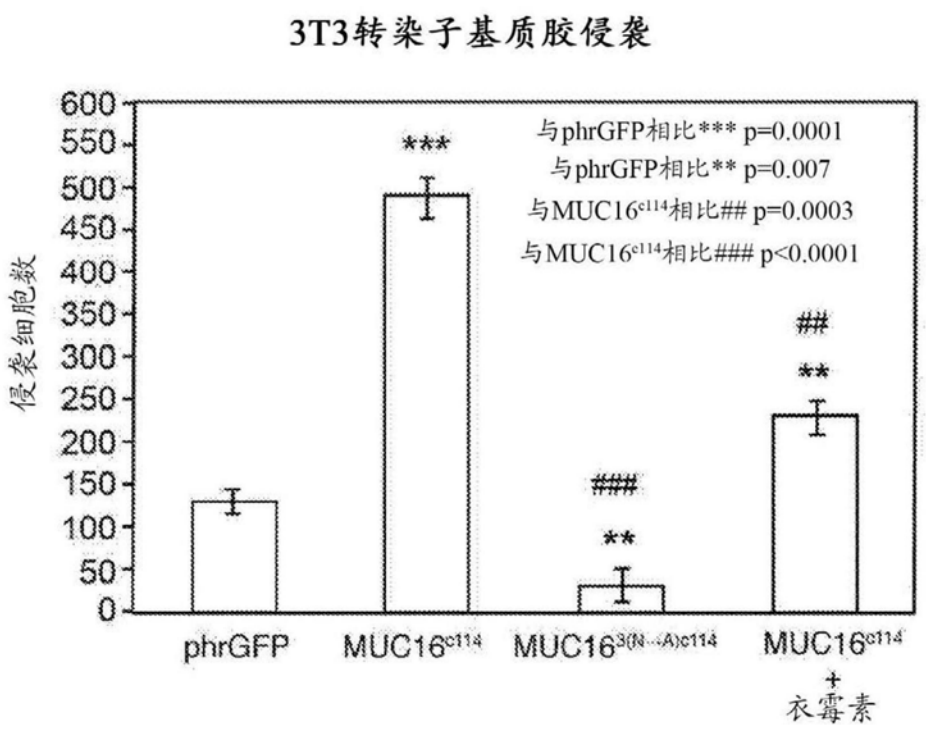

3T3转染子基质胶侵袭
侵袭细胞数
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
***
与phrGFP相比*** p=0.0001
与phrGFP相比** p=0.007
与MUC16c114相比## p=0.0003
与MUC16c114相比### p<0.0001
##
**
###
**
phrGFP
MUC16c114
MUC16
+
衣霉素

图7A

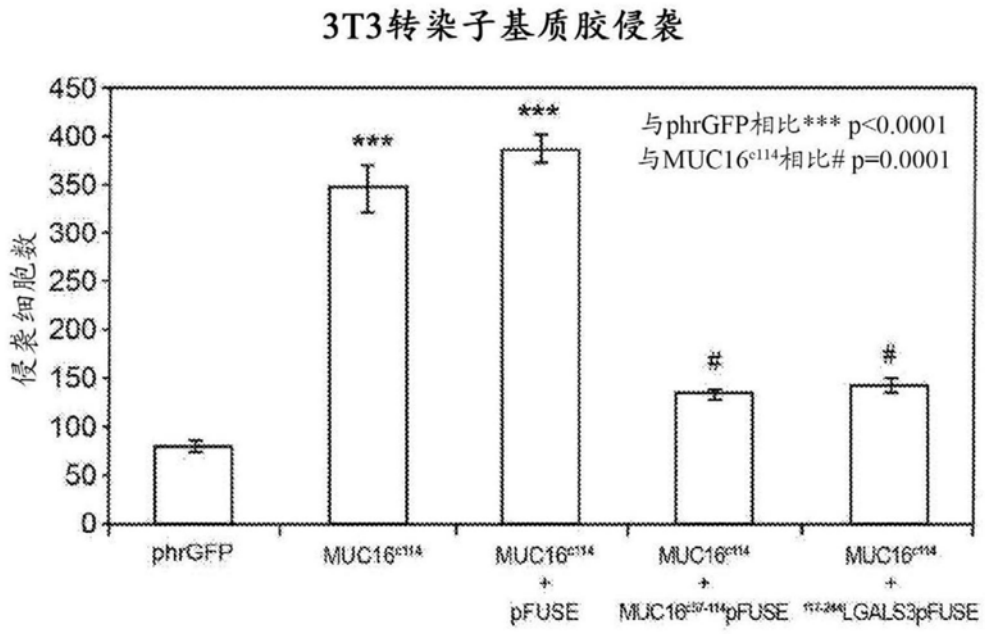

3T3转染子基质胶侵袭
侵袭细胞数
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
***
***
与phrGFP相比*** p<0.0001
与MUC16c114相比# p=0.0001
#
#
phrGFP
MUC16c114
MUC16c114
+
pFUSE
MUC16c114
+
pFUSE
MUC16c114
+

图7B

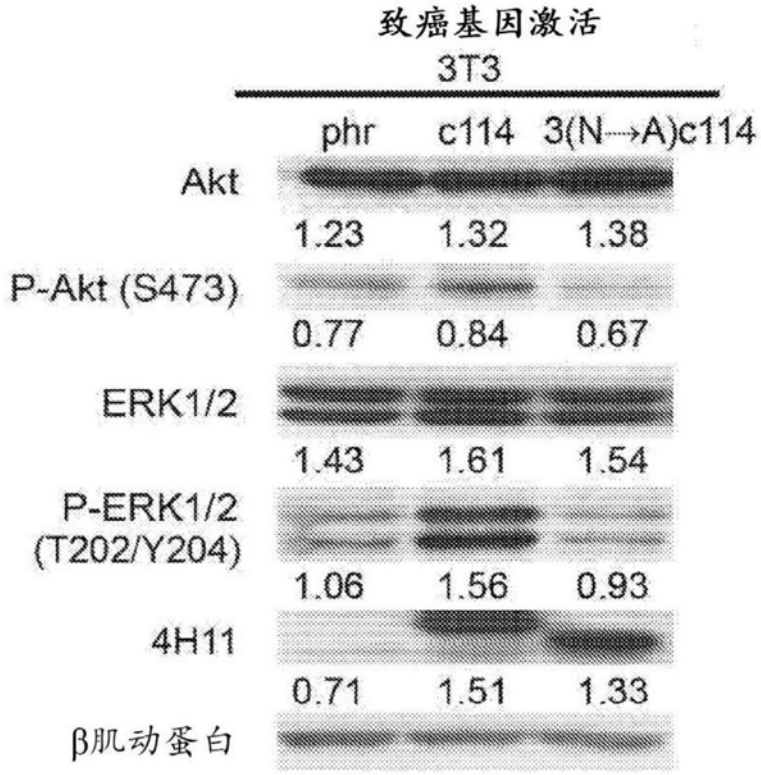

致癌基因激活
3T3
phr
c114
3(N→A)c114
Akt
1.23
1.32
1.38
P-Akt (S473)
0.77
0.84
0.67
ERK1/2
1.43
1.61
1.54
P-ERK1/2
(T202/Y204)
1.06
1.56
0.93
4H11
0.71
1.51
1.33
β肌动蛋白

图7C

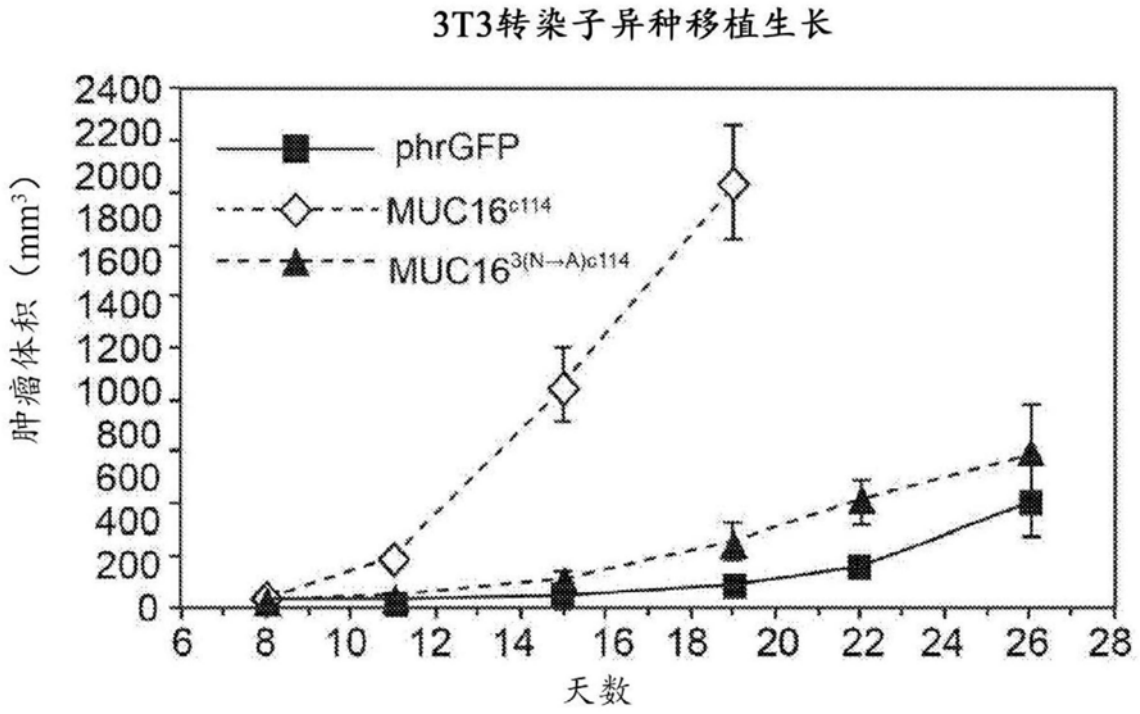

3T3转染子异种移植生长
phrGFP
MUC16c114
MUC163(N→A)c114
肿瘤体积（mm3）
天数
2400
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28

图7D

胞外域MUC16$^{c57-114}$构建体（58 aa）-pFUSE-人-IgG1-Fc2

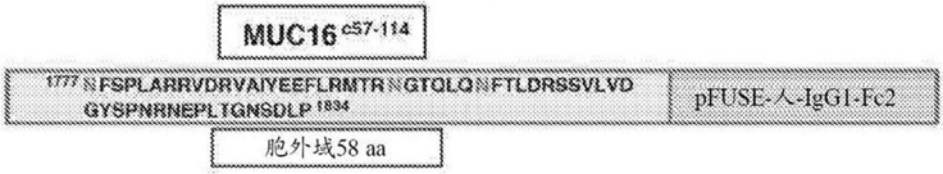


图7E

MUC16$^{c57-114}$-pFUSE-hIgG1-Fc2的293表达

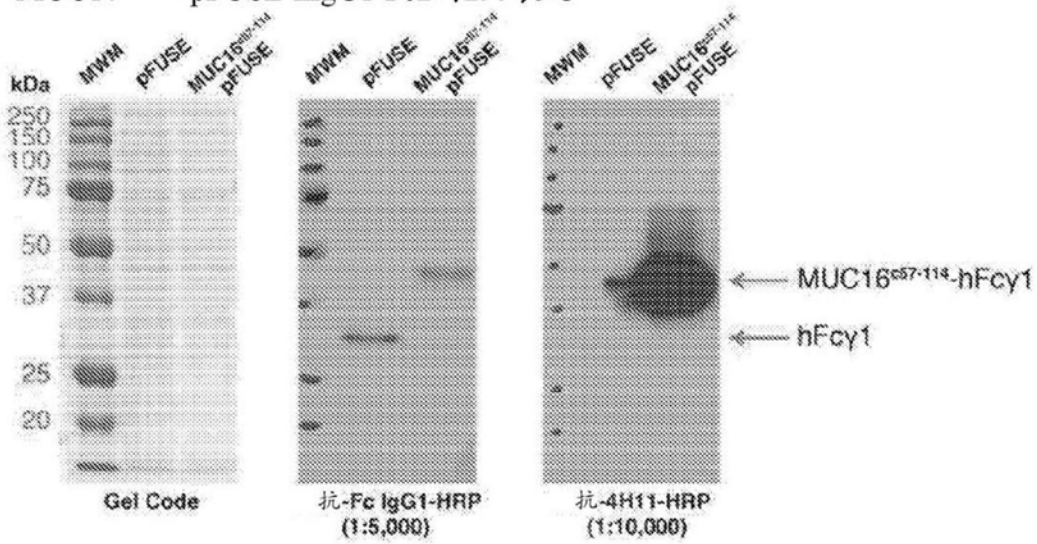


图7F

$^{117-244}$LGALS3糖结合蛋白（128 aa）-pFUSE-人-IgG1-Fc2



图7G

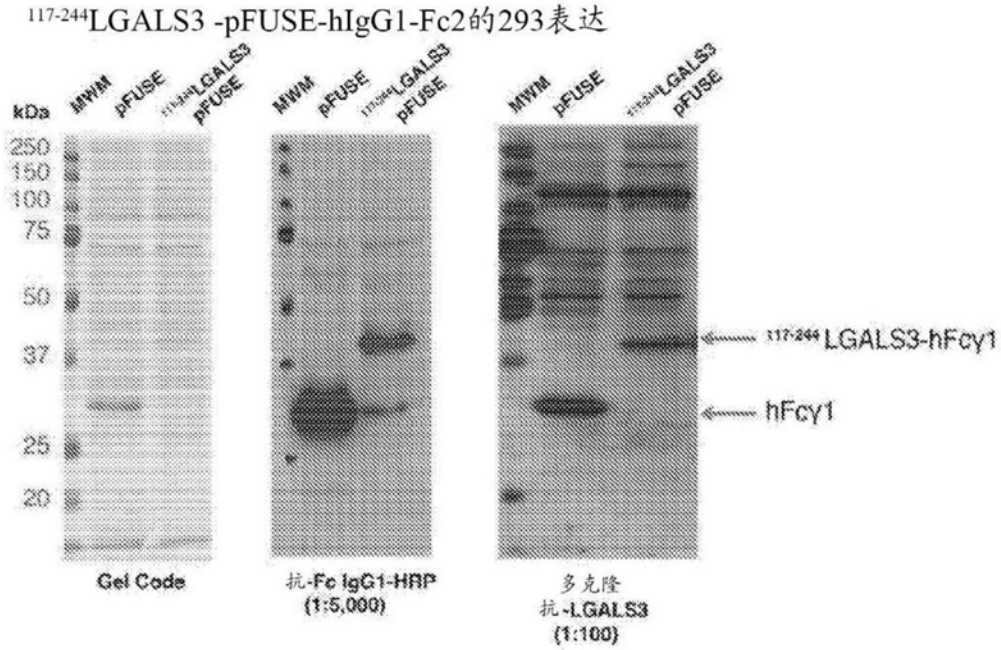


图7H

胞外域MUC16c57-114构建体（58 aa）-pFUSE-人-IgG1-Fc2

NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNSDLP - pFUSE-hIgG1-Fc2

117-244LGALS3糖结合蛋白（128 aa）

PYNLPLPGGVVPRMLITILGTVKPNANRIALDFQRGNDVAFHFNPRFNENNRRVIVCNTKLDNNWGRE
ERQSVFPFESGKPFKIQVLVEPDHFKVAVNDAHLLQYNHRVKKLNEISKLGISGDIDLTS - pFUSE-hIgG1-Fc2

图8

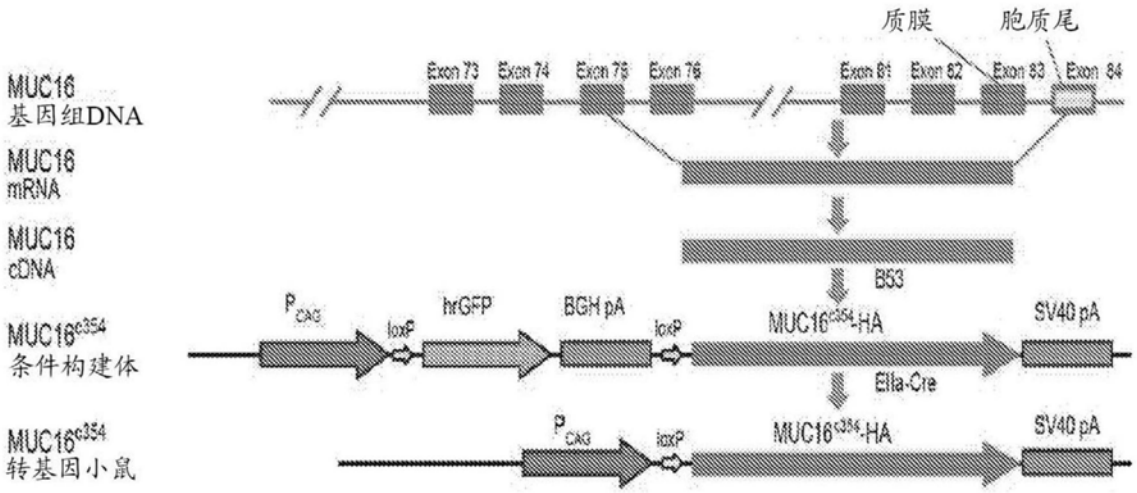

质膜
胞质尾
MUC16
基因组DNA
Exon 73
Exon 74
Exon 75
Exon 76
Exon 81
Exon 82
Exon 83
Exon 84
MUC16
mRNA
MUC16
cDNA
B53
MUC16c354
条件构建体
P CAG
loxP
hrGFP
BGH pA
loxP
MUC16c354-HA
SV40 pA
Ella-Cre
MUC16c354
转基因小鼠
P CAG
loxP
MUC16c354-HA
SV40 pA

图9A

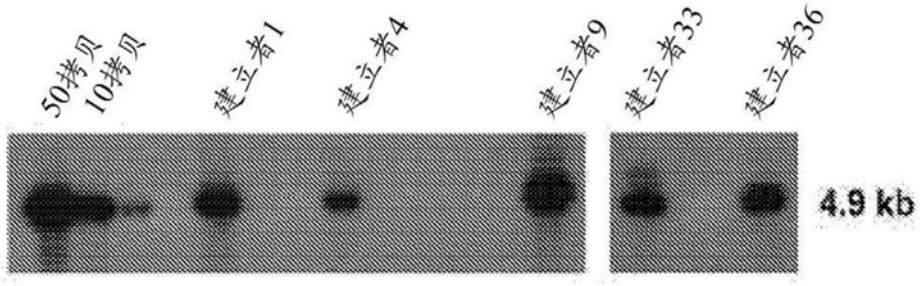

50拷贝
10拷贝
建立者1
建立者4
建立者9
建立者33
建立者36
4.9 kb

图9B

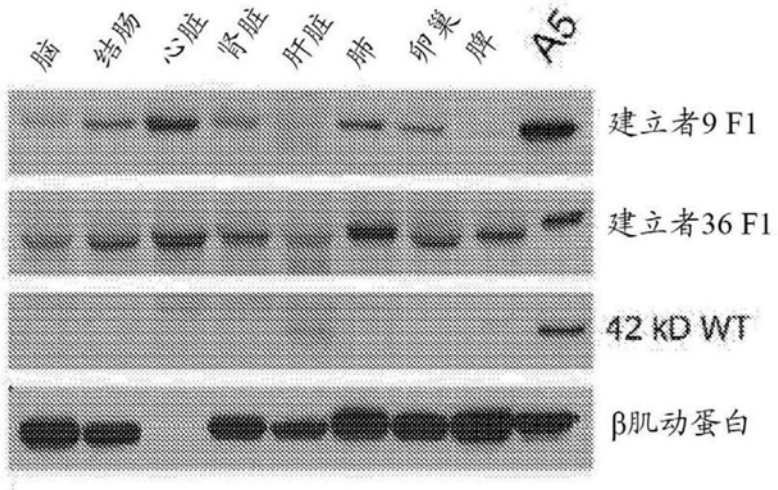

脑
结肠
心脏
肾脏
肝脏
肺
卵巢
脾
A5
建立者9 F1
建立者36 F1
42 kD WT
β肌动蛋白

图9C

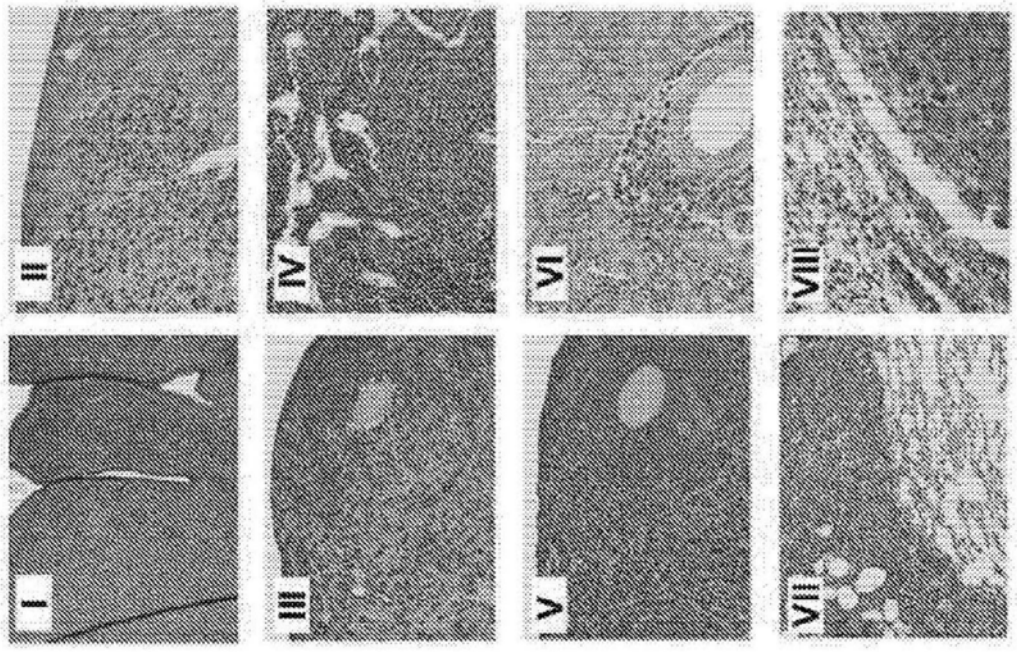

I
II
III
IV
V
VI
VII
VIII

图9D

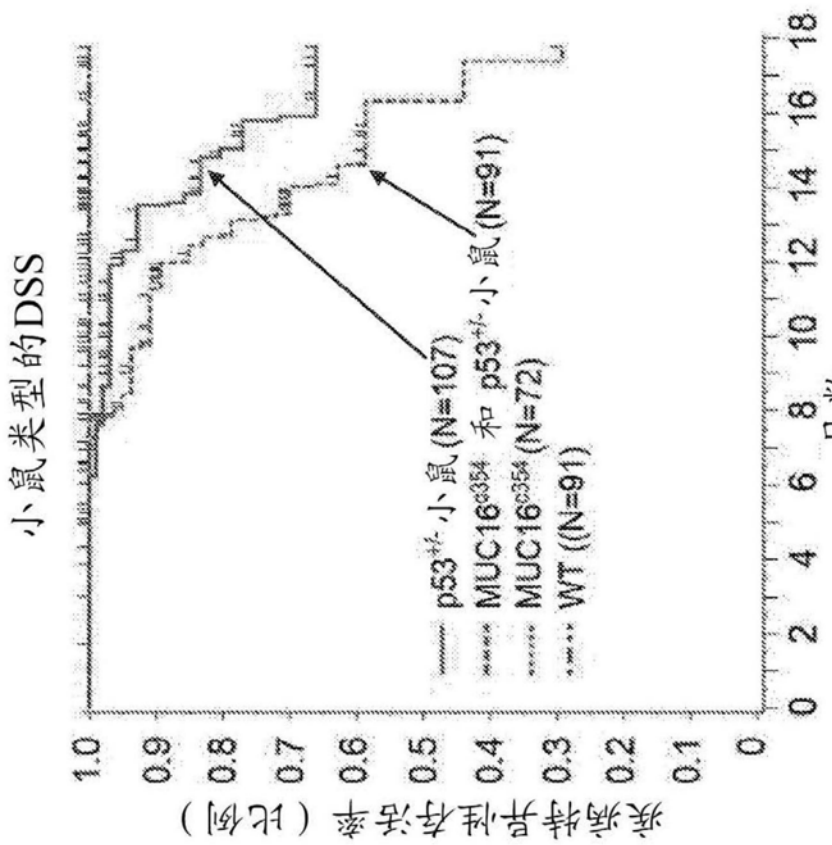

小鼠类型的DSS
疾病特异性存活率（比例）
月数
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1.0
p53+/- 小鼠(N=107)
MUC16ex34 和 p53+/- 小鼠(N=91)
MUC16ex34(N=72)
WT ((N=91)

图9E

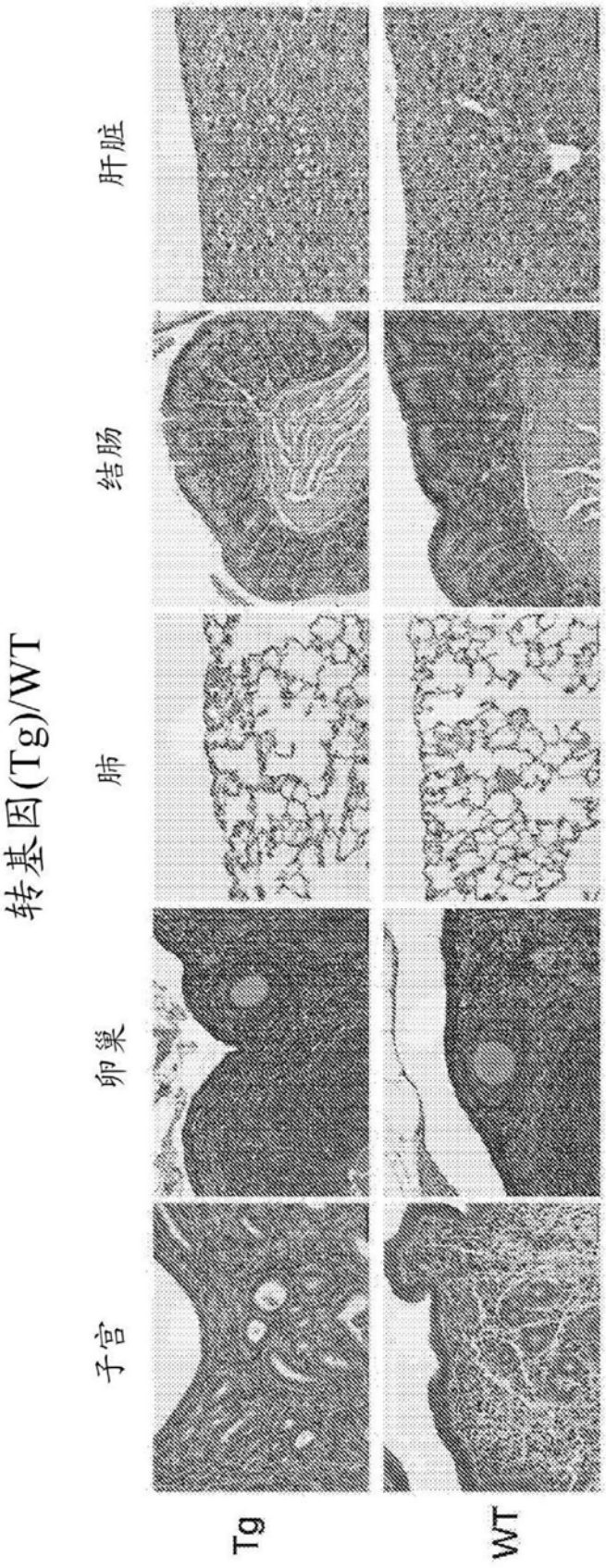


图10

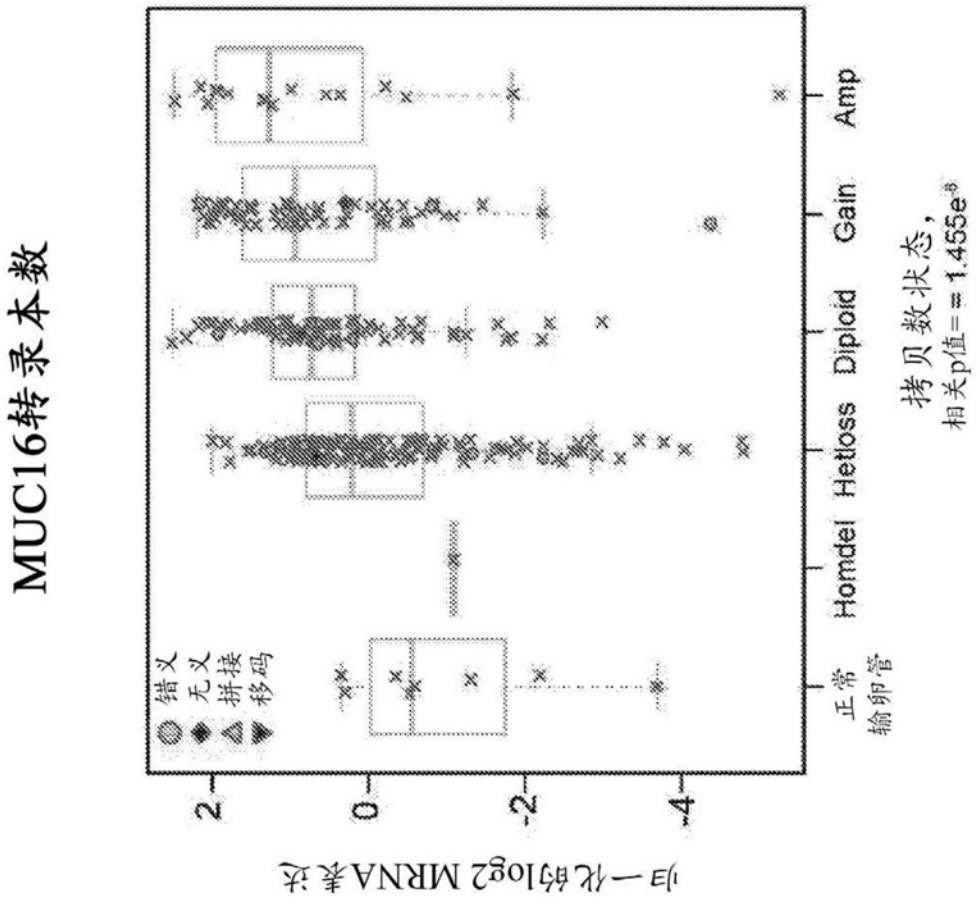

MUC16转录本数
错义
无义
拼接
移码
2
0
-2
-4
正常
输卵管
Homdel
Hetloss
Diploid
Gain
Amp
拷贝数状态，
相关p值= = 1.455e-8

图11A

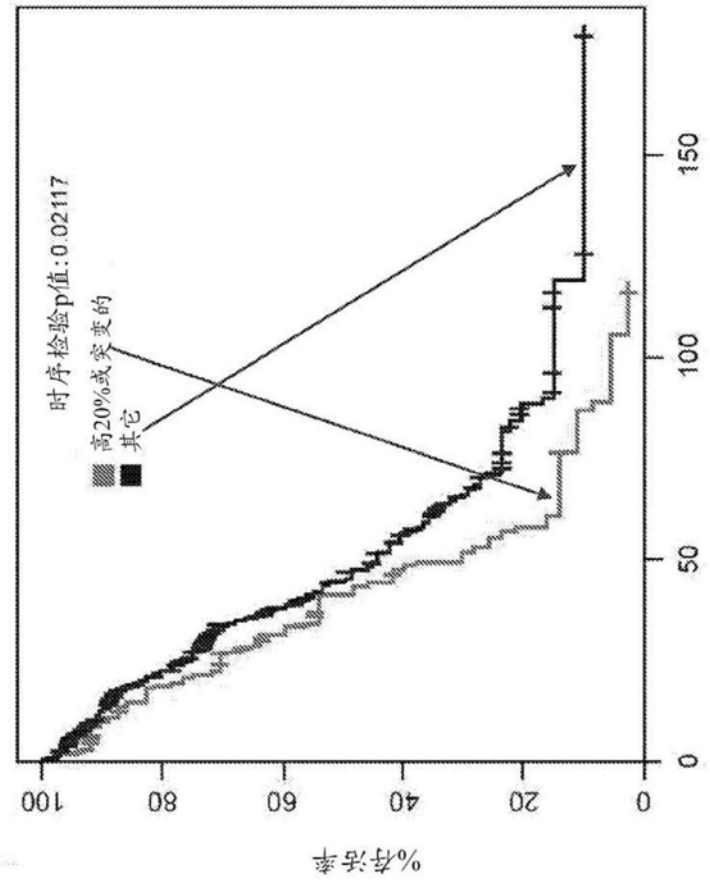


图11B



图11C

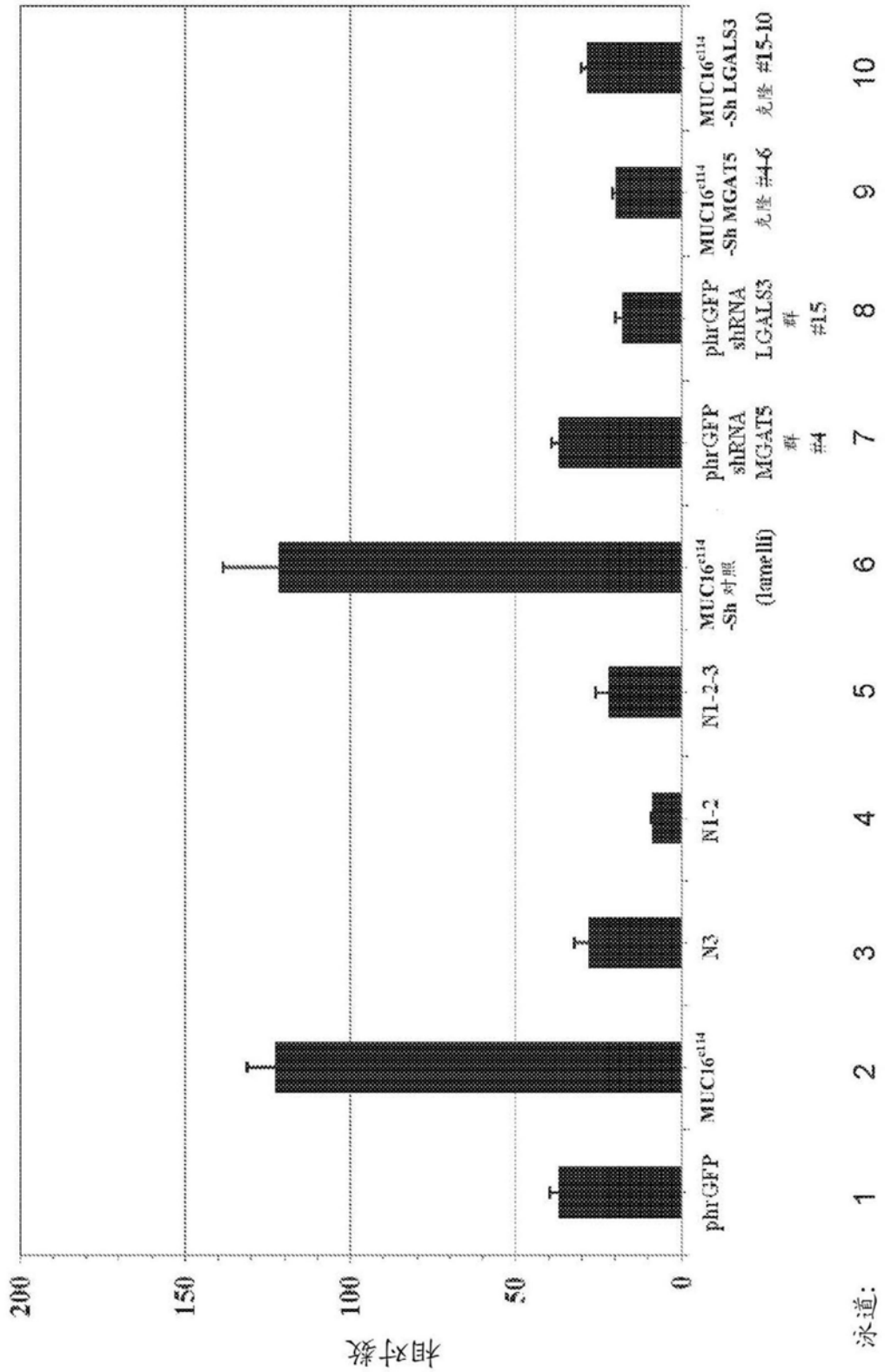

相对数
200
150
100
50
0
泳道:
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
phrGFP
MUC16ec114
N3
N1-2
N1-2-3
MUC16ec114 -Sh 对照 (lamelli)
phrGFP shRNA MGAT5 群 #4
phrGFP shRNA LGALS3 群 #15
MUC16ec114 -Sh MGAT5 克隆 #4-6
MUC16ec114 -Sh LGALS3 克隆 #15-10

图12A

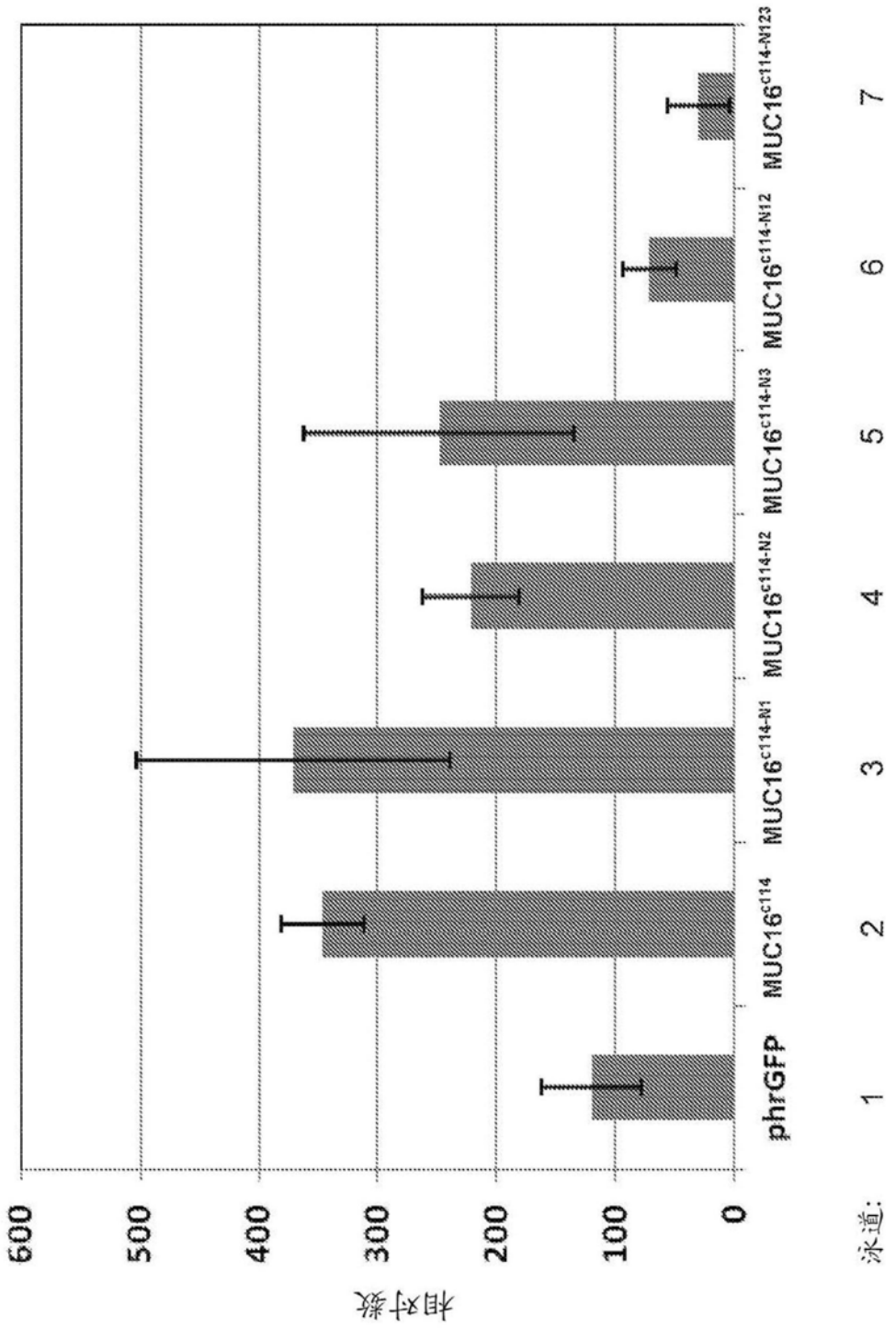

600
500
400
300
200
100
0
相对数
泳道:
1
2
3
4
5
6
7
phrGFP
MUC16c114
MUC16c114-N1
MUC16c114-N2
MUC16c114-N3
MUC16c114-N12
MUC16c114-N123

图12B

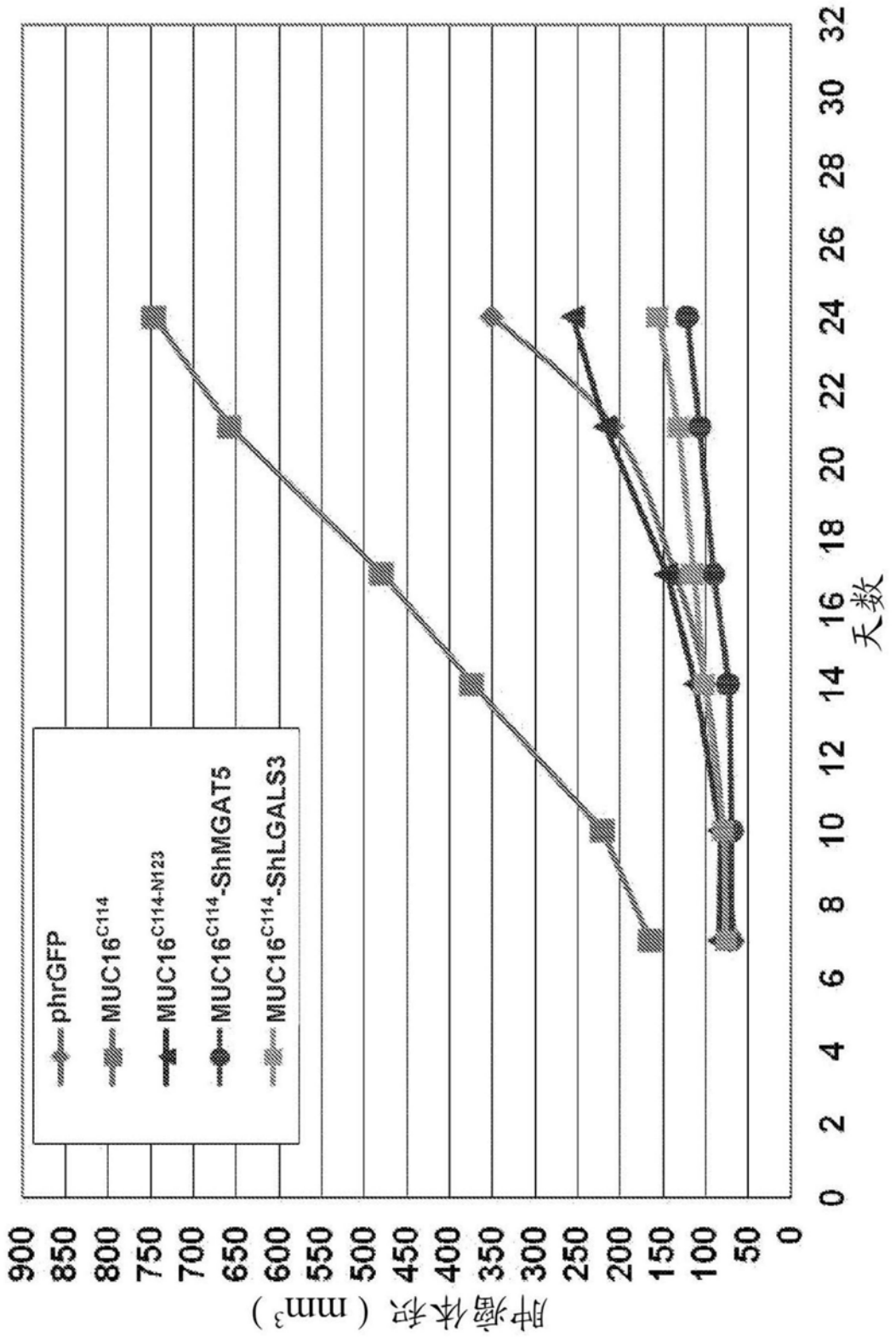
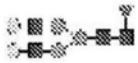

phrGFP
MUC16C114
MUC16C114-N123
MUC16C114-ShMGAT5
MUC16C114-ShLGALS3
肿瘤体积（mm3）
天数
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
550
600
650
700
750
800
850
900
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
32

图12C

观察到的 m/z	载荷状态	结构分配		质量 [M+Na]+	强度/载荷状态	聚糖 %
1142	1	M2N2F		1142	1.02E+03	32.47%
1170	1	M3N2		1171	3.56E+02	11.33%
1346	1	M3N2F		1345	4.18E+02	13.30%
1376	1	M4N2		1376	1.91E+02	6.08%
1580	1	M5N2		1580	3.78E+02	12.03%
1784	1	M6N2		1784	8.68E+01	2.76%
1988	1	M7N2		1988	3.70E+01	1.18%
1134	2	Gal2N2M3N2F		2244	1.91E+02	6.06%
1228	2	NeuAc1Gal2N2M3N2		2431	1.50E+02	4.76%
1316	2	NeuAc1Gal2N2M3N2F		2605	1.65E+02	5.25%
1408	2	NeuAc2Gal2N2M3N2		2792	7.70E+01	2.45%
1496	2	NeuAc1Gal2N2M3N2F		2966	7.30E+01	2.32%
				总量	3.14E+03	100.00%

图例

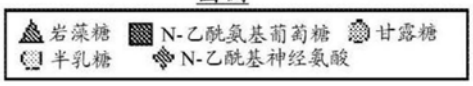


图13A

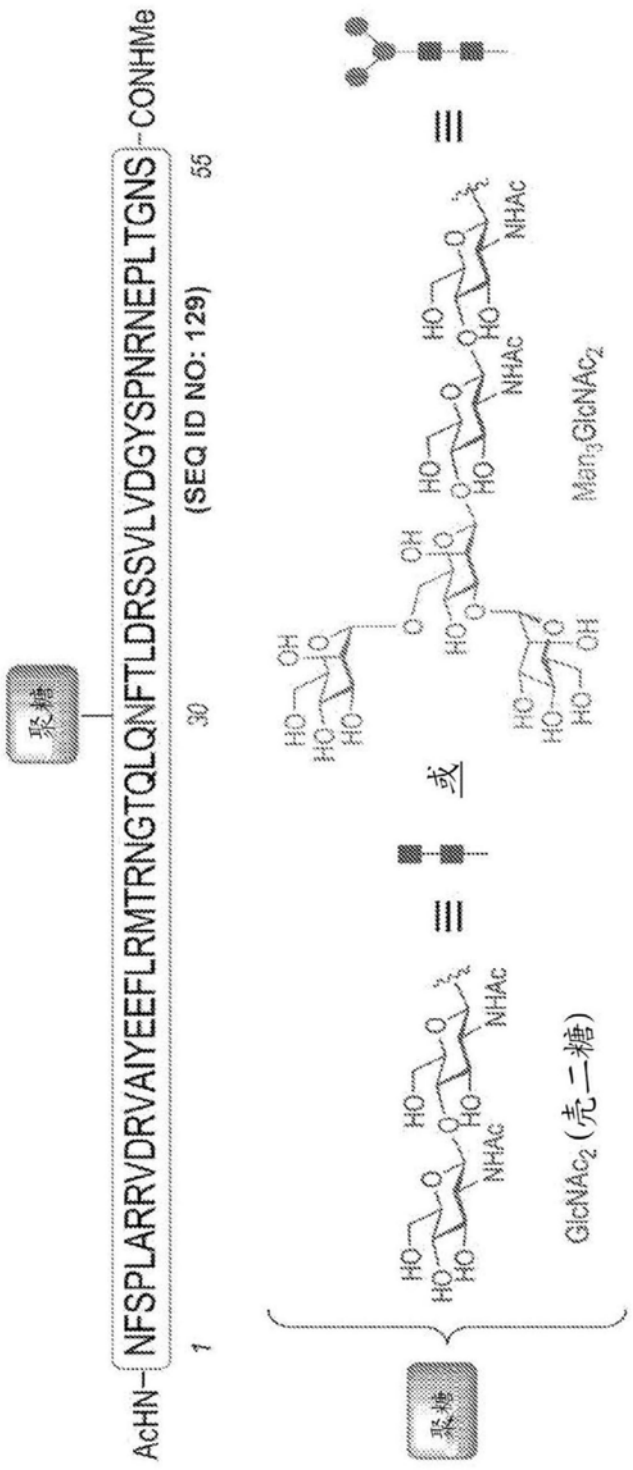

AcHN–NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNS–CONHMe
1
30
55
(SEQ ID NO: 129)
聚糖
聚糖
或
GlcNAc2 (壳二糖)
Man3GlcNAc2
NHAc
OH
HO

图13B

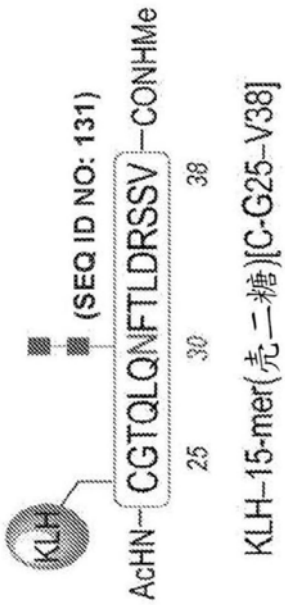

KLH
(SEQ ID NO: 131)
AcHN—CGTQLQNFTLDRSSV—CONHMe
25 30 38
KLH–15-mer(壳二糖)[C-G25–V38]

图13C

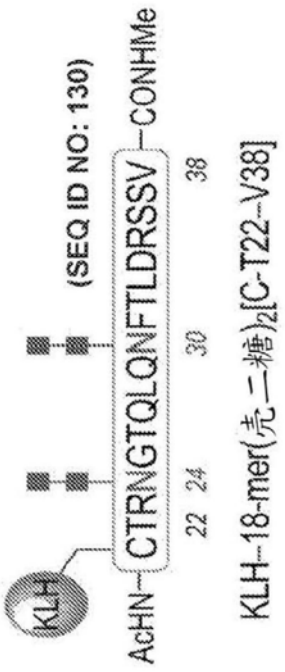
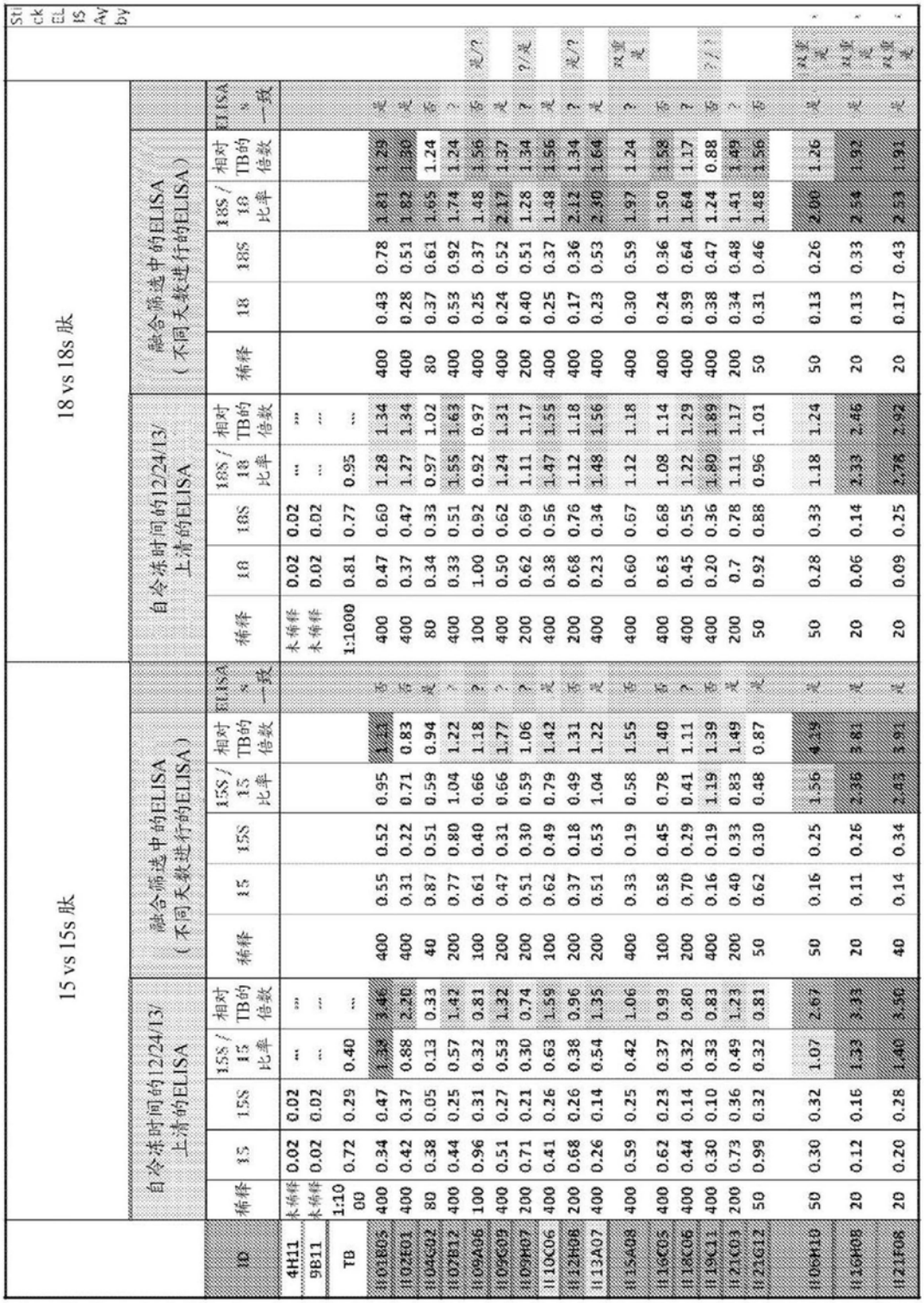

KLH
(SEQ ID NO: 130)
AcHN—CTRNGTQLQNFTLDRSSV—CONHMe
22 24 30 38
KLH–18-mer(壳二糖)2[C-T22–V38]

图13D



		15 vs 15s 肽									18 vs 18s 肽									
		自冷冻时间的12/24/13/上清的ELISA				融合筛选中的ELISA（不同天数进行的ELISA）					自冷冻时间的12/24/13/上清的ELISA				融合筛选中的ELISA（不同天数进行的ELISA）				
ID		稀释	15	15S	15S / 15 比率	相对TB的倍数	稀释	15	15S	15S / 15 比率	相对TB的倍数	ELISA 一致	稀释	18	18S	18S / 18 比率	相对TB的倍数	ELISA 一致	Stick ELISA by
4H11		未稀释	0.02	0.02	...	...							未稀释	0.02	0.02	...	...		
9B11		未稀释	0.02	0.02	...	...							未稀释	0.02	0.02	...	...		
TB		1:1000	0.72	0.29	0.40	...							1:1000	0.81	0.77	0.95	...		
1101B05		400	0.34	0.47	1.38	3.46	400	0.55	0.52	0.95	1.21	否	400	0.47	0.60	1.28	1.34	是	
1102E01		400	0.42	0.37	0.88	2.20	400	0.31	0.22	0.71	0.83	否	400	0.37	0.47	1.27	1.34	是	
1104G02		80	0.38	0.05	0.13	0.33	40	0.87	0.51	0.59	0.94	是	80	0.34	0.33	0.97	1.02	否	
1107B12		400	0.44	0.25	0.57	1.42	200	0.77	0.80	1.04	1.22	?	400	0.33	0.51	1.55	1.63	?	
1109A06		100	0.96	0.31	0.32	0.81	100	0.61	0.40	0.66	1.18	?	100	1.00	0.92	0.92	0.97	否	是/?
1109C09		400	0.51	0.27	0.53	1.32	200	0.47	0.31	0.66	1.77	?	400	0.50	0.62	1.24	1.31	是	
1109H07		200	0.71	0.21	0.30	0.74	200	0.51	0.30	0.59	1.06	?	200	0.62	0.69	1.11	1.17	?	?/是
1110C06		400	0.41	0.26	0.63	1.59	100	0.62	0.49	0.79	1.42	是	400	0.38	0.56	1.47	1.55	是	
1112H08		200	0.68	0.26	0.38	0.96	200	0.37	0.18	0.49	1.31	否	200	0.68	0.76	1.12	1.18	?	是/?
1113A07		400	0.26	0.14	0.54	1.35	200	0.51	0.53	1.04	1.22	是	400	0.23	0.34	1.48	1.56	是	
1115A08		400	0.59	0.25	0.42	1.06	400	0.33	0.19	0.58	1.55	否	400	0.60	0.67	1.12	1.18	是	
1116C05		400	0.62	0.23	0.37	0.93	100	0.58	0.45	0.78	1.40	否	400	0.63	0.68	1.08	1.14	否	
1118C06		400	0.44	0.14	0.32	0.80	200	0.70	0.29	0.41	1.11	?	400	0.45	0.55	1.22	1.29	?	
1119C11		400	0.30	0.10	0.33	0.83	400	0.16	0.19	1.19	1.39	否	400	0.20	0.36	1.80	1.89	否	?/?
1121C03		200	0.73	0.36	0.49	1.23	200	0.40	0.33	0.83	1.49	是	200	0.7	0.78	1.11	1.17	?	
1121G12		50	0.99	0.32	0.32	0.81	50	0.62	0.30	0.48	0.87	是	50	0.92	0.88	0.96	1.01	否	
1106H10		50	0.30	0.32	1.07	2.67	50	0.16	0.25	1.56	4.19	是	50	0.28	0.33	1.18	1.24	是	是/是
1116H08		20	0.12	0.16	1.33	3.33	20	0.11	0.26	2.36	3.81	是	20	0.06	0.14	2.33	2.46	是	是/是
1121F08		20	0.20	0.28	1.40	3.50	40	0.14	0.34	2.43	3.91	是	20	0.09	0.25	2.78	2.92	是	是/是

图14

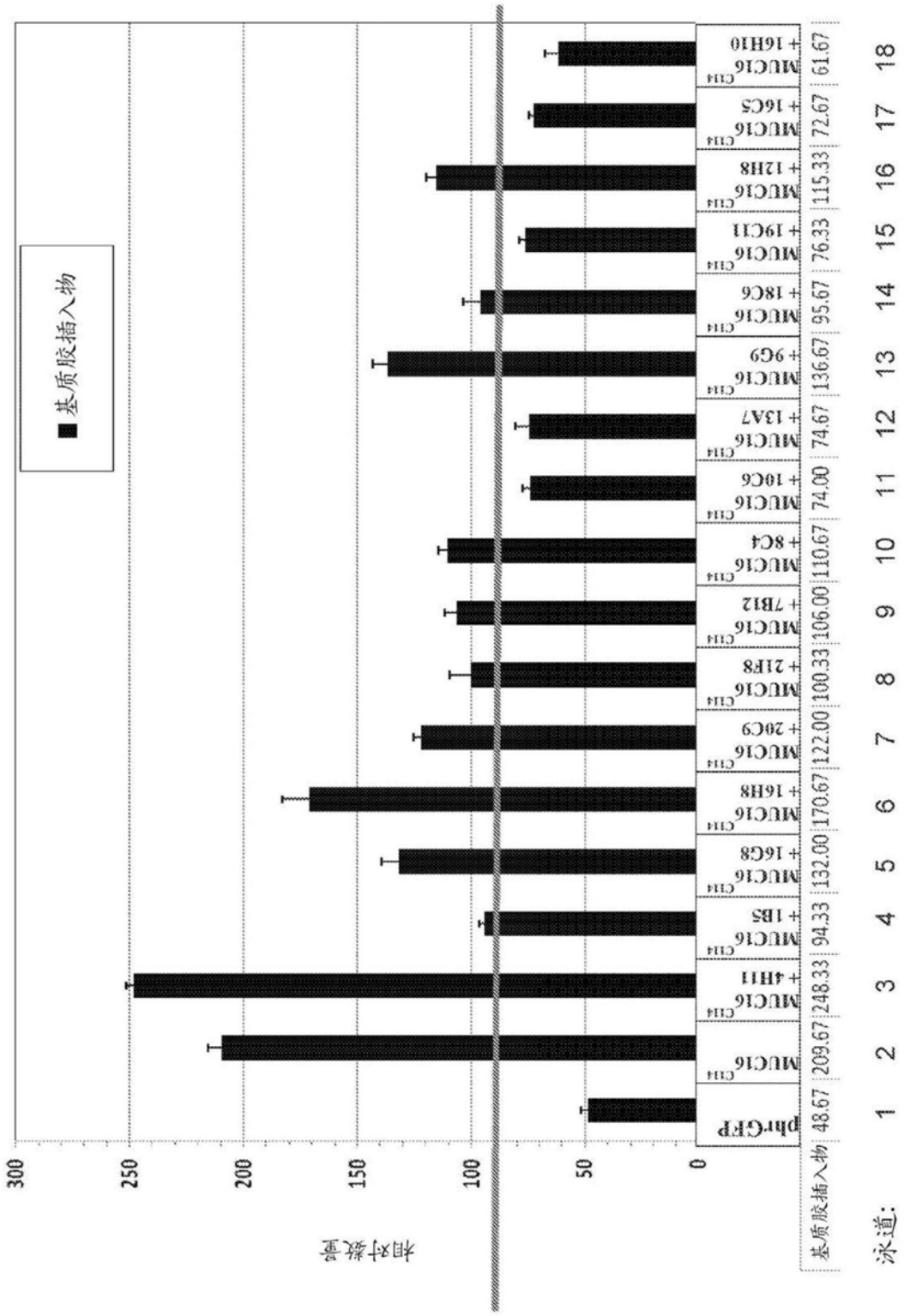

基质胶插入物
相对数量
300
250
200
150
100
50
0
泳道:
基质胶插入物 48.67
phrGFP 209.67
MUC16CD44 248.33
MUC16CD44 + 4H11 94.33
MUC16CD44 + 1B5 132.00
MUC16CD44 + 16G8 170.67
MUC16CD44 + 16H8 122.00
MUC16CD44 + 20C9 100.33
MUC16CD44 + 21F8 106.00
MUC16CD44 + 7B12 110.67
MUC16CD44 + 8C4 74.00
MUC16CD44 + 10C6 74.67
MUC16CD44 + 13A7 136.67
MUC16CD44 + 9G9 95.67
MUC16CD44 + 18C6 76.33
MUC16CD44 + 19C11 115.33
MUC16CD44 + 12H8 72.67
MUC16CD44 + 16C5 61.67
MUC16CD44 + 16H10
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

图15A

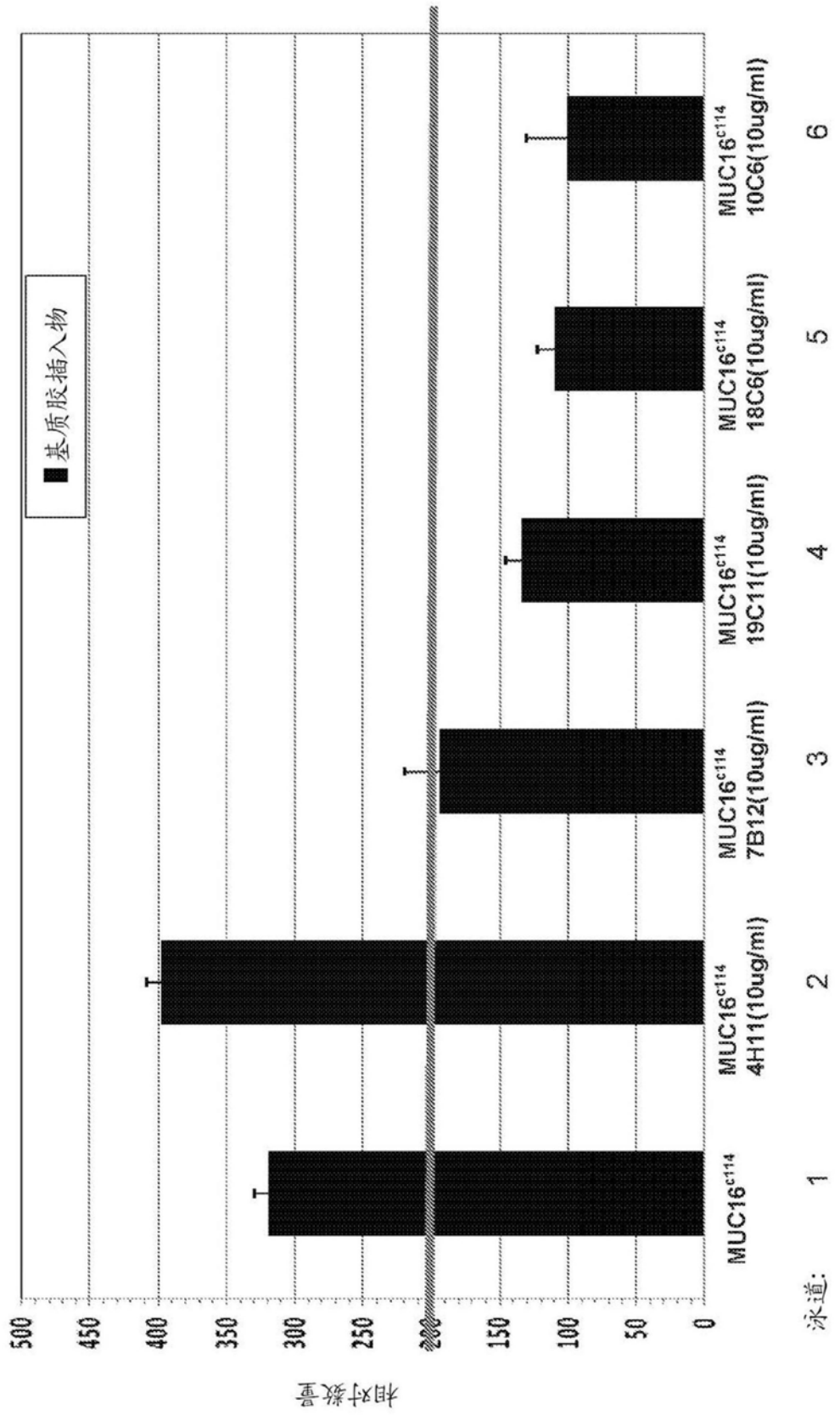

基质胶插入物
相对数量
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
泳道:
1
2
3
4
5
6
MUC16c114
MUC16c114 4H11(10ug/ml)
MUC16c114 7B12(10ug/ml)
MUC16c114 19C11(10ug/ml)
MUC16c114 18C6(10ug/ml)
MUC16c114 10C6(10ug/ml)

图15B

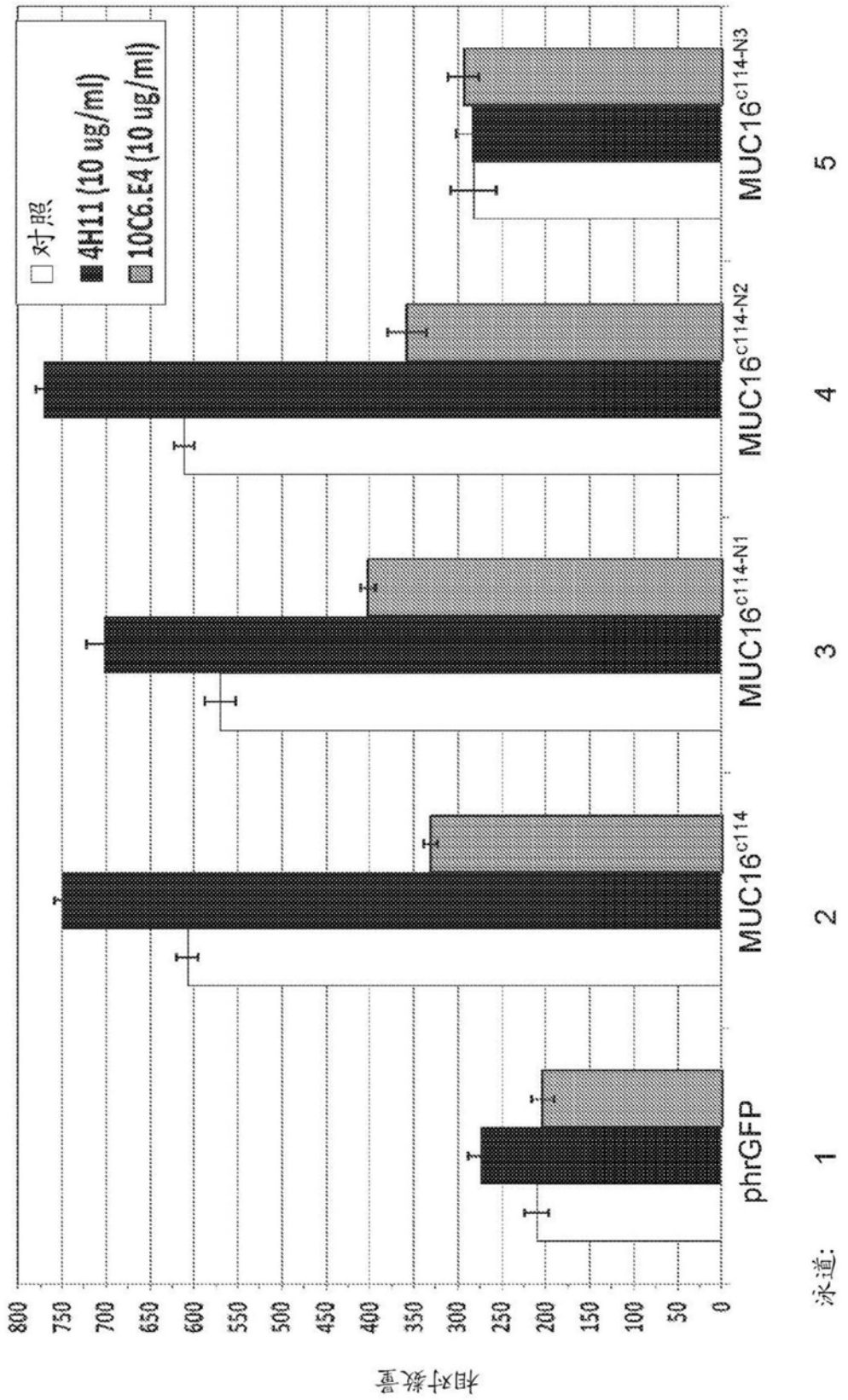

□对照
■4H11 (10 ug/ml)
▨10C6.E4 (10 ug/ml)
相对数量
800
750
700
650
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
泳道:
1
2
3
4
5
phrGFP
MUC16c114
MUC16c114-N1
MUC16c114-N2
MUC16c114-N3

图16A

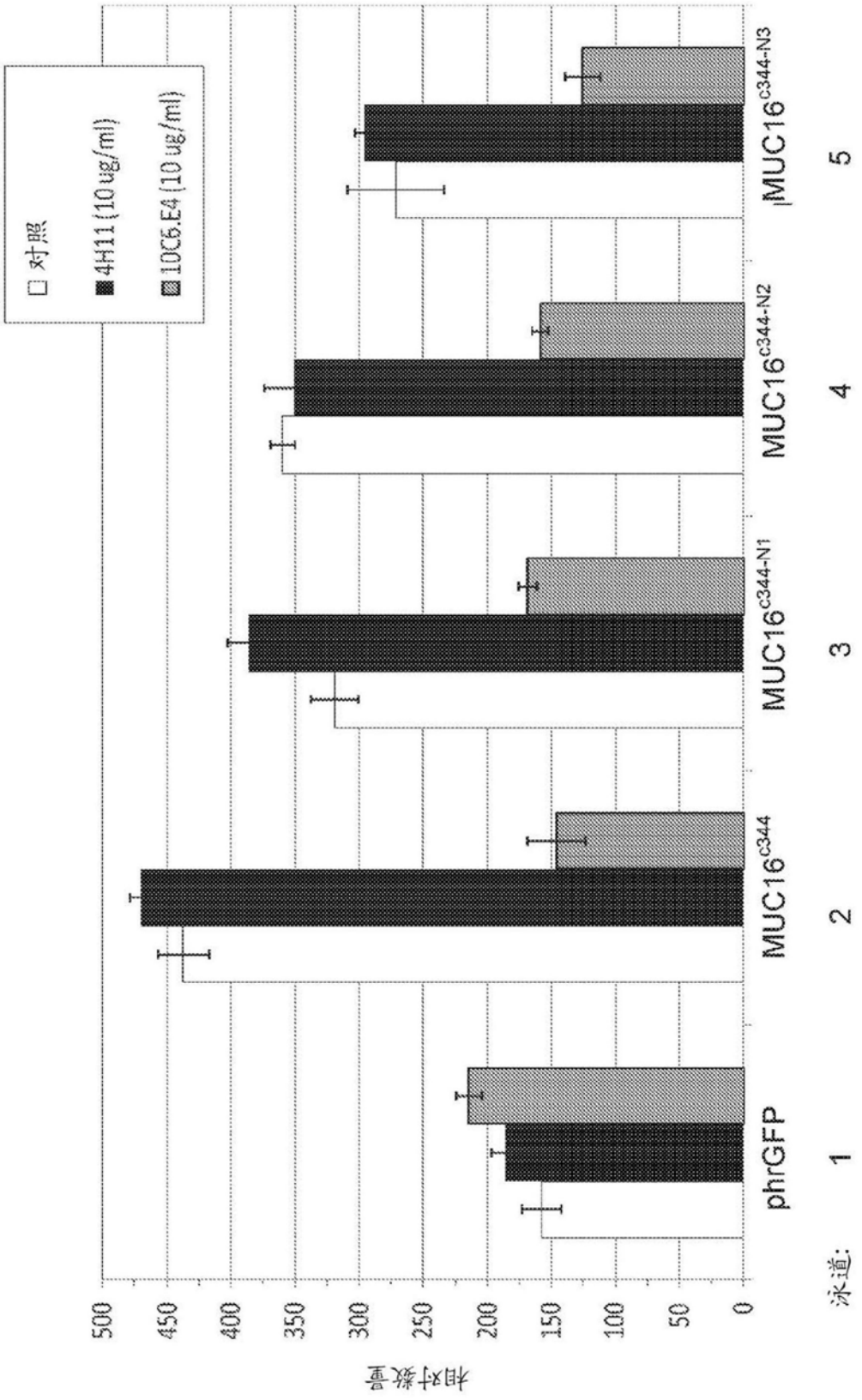

□ 对照
4H11 (10 ug/ml)
10C6.E4 (10 ug/ml)
相对数量
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
泳道:
1
2
3
4
5
phrGFP
MUC16c344
MUC16c344-N1
MUC16c344-N2
MUC16c344-N3

图16B

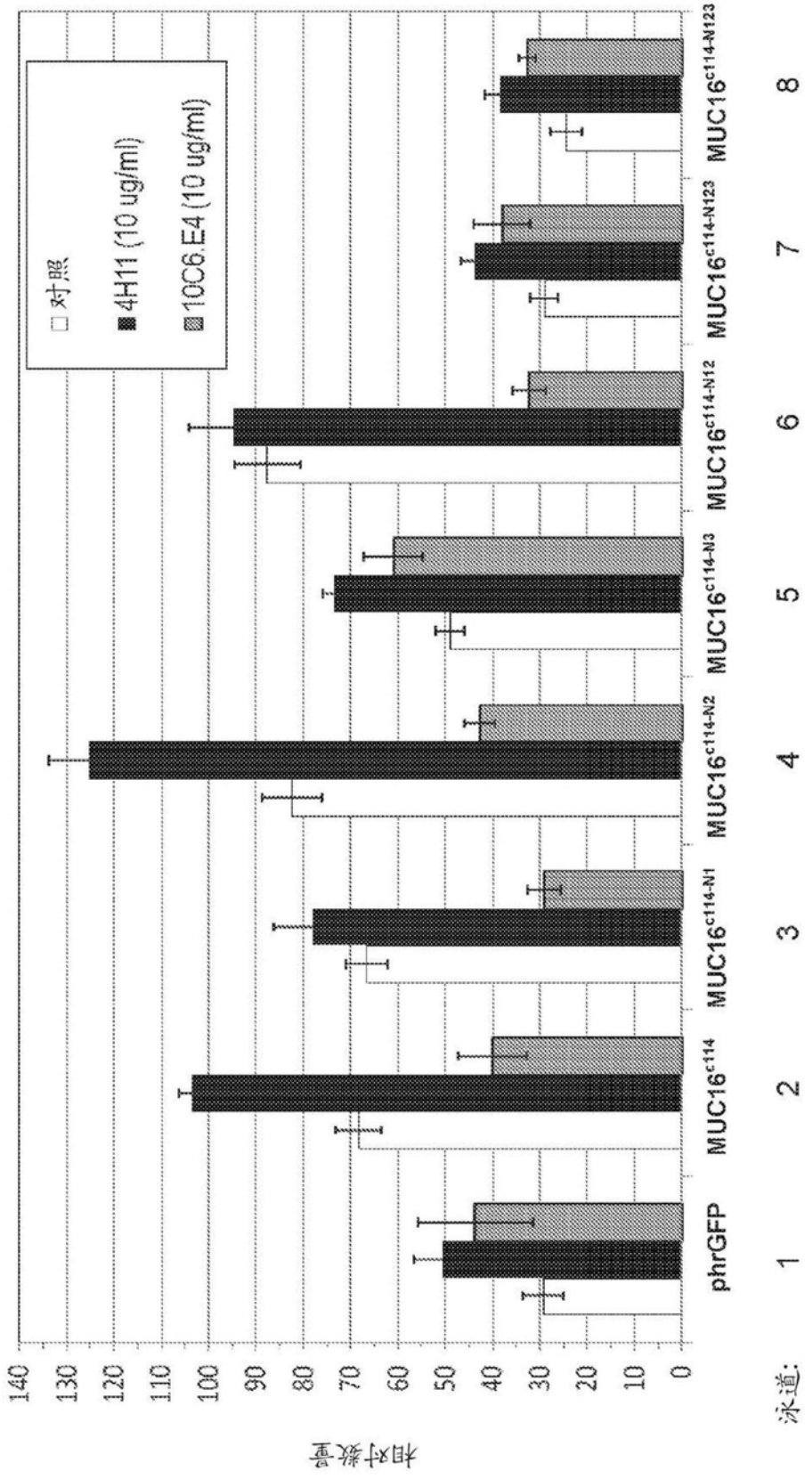

□对照
■4H11 (10 ug/ml)
▨10C6.E4 (10 ug/ml)
相对数量
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
泳道:
1
2
3
4
5
6
7
8
phrGFP
MUC16c114
MUC16c114-N1
MUC16c114-N2
MUC16c114-N3
MUC16c114-N12
MUC16c114-N123
MUC16c114-N123

图16C

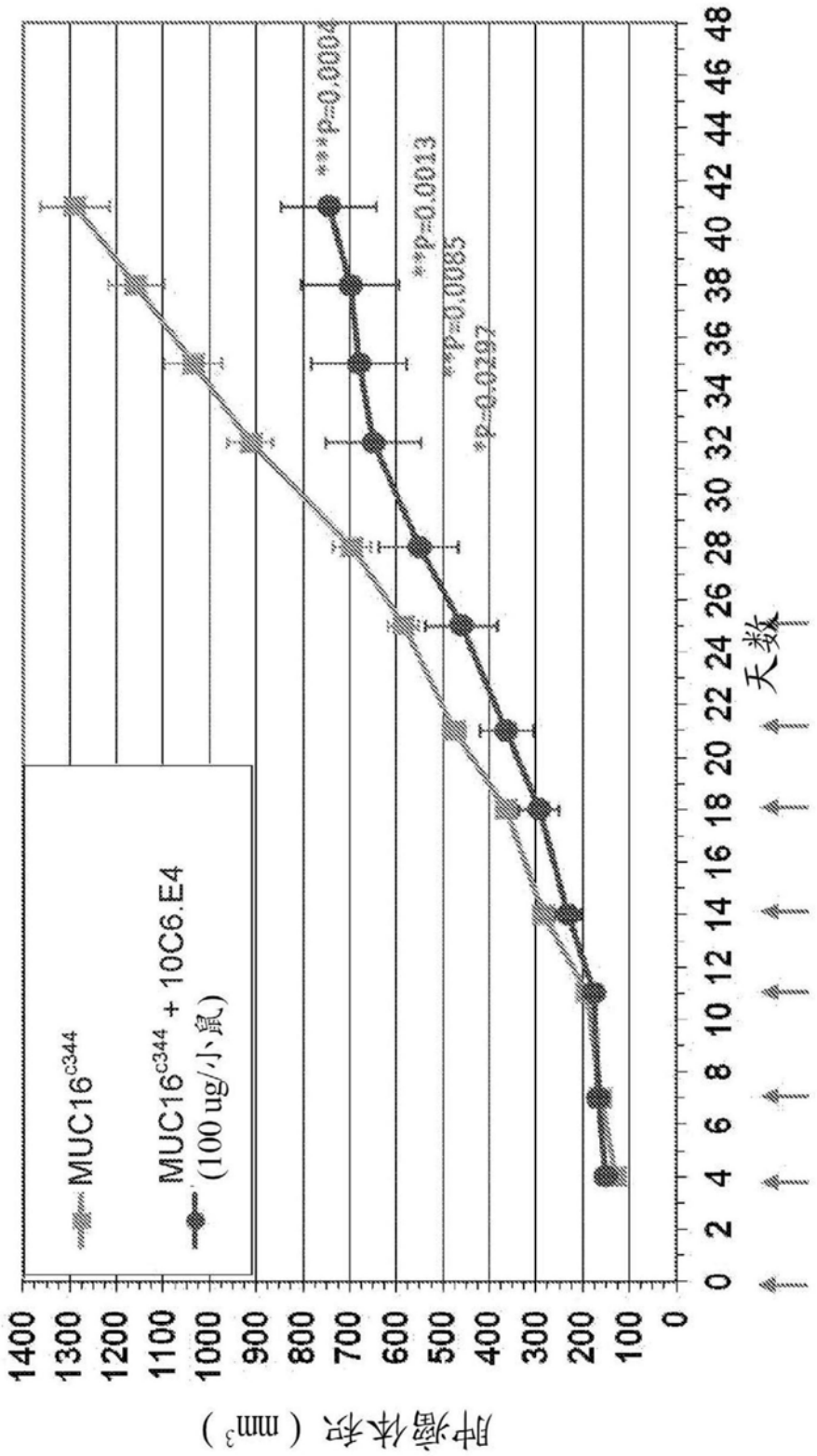

肿瘤体积（mm³）
天数
MUC16c344
MUC16c344 + 10C6.E4
(100 ug/小鼠)
***p=0.0004
**p=0.0013
**p=0.0085
*p=0.0297

图16D

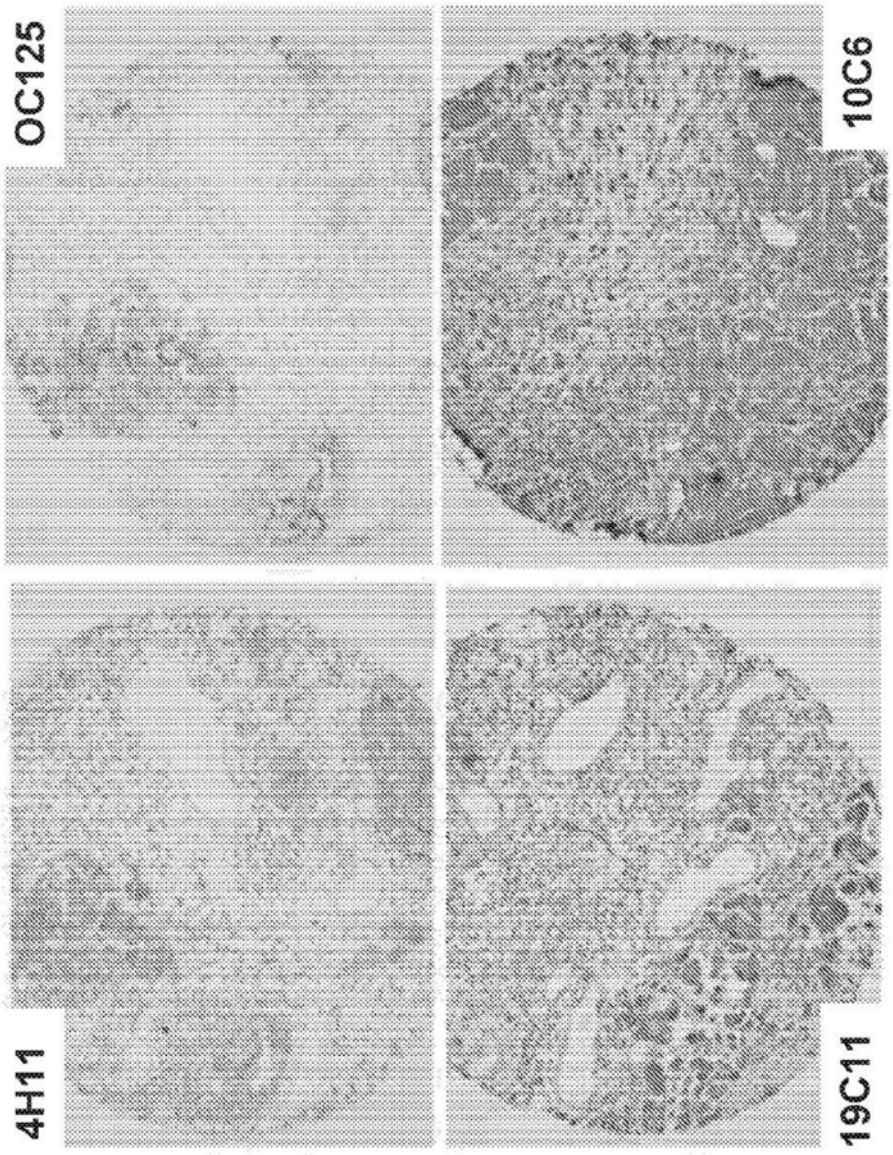


图16E

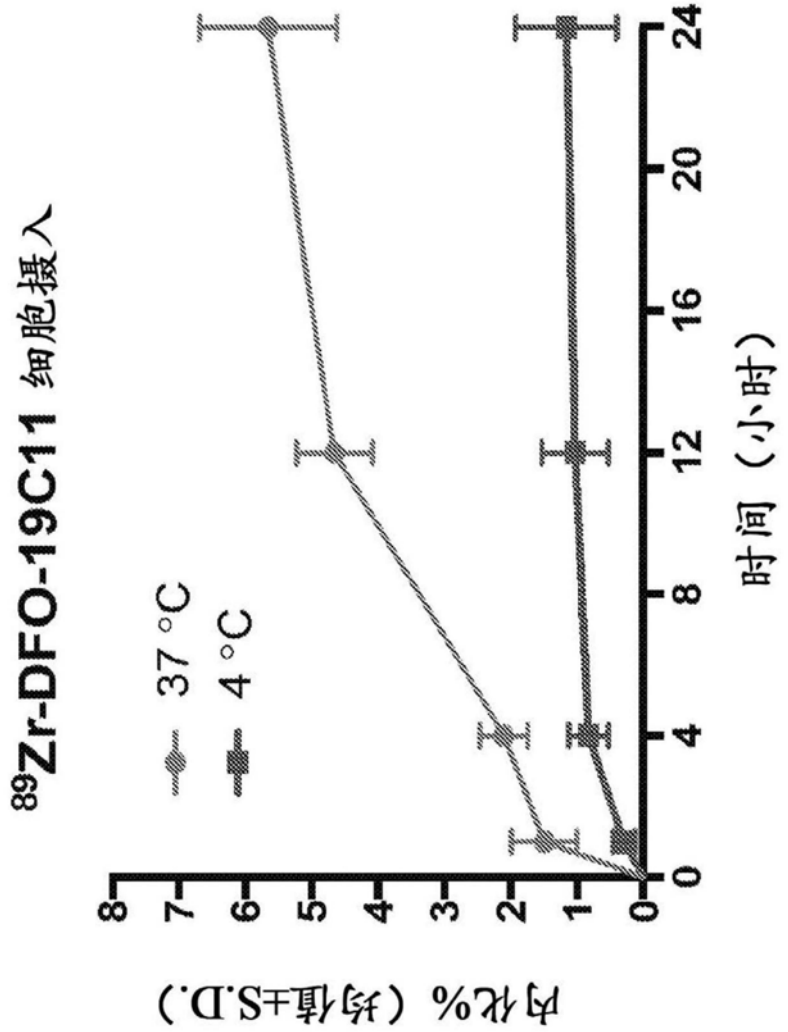

89Zr-DFO-19C11 细胞摄入
37 °C
4 °C
内化% （均值±S.D.）
时间（小时）
0
1
2
3
4
5
6
7
8
0
4
8
12
16
20
24

图17

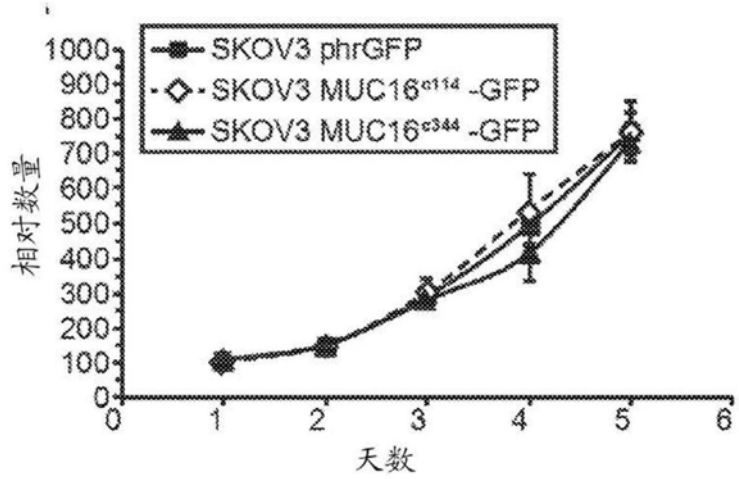

SKOV3 phrGFP
SKOV3 MUC16c114 -GFP
SKOV3 MUC16c344 -GFP
相对数量
天数
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
0
1
2
3
4
5
6

图18A

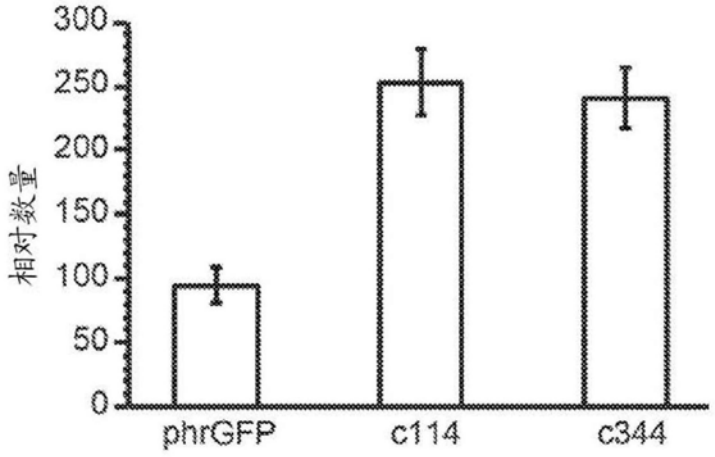

300
250
200
150
100
50
0
相对数量
phrGFP
c114
c344

图18B

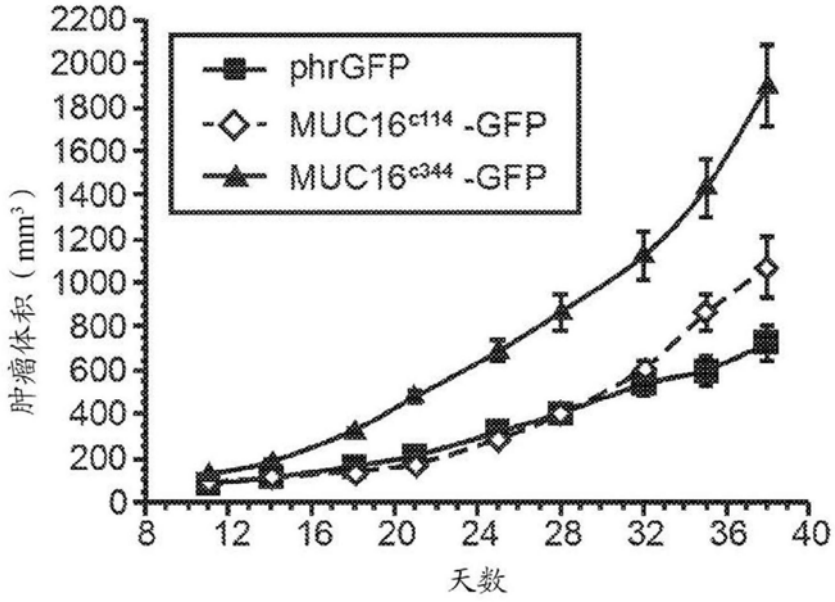

2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
肿瘤体积（mm³）
8
12
16
20
24
28
32
36
40
天数
phrGFP
MUC16c114 -GFP
MUC16c344 -GFP

图18C

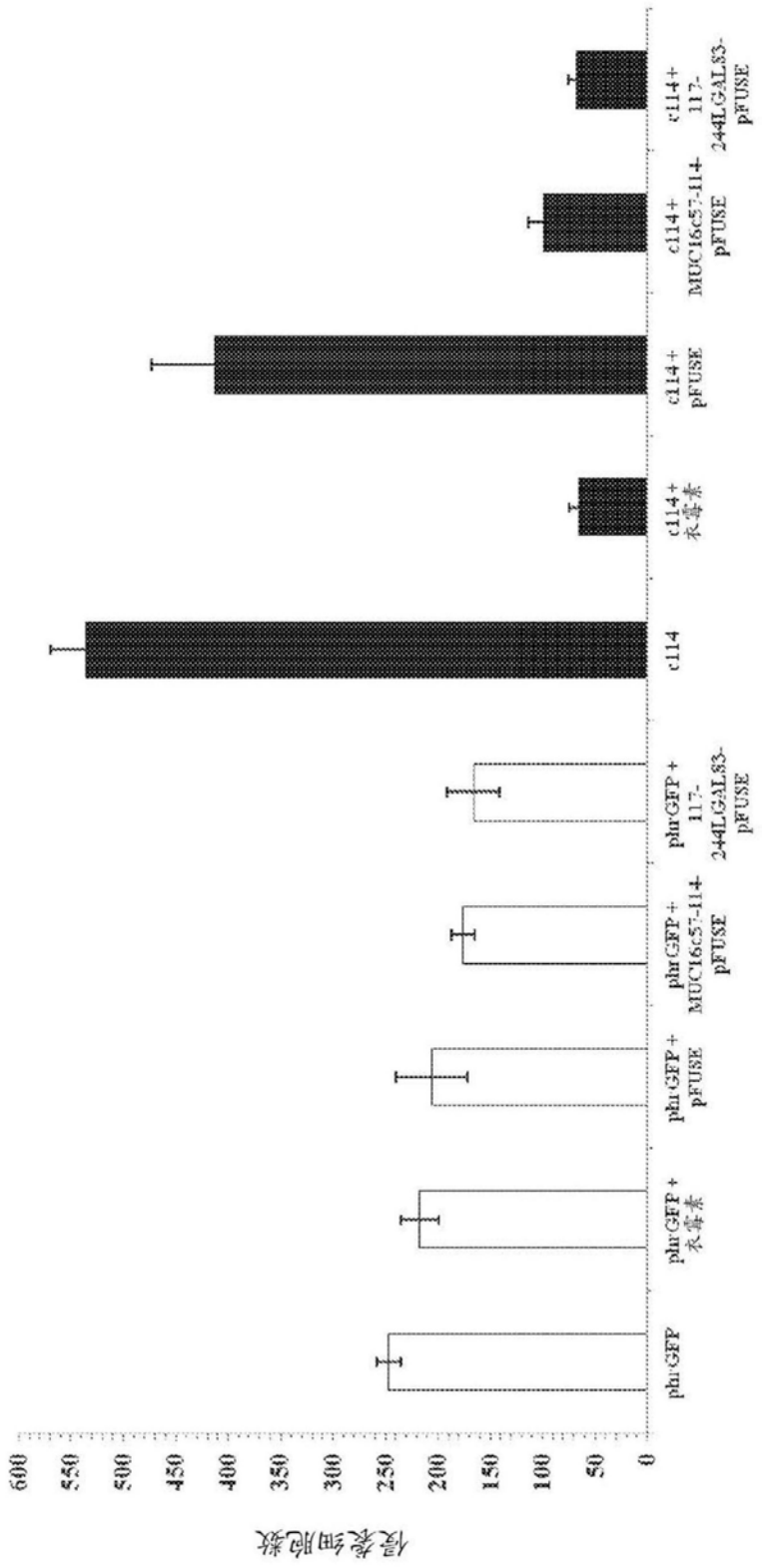

侵袭细胞数
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
phrGFP
phrGFP+
水霉素
phrGFP+
pFUSE
phrGFP+
MUC16c57-114+
pFUSE
phrGFP+
117-
244LGAL83-
pFUSE
c114
c114+
水霉素
c114+
pFUSE
c114+
MUC16c57-114+
pFUSE
c114+
117-
244LGAL83-
pFUSE

图19A

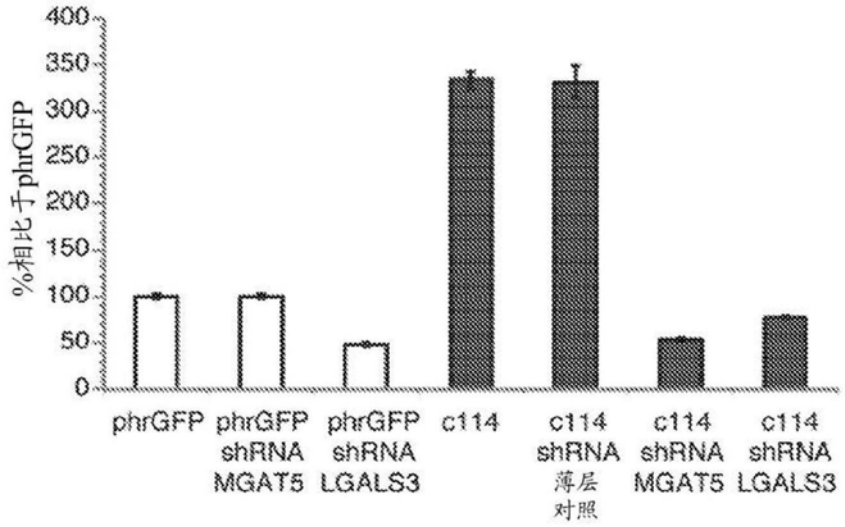

%相比于phrGFP
400
350
300
250
200
150
100
50
0
phrGFP
phrGFP shRNA MGAT5
phrGFP shRNA LGALS3
c114
c114 shRNA 薄层 对照
c114 shRNA MGAT5
c114 shRNA LGALS3

图19B

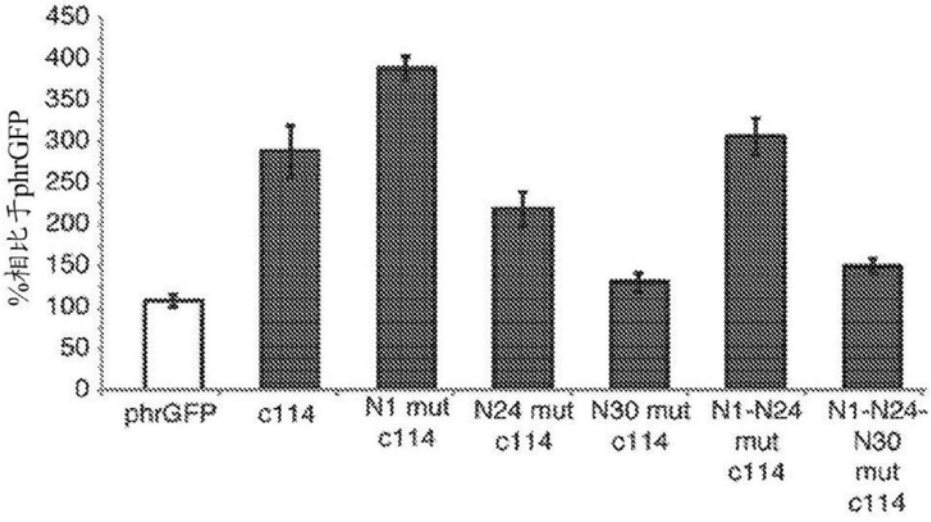

%相比于phrGFP
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
phrGFP
c114
N1 mut c114
N24 mut c114
N30 mut c114
N1-N24 mut c114
N1-N24-N30 mut c114

图19C

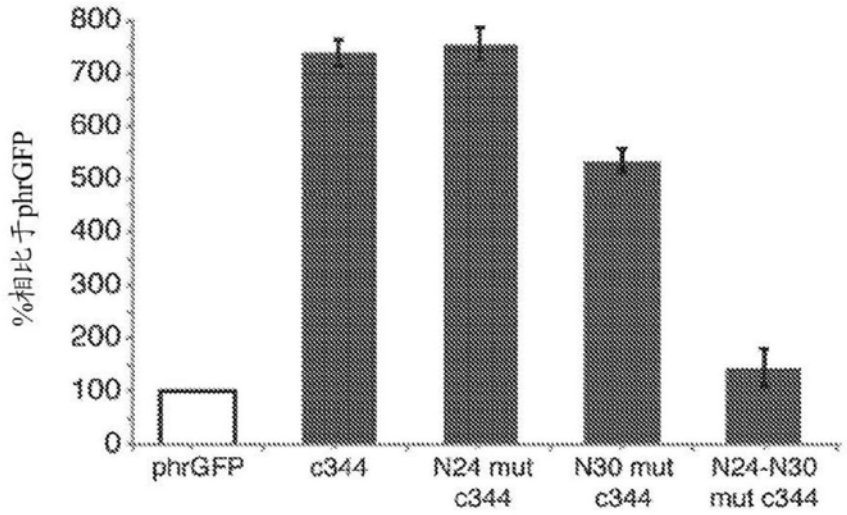

%相比于phrGFP
800
700
600
500
400
300
200
100
0
phrGFP
c344
N24 mut c344
N30 mut c344
N24-N30 mut c344

图19D

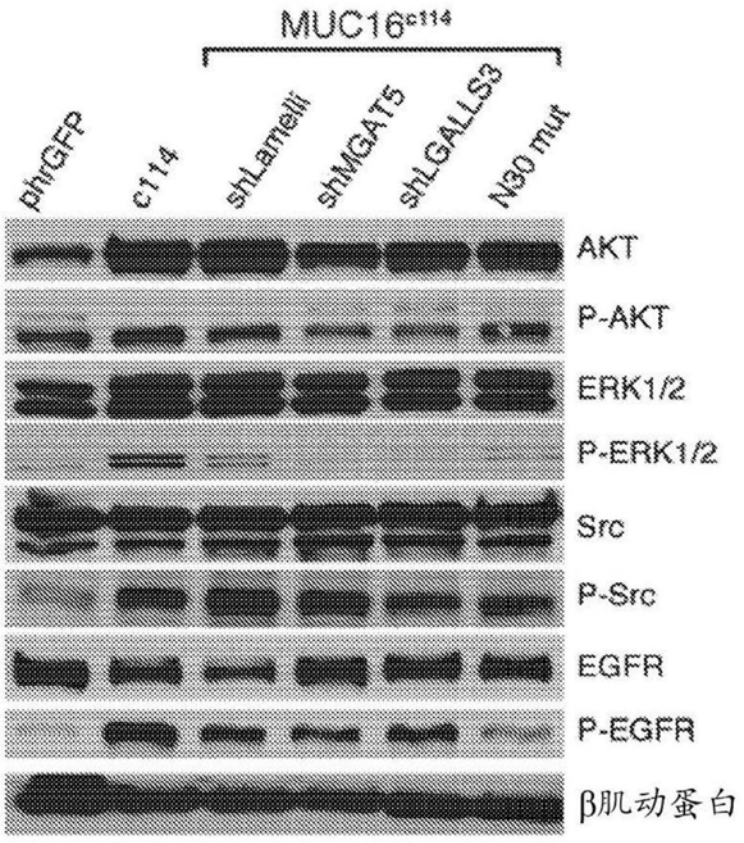

MUC16c114
phrGFP
c114
shLamellI
shMGAT5
shLGALLS3
N30 mut
AKT
P-AKT
ERK1/2
P-ERK1/2
Src
P-Src
EGFR
P-EGFR
β肌动蛋白

图19E

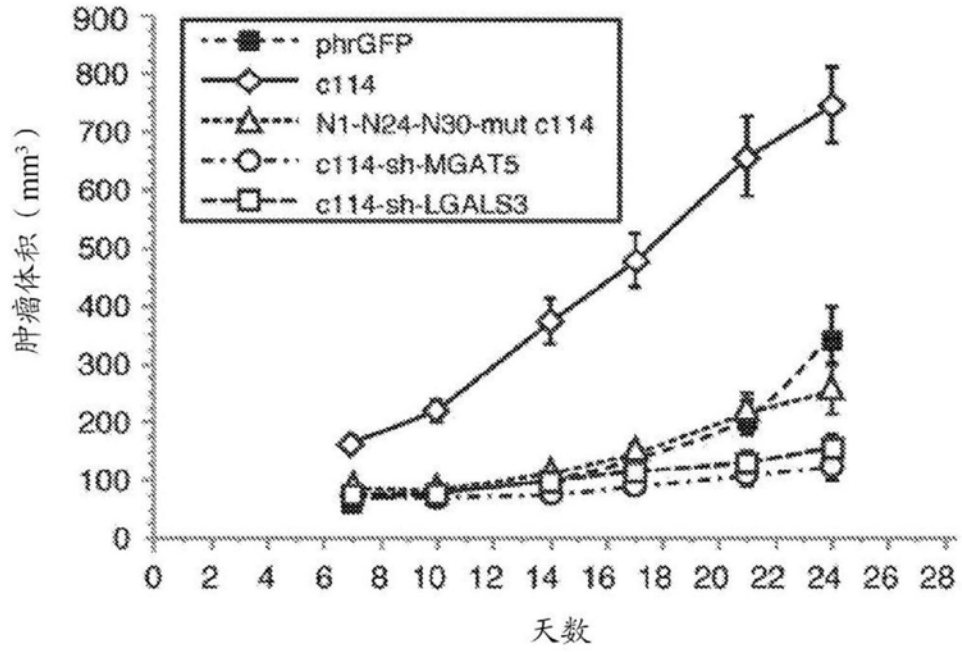

900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
肿瘤体积（mm³）
phrGFP
c114
N1-N24-N30-mut c114
c114-sh-MGAT5
c114-sh-LGALS3
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28
天数

图19F

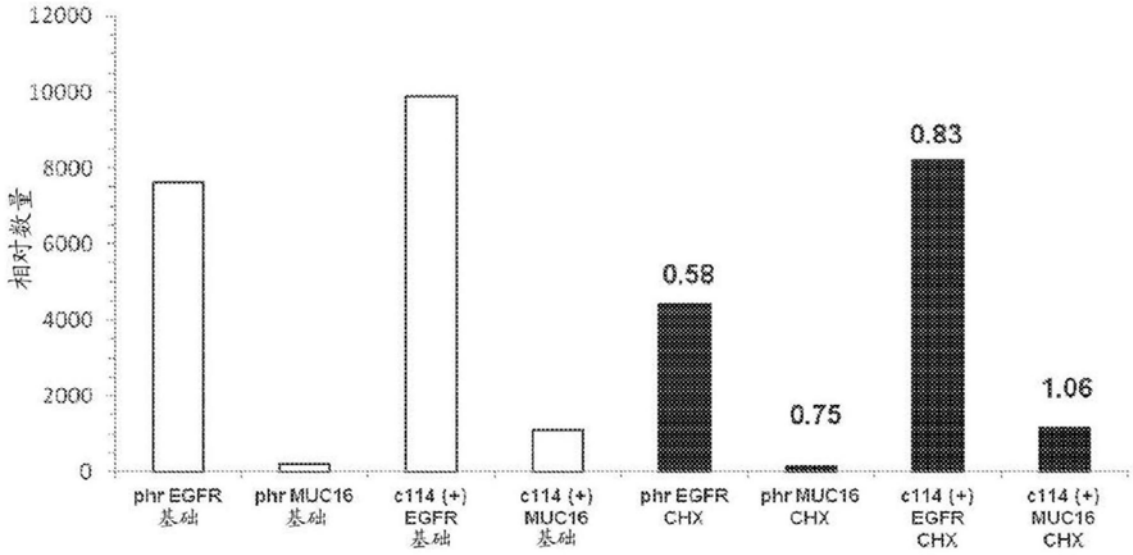

12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
相对数量
0.58
0.75
0.83
1.06
phr EGFR 基础
phr MUC16 基础
c114 (+) EGFR 基础
c114 (+) MUC16 基础
phr EGFR CHX
phr MUC16 CHX
c114 (+) EGFR CHX
c114 (+) MUC16 CHX

图20A

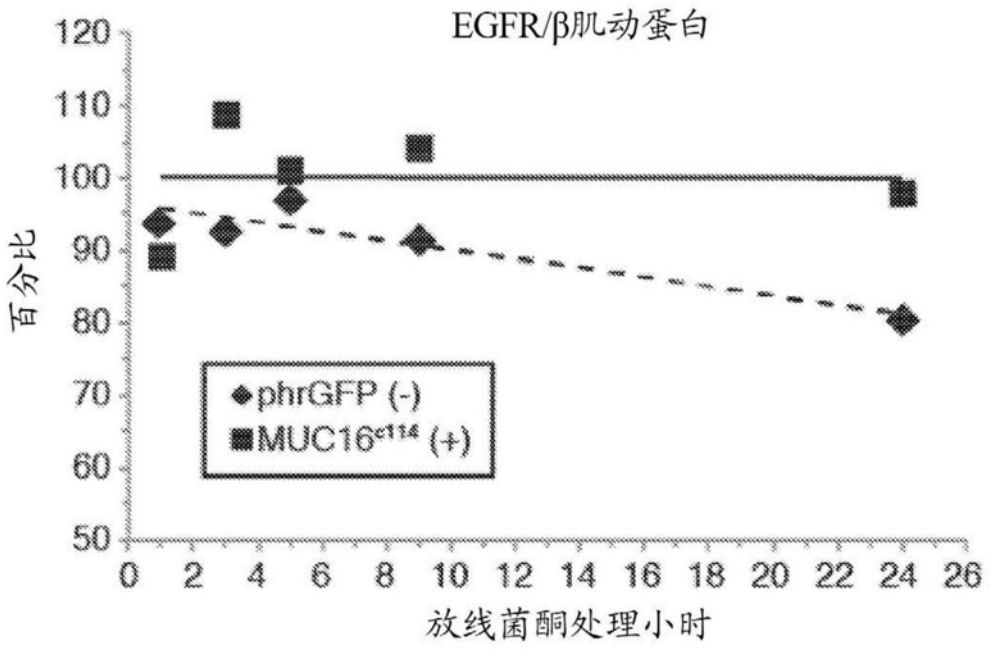

EGFR/β肌动蛋白
120
110
100
90
80
70
60
50
百分比
◆phrGFP (-)
■MUC16^cl14 (+)
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26
放线菌酮处理小时

图20B

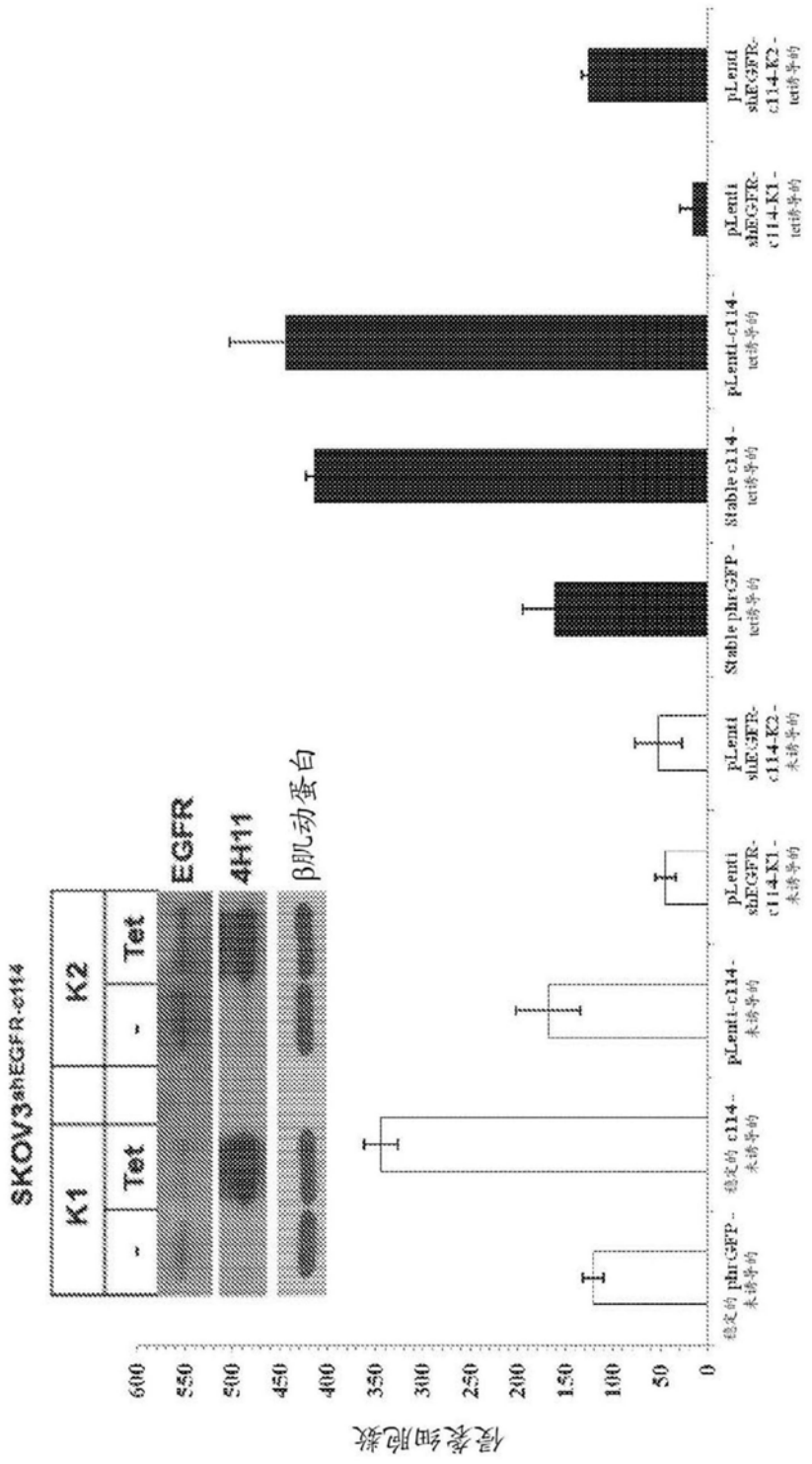

SKOV3shEGFR-c114
K1
K2
-
Tet
-
Tet
EGFR
4H11
β肌动蛋白
得率细胞数
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
稳定的 phrGFP - 未诱导的
稳定的 c114 - 未诱导的
pLenti-c114 - 未诱导的
pLenti shEGFR-c114-K1 - 未诱导的
pLenti shEGFR-c114-K2 - 未诱导的
Stable phrGFP - tet诱导的
Stable c114 - tet诱导的
pLenti-c114 - tet诱导的
pLenti shEGFR-c114-K1 - tet诱导的
pLenti shEGFR-c114-K2 - tet诱导的

图20C

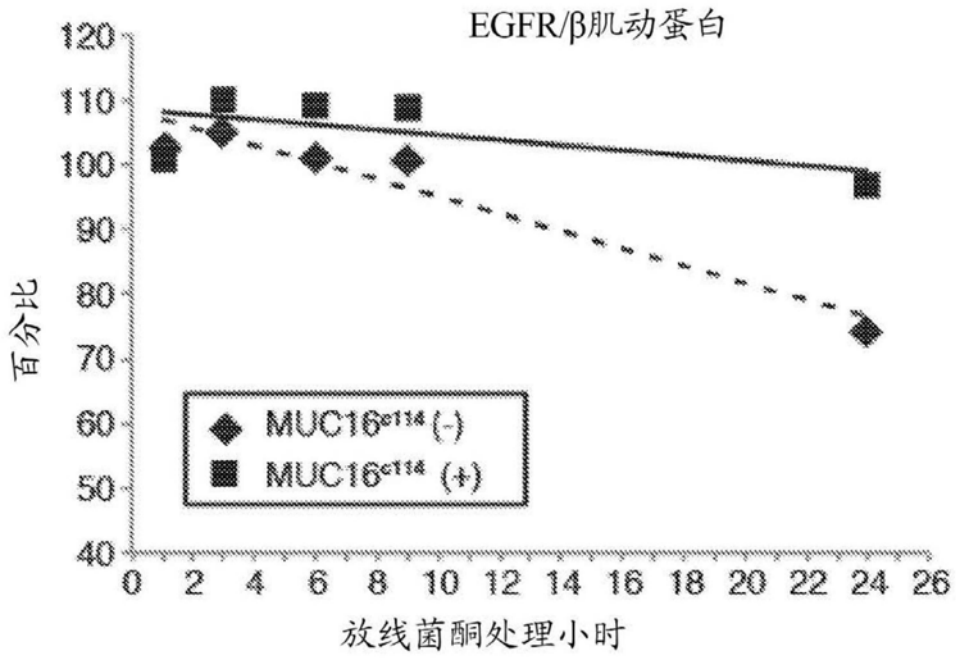

EGFR/β肌动蛋白
120
110
100
90
80
70
60
50
40
百分比
MUC16c114 (-)
MUC16c114 (+)
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26
放线菌酮处理小时

图20D

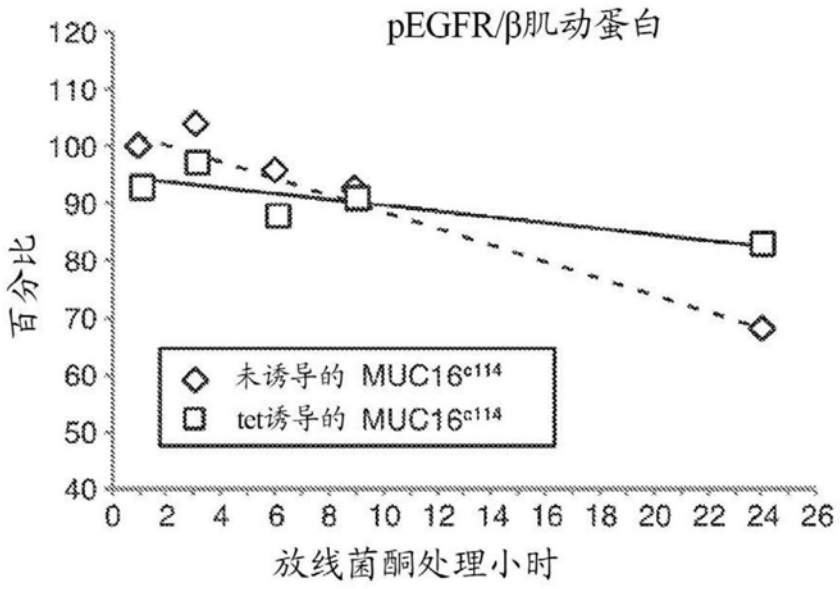

pEGFR/β肌动蛋白
120
110
100
90
80
70
60
50
40
百分比
未诱导的 MUC16c114
tet诱导的 MUC16c114
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26
放线菌酮处理小时

图21

表中所列N-聚糖通过全离子作图测得（M：甘露糖； N：N-乙酰氨基葡萄糖；F：岩藻糖； Gal：半乳糖； NeuAc：N-乙酰基神经氨酸）

结构分配		质量 $[M+Na]^+$	强度/载荷状态	聚糖 %
M2N2F		1142	0.10×10^{-2}	32.47%
M3N2		1171	3.56×10^{-2}	11.33%
M3N2F		1345	4.18×10^{-2}	13.30%
M4N2		1376	1.91×10^{-2}	6.08%
M5N2		1580	3.78×10^{-2}	12.03%
M6N2		1784	0.87×10^{-2}	2.76%
M7N2		1988	0.37×10^{-2}	1.18%
Gal2N2M3N2F		2244	1.91×10^{-2}	6.06%
NeuAc1Gal2N2M3N2		2431	1.50×10^{-2}	4.76%
NeuAc1Gal2N2M3N2F		2605	1.65×10^{-2}	5.25%
NeuAc2Gal2N2M3N2		2792	0.77×10^{-2}	2.45%
NeuAc2Gal2N2M3N2F		2966	0.73×10^{-2}	2.32%
		总量	3.14×10^{-3}	100.00%

▼ 岩藻糖 ■ N-乙酰氨基葡萄糖 ● 甘露糖
○ 半乳糖 ◆ N-乙酰基神经氨酸

图22A

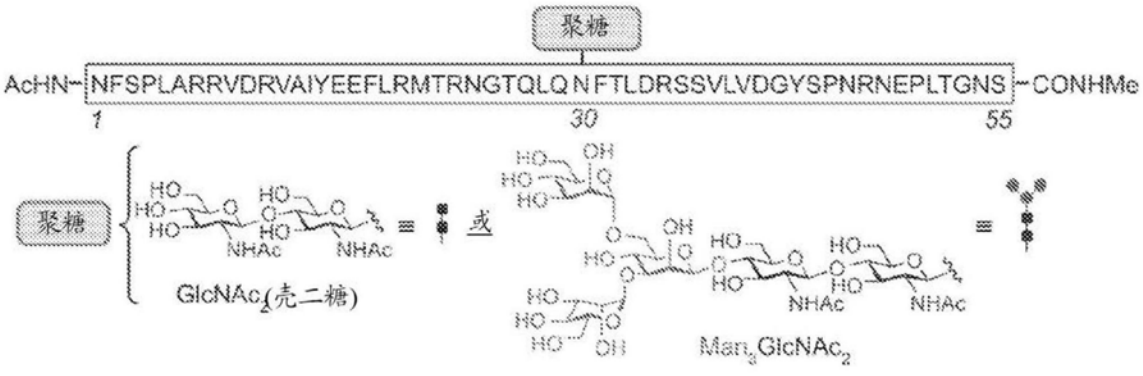


图22B

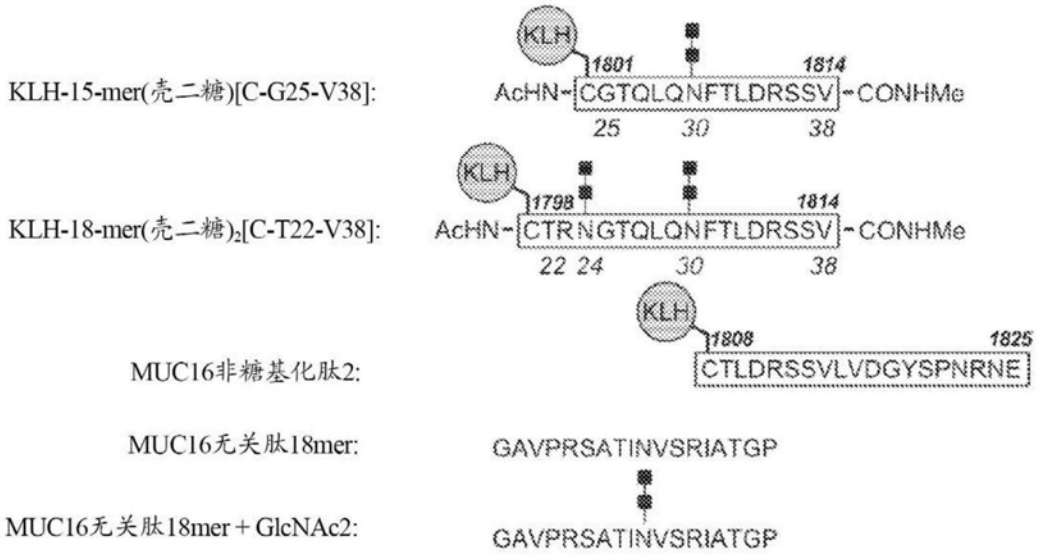

KLH-15-mer(壳二糖)[C-G25-V38]:
KLH
1801
1814
AcHN-CGTQLQNFTLDRSSV-CONHMe
25
30
38
KLH-18-mer(壳二糖)2[C-T22-V38]:
KLH
1798
1814
AcHN-CTRNGTQLQNFTLDRSSV-CONHMe
22
24
30
38
KLH
1808
1825
MUC16非糖基化肽2:
CTLDRSSVLVDGYSPNRNE
MUC16无关肽18mer:
GAVPRSATINVSRIATGP
MUC16无关肽18mer+GlcNAc2:
GAVPRSATINVSRIATGP

图22C

肽	结构	空白	4H11	抗-糖基化MUC16胞外域抗体			
				7B12	10C6	18C6	19C11
MUC16无关肽18mer		0.013	0.045	0.04	0.03	0.02	0.03
MUC16无关肽18mer +GlcNAc2		0.014	0.038	0.03	0.03	0.02	0.03
MUC16 15mer		0.021	0.049	1.206	0.543	1.061	1.167
MUC16 15mer + GlcNAc2		0.019	0.06	1.323	0.573	1.442	1.514
MUC16 18mer		0.032	0.076	1.09	1.06	1.01	0.98
MUC16 18mer + GlcNAc1		0.042	ND	1.03	1.01	0.95	0.96
MUC16 18mer + GlcNAc2		0.029	0.063	1.06	1.13	1.06	1.10
MUC16 18mer + GlcNAc2-三甘露糖		0.035	ND	1.05	0.99	0.89	0.99
MUC16 18mer + GlcNAc2-岩藻糖1		0.044	ND	1.10	1.08	1.03	1.01
MUC16非糖基化肽2		0.029	2.139	0.02	0.02	0.02	0.03

图23A

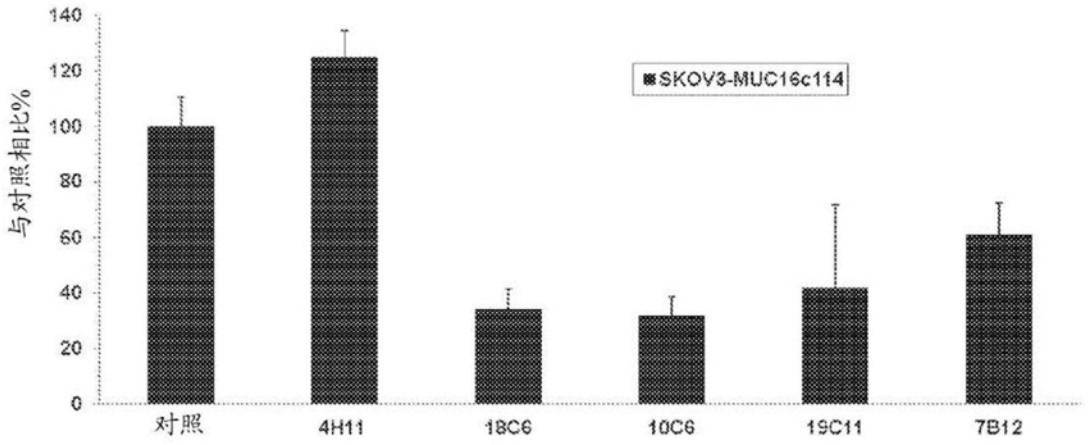


图23B

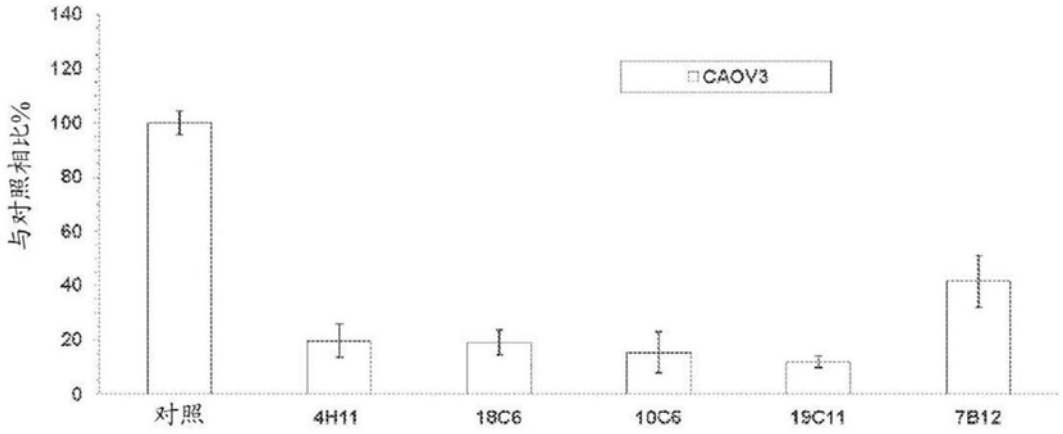


图23C

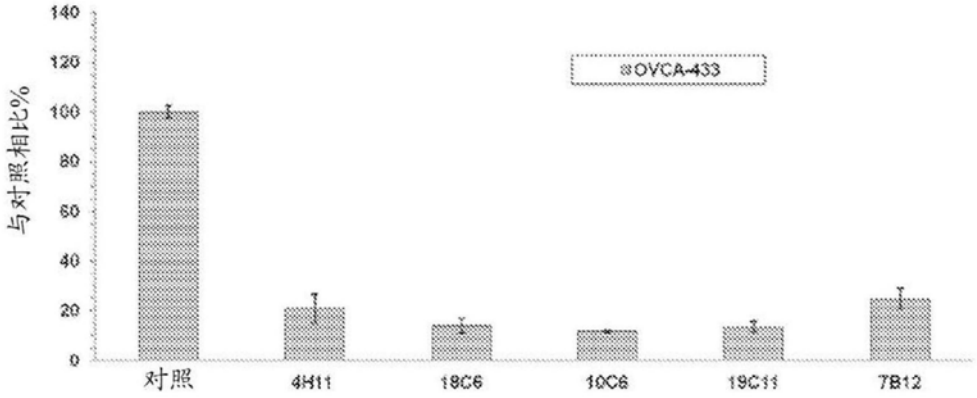


图23D

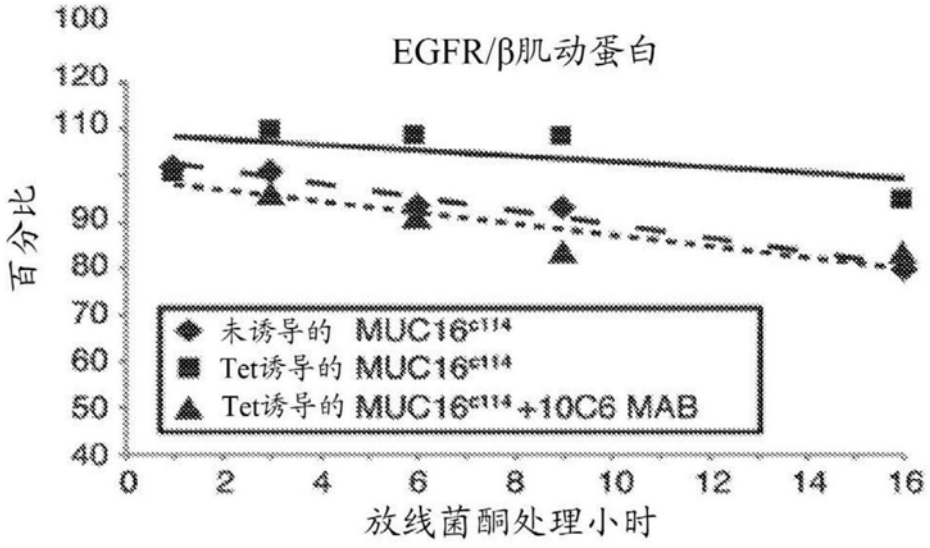


图23E

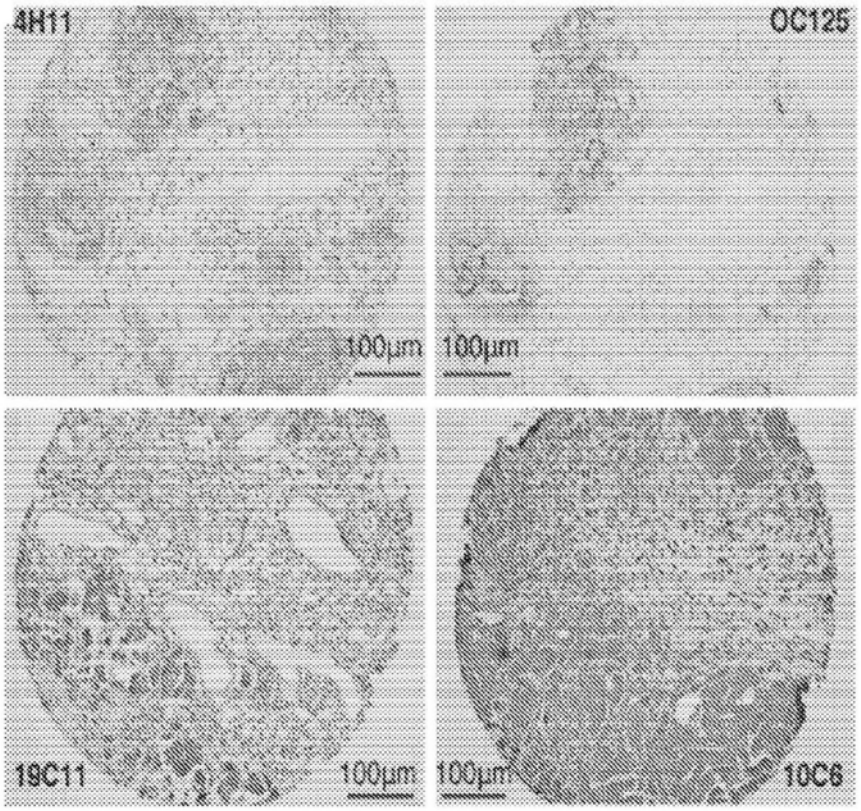

4H11
100μm
OC125
100μm
19C11
100μm
100μm
10C6

图23F

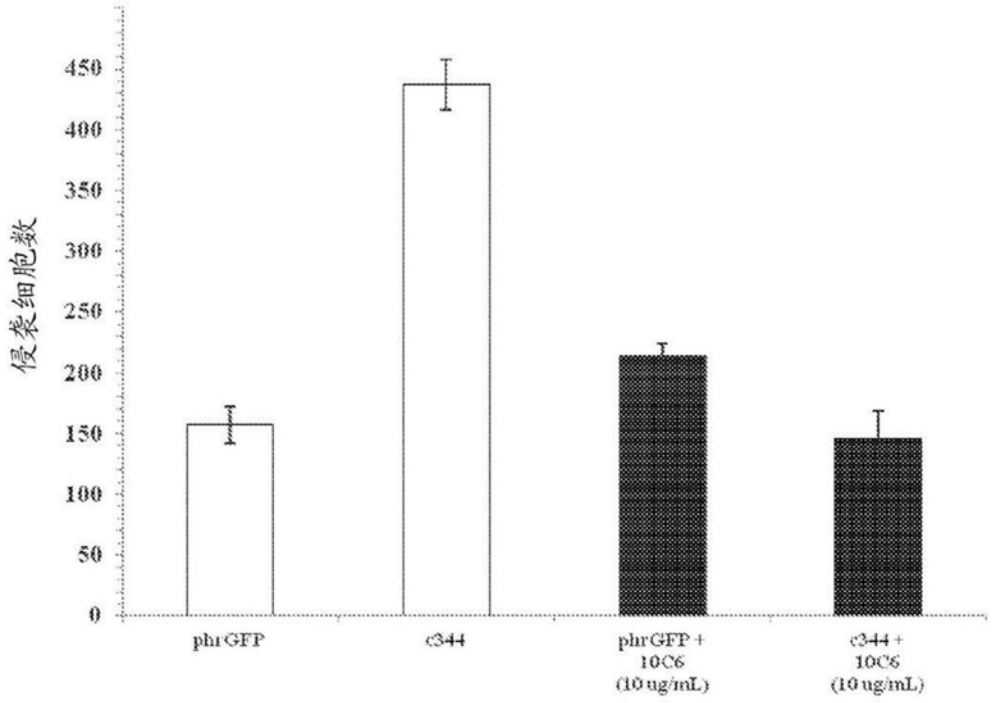

侵袭细胞数
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
phrGFP
c344
phrGFP + 10C6 (10 ug/mL)
c344 + 10C6 (10 ug/mL)

图23G

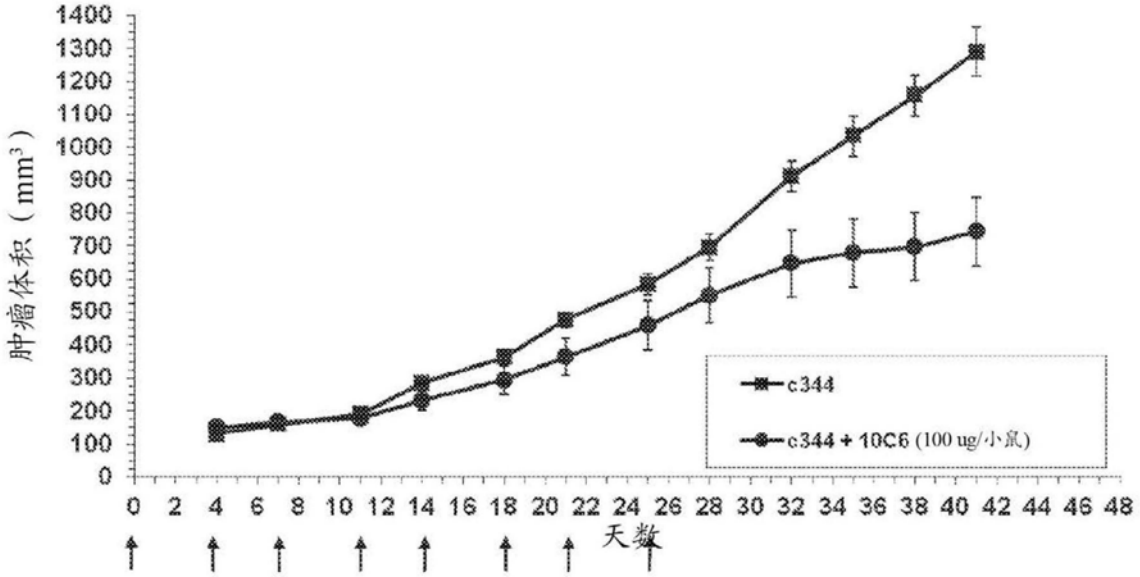

肿瘤体积（mm³）
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48
天数
c344
c344 + 10C6 (100 ug/小鼠)

图23H

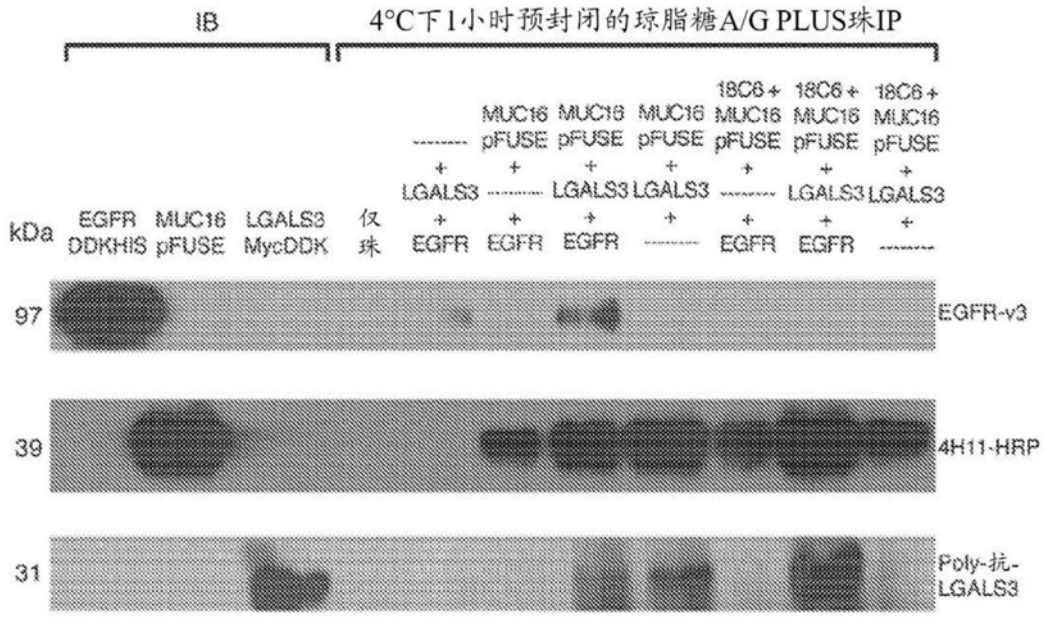

IB
4°C下1小时预封闭的琼脂糖A/G PLUS珠IP
kDa
EGFR DDKHIS
MUC16 pFUSE
LGALS3 MycDDK
仅珠
EGFR
MUC16 pFUSE
LGALS3
18C6 + MUC16 pFUSE
97
39
31
EGFR-v3
4H11-HRP
Poly-抗-LGALS3

图24A

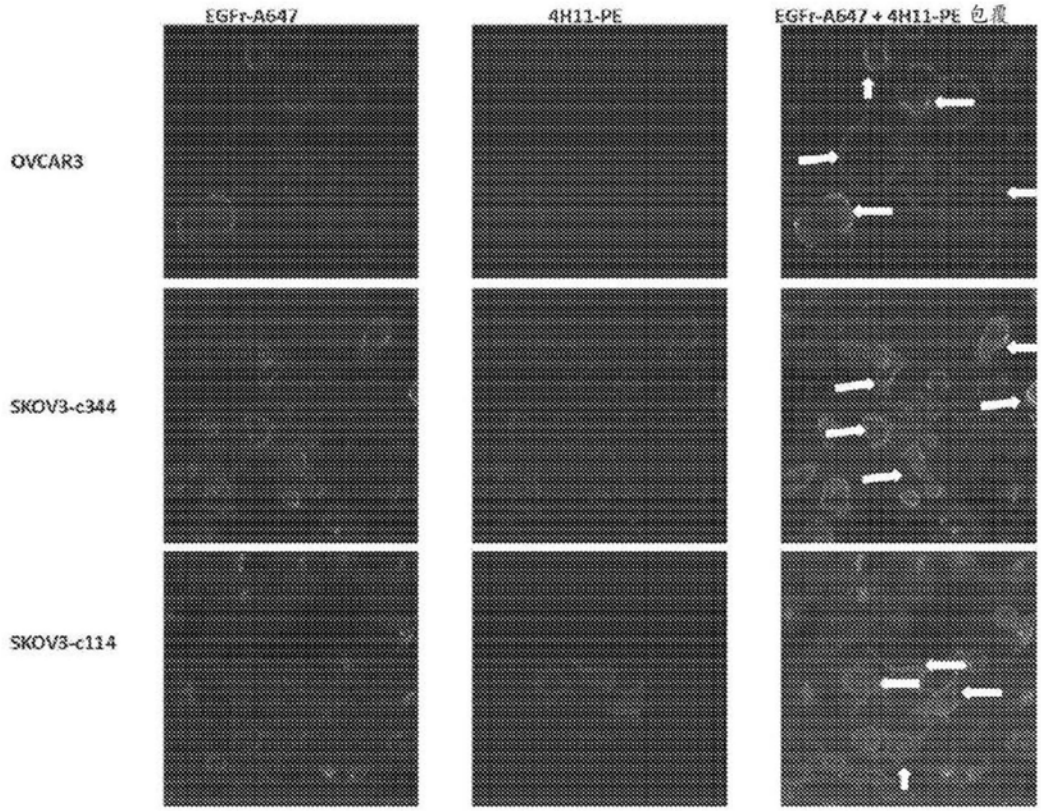

EGFr-A647
4H11-PE
EGFr-A647 + 4H11-PE 色覆
OVCAR3
SKOV3-c344
SKOV3-c114

图24B

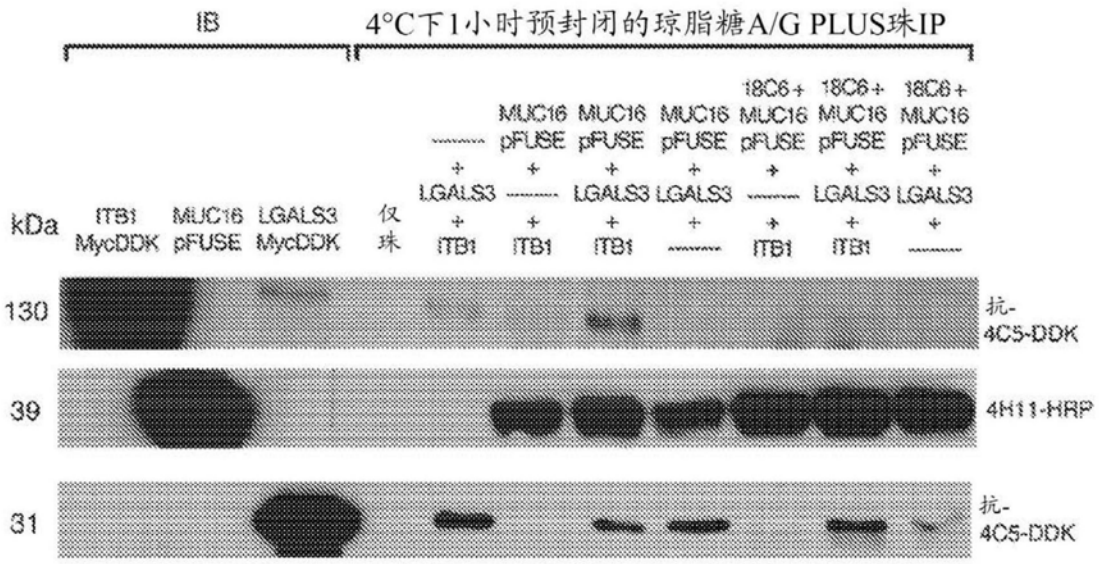

IB
4°C下1小时预封闭的琼脂糖A/G PLUS珠IP
kDa
ITB1 MycDDK
MUC16 pFUSE
LGALS3 MycDDK
仅珠
MUC16 pFUSE + LGALS3 + ITB1
MUC16 pFUSE + LGALS3 + ITB1
MUC16 pFUSE + LGALS3 + ITB1
18C6 + MUC16 pFUSE + LGALS3 + ITB1
18C6 + MUC16 pFUSE + LGALS3 + ITB1
18C6 + MUC16 pFUSE + LGALS3 + ITB1
130
39
31
抗-4C5-DDK
4H11-HRP
抗-4C5-DDK

图24C

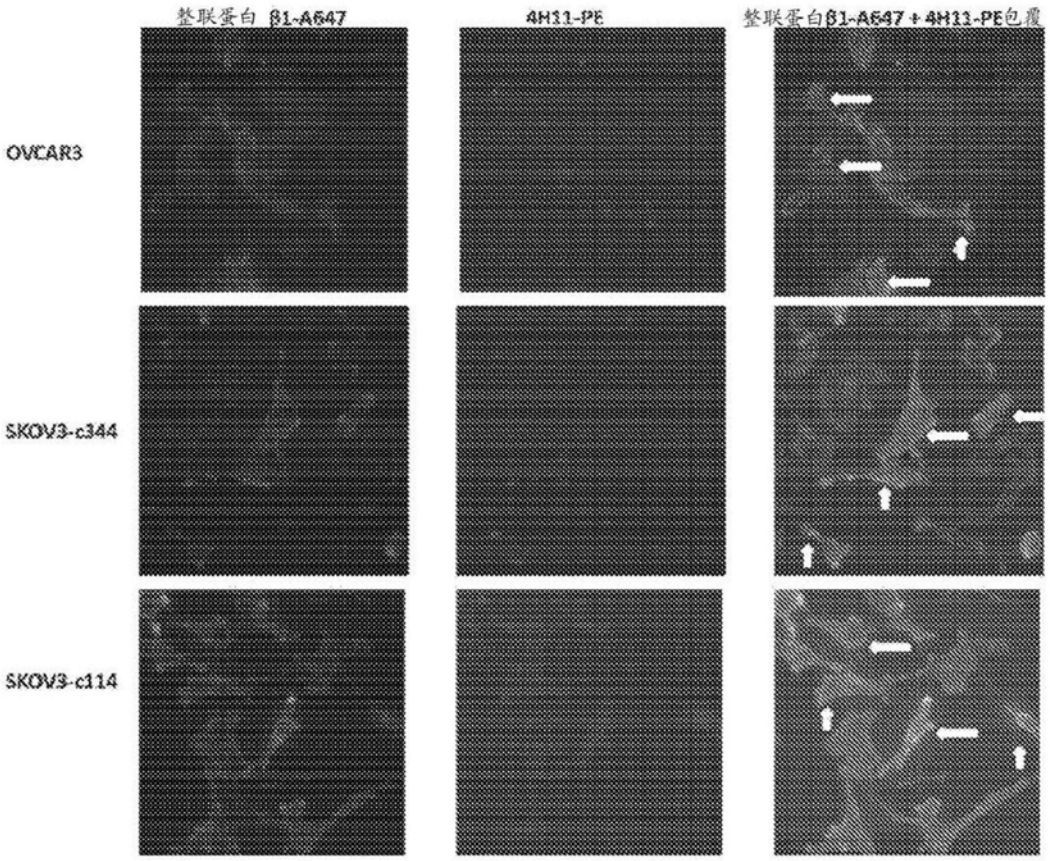

整联蛋白 β1-A647
4M11-PE
整联蛋白β1-A647 + 4M11-PE包覆
OVCAR3
SKOV3-c344
SKOV3-c114

图24D

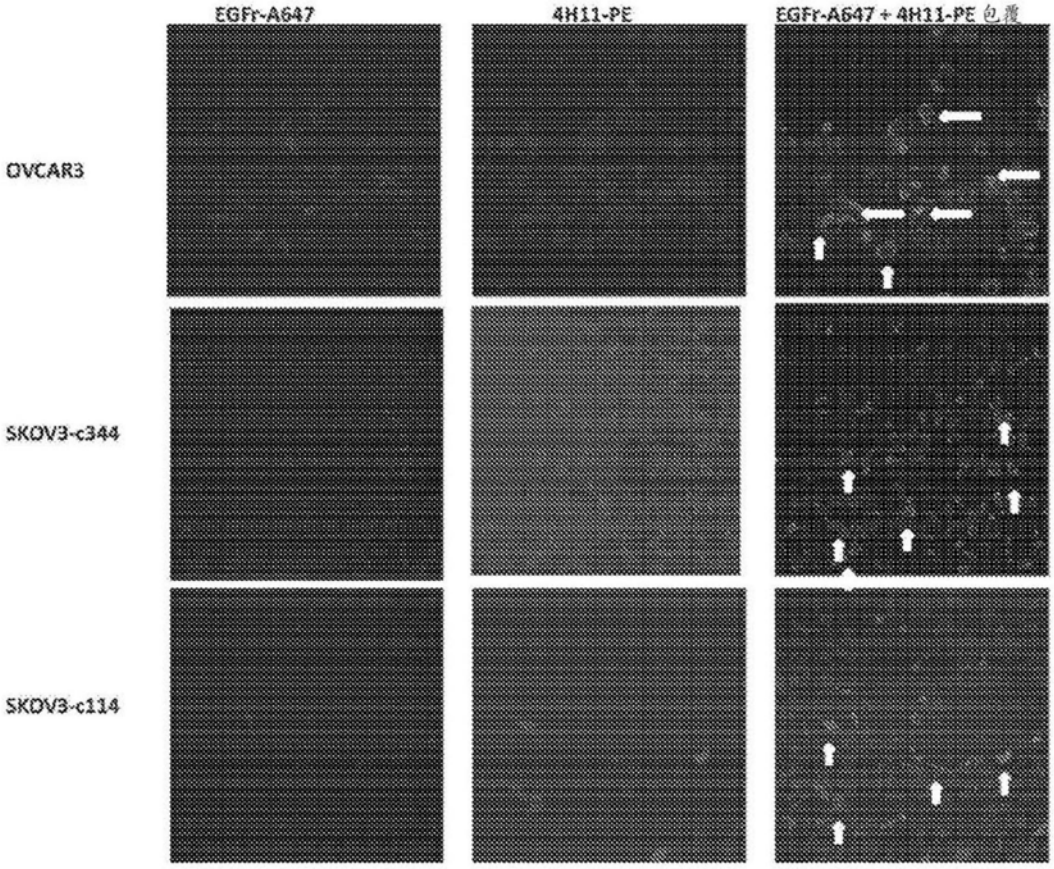

EGFr-A647
4H11-PE
EGFr-A647+4H11-PE 包覆
OVCAR3
SKOV3-c344
SKOV3-c114

图25A

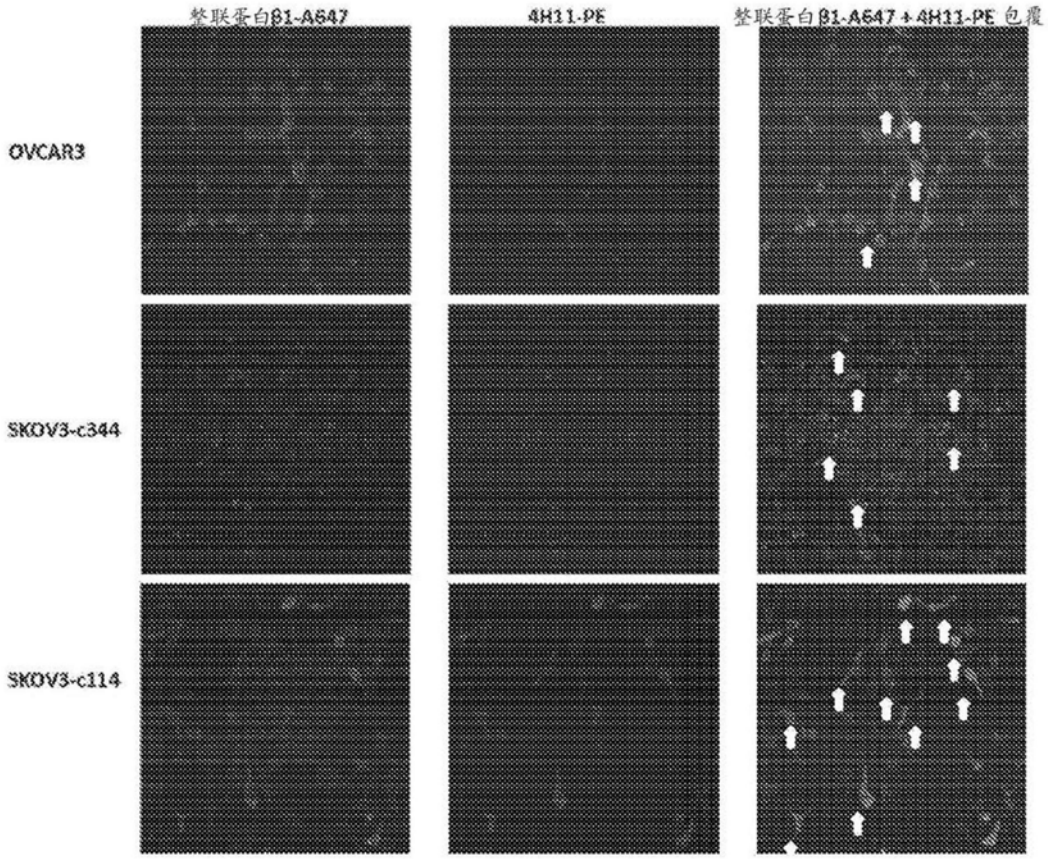

整联蛋白β1-A647
4H11-PE
整联蛋白β1-A647+4H11-PE 包覆
OVCAR3
SKOV3-c344
SKOV3-c114

图25B

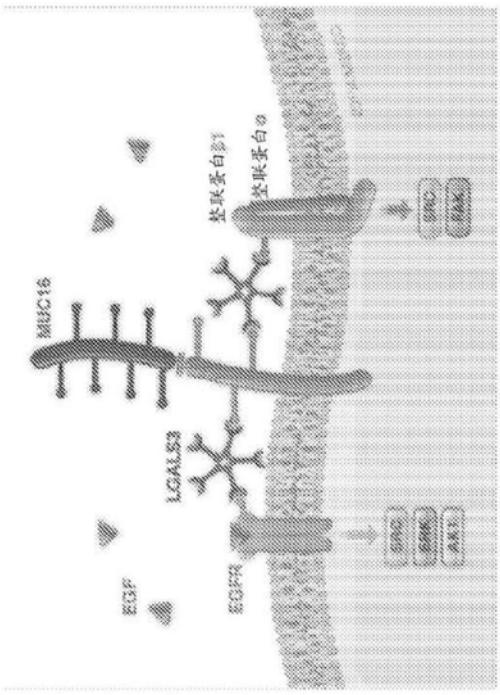

整联蛋白β1
整联蛋白α
MUC16
LGALS3
EGF
EGFR
FAK
ERK
AKT

图26A

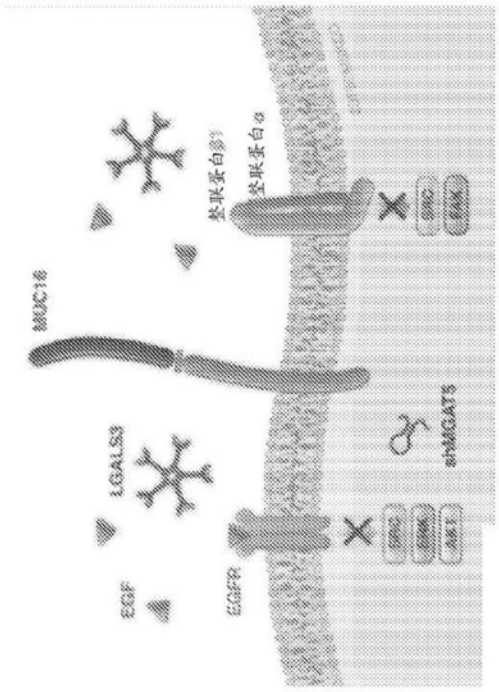

MUC16
LGALS3
EGF
EGFR
整联蛋白β1
整联蛋白α
FAK
SRC
ERK
AKT
shMGAT5

图26B

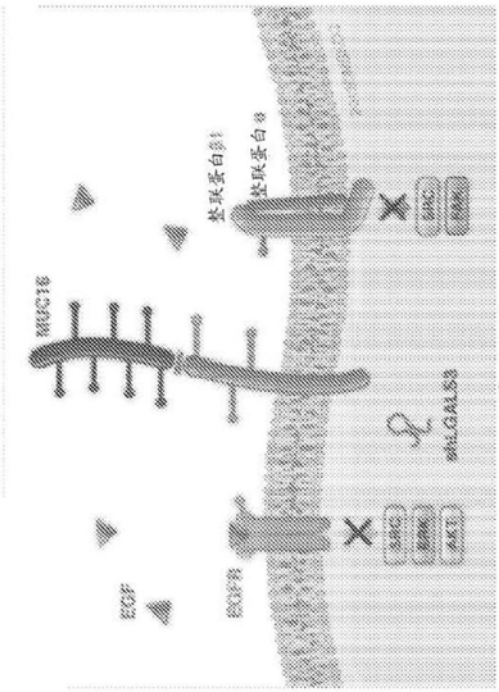

MUC16
EGF
EGFR
整联蛋白β1
整联蛋白α
FAK
SRC
ERK
AKT
shLGALS3

图26C

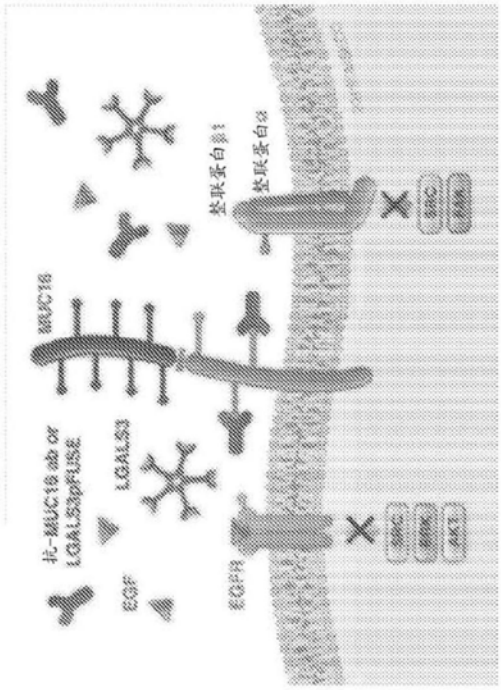


图26D

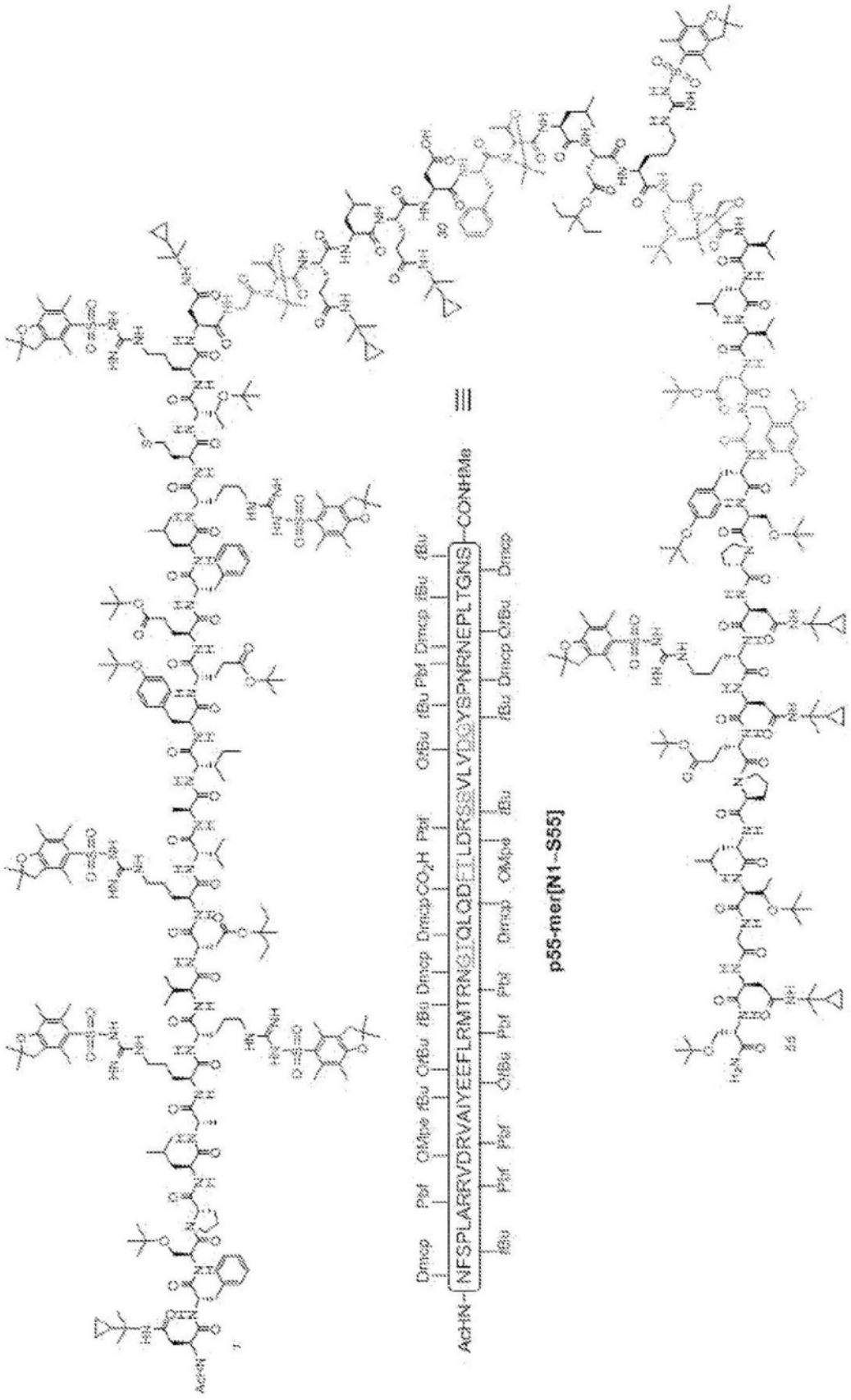


图27A

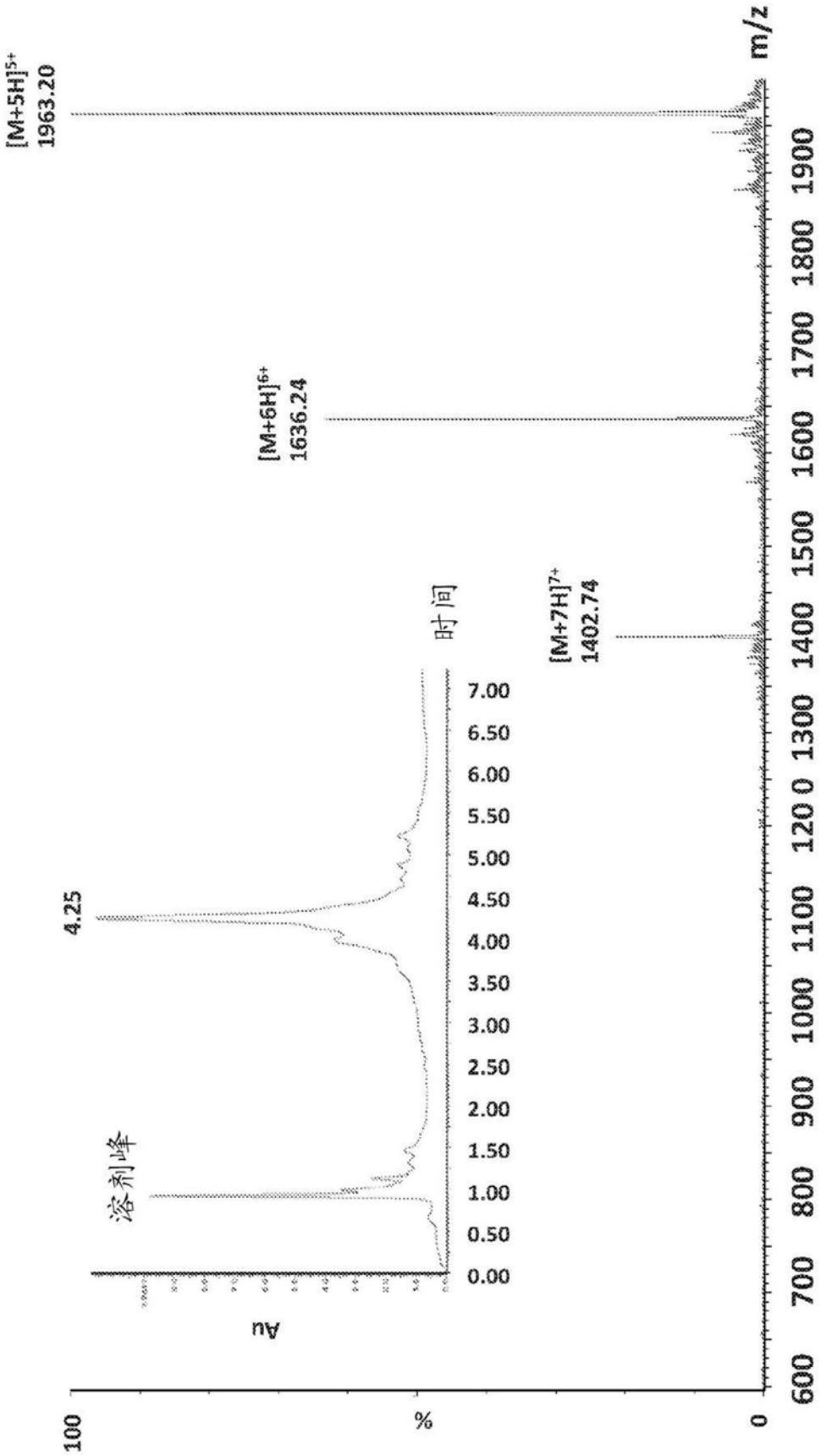

[M+5H]5+
1963.20
[M+6H]6+
1636.24
[M+7H]7+
1402.74
m/z
600 700 800 900 1000 1100 1200 1300 1400 1500 1600 1700 1800 1900
100
%
0
Au
时间
7.00 6.50 6.00 5.50 5.00 4.50 4.00 3.50 3.00 2.50 2.00 1.50 1.00 0.50 0.00
4.25
溶剂峰

图27B

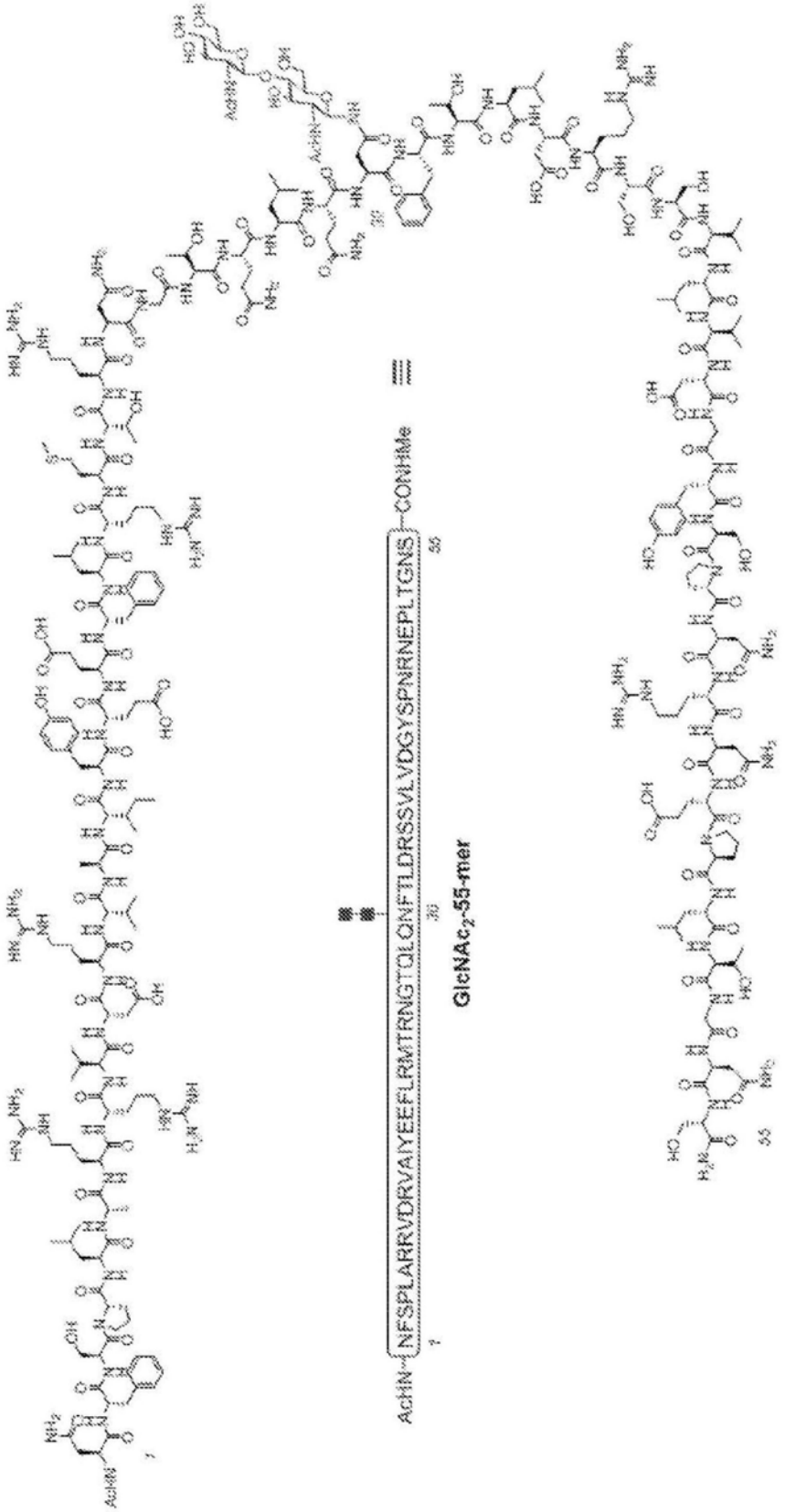

AcHN-NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNS-CONHMe
GlcNAc2-55-mer

图28A

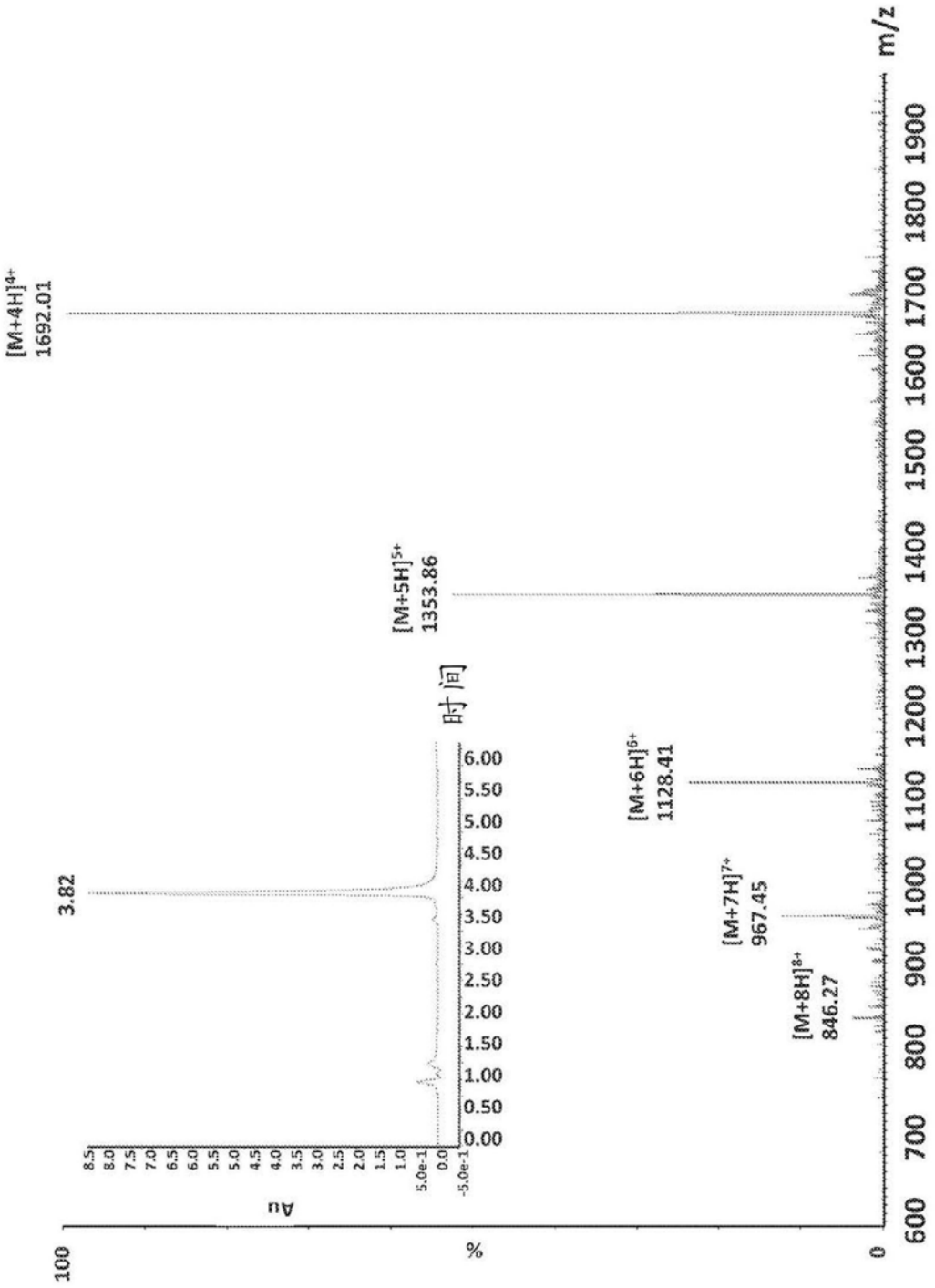

m/z
600 700 800 900 1000 1100 1200 1300 1400 1500 1600 1700 1800 1900
[M+4H]4+
1692.01
[M+5H]5+
1353.86
[M+6H]6+
1128.41
[M+7H]7+
967.45
[M+8H]8+
846.27
100
%
0
3.82
时间
6.00 5.50 5.00 4.50 4.00 3.50 3.00 2.50 2.00 1.50 1.00 0.50 0.00
Au
8.5 8.0 7.5 7.0 6.5 6.0 5.5 5.0 4.5 4.0 3.5 3.0 2.5 2.0 1.5 1.0 5.0e-1 0.0 -5.0e-1

图28B

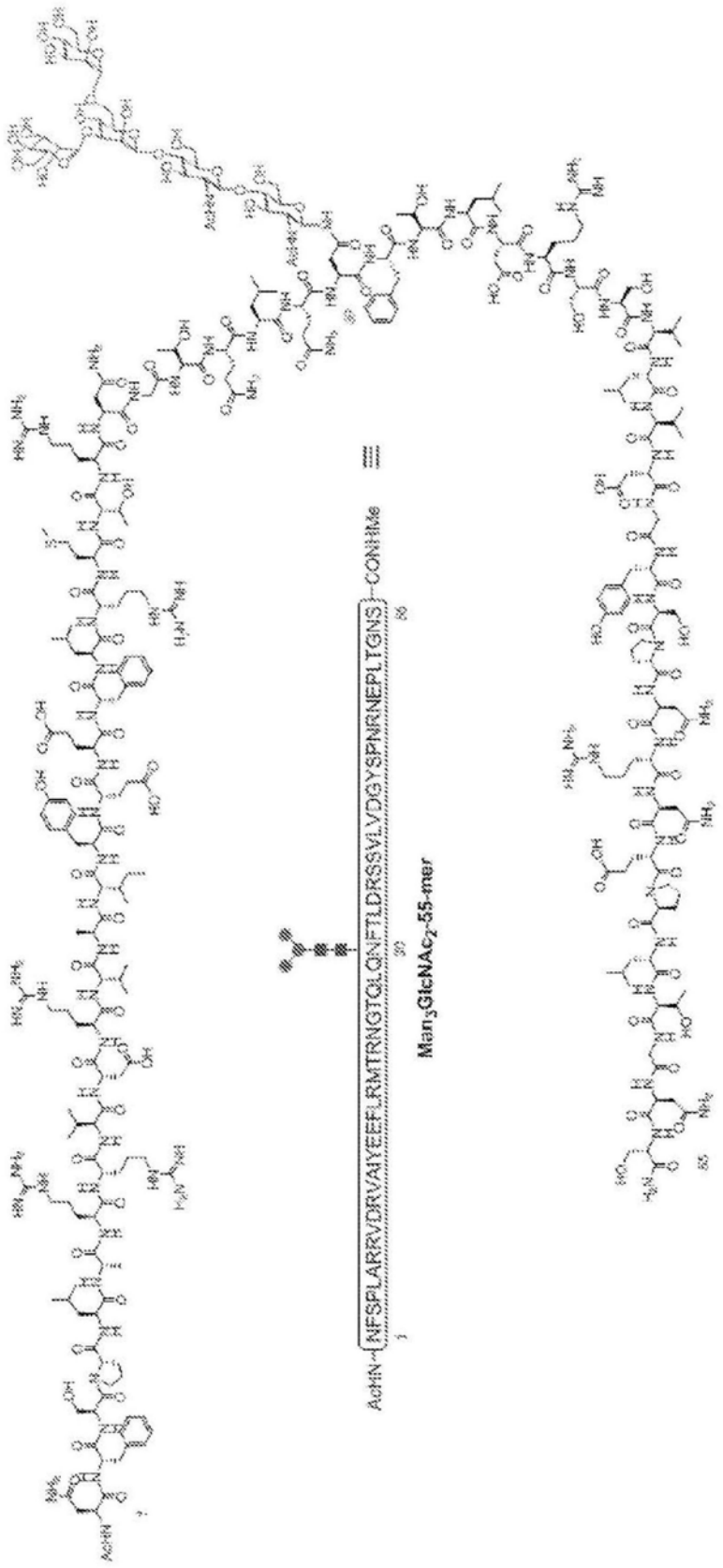

AcHN-NFSPLARRVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLTGNS-CONHMe
Man3GlcNAc2-55-mer

图29A

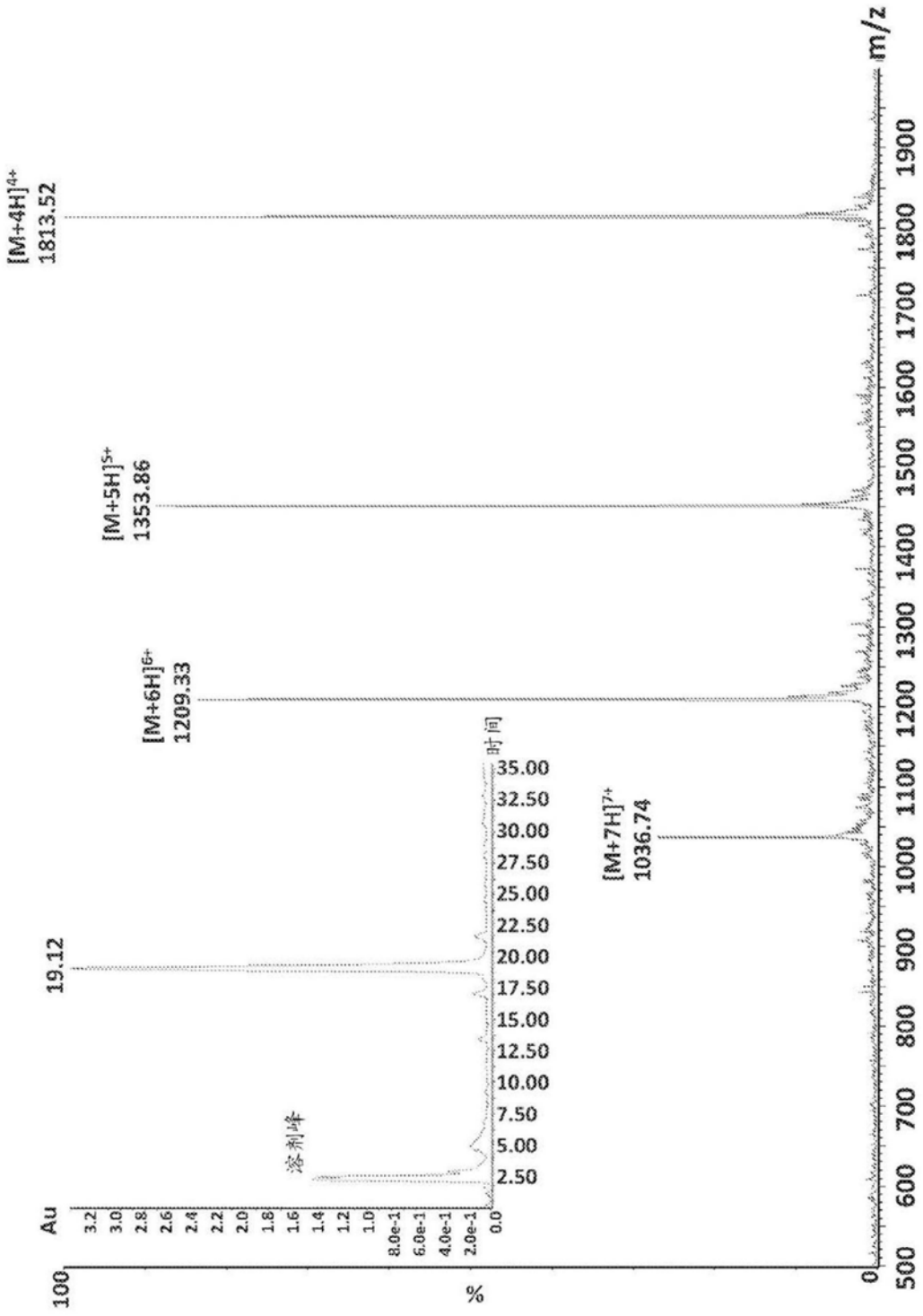

[M+4H]4+
1813.52
[M+5H]5+
1353.86
[M+6H]6+
1209.33
[M+7H]7+
1036.74
19.12
溶剂峰
时间
35.00
32.50
30.00
27.50
25.00
22.50
20.00
17.50
15.00
12.50
10.00
7.50
5.00
2.50
Au
3.2
3.0
2.8
2.6
2.4
2.2
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
8.0e-1
6.0e-1
4.0e-1
2.0e-1
0.0
100
%
0
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
1400
1500
1600
1700
1800
1900
m/z

图29B

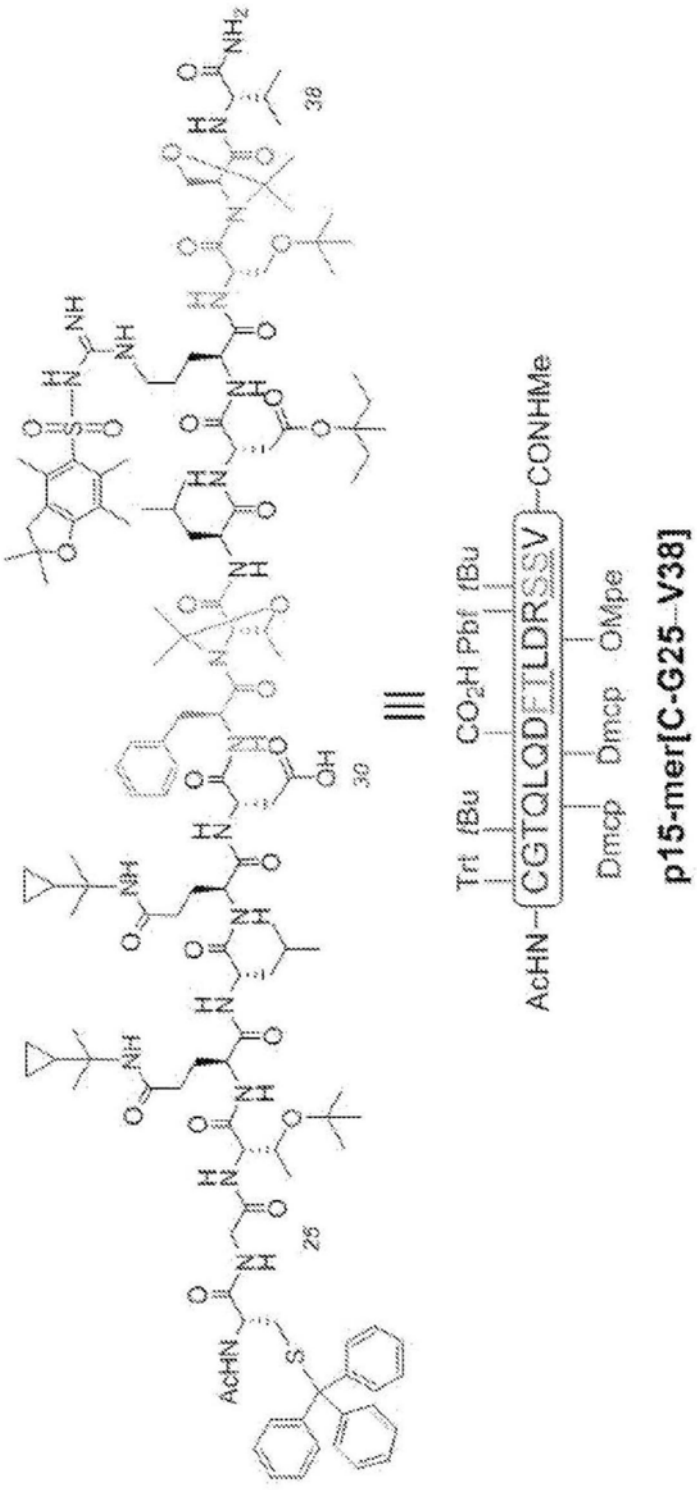

AcHN
CGTQLQDFTLDRSSV
CONHMe
Trt tBu
CO2H Pbf tBu
Dmcp Dmcp OMpe
p15-mer[C-G25–V38]
38
30
26

图30A

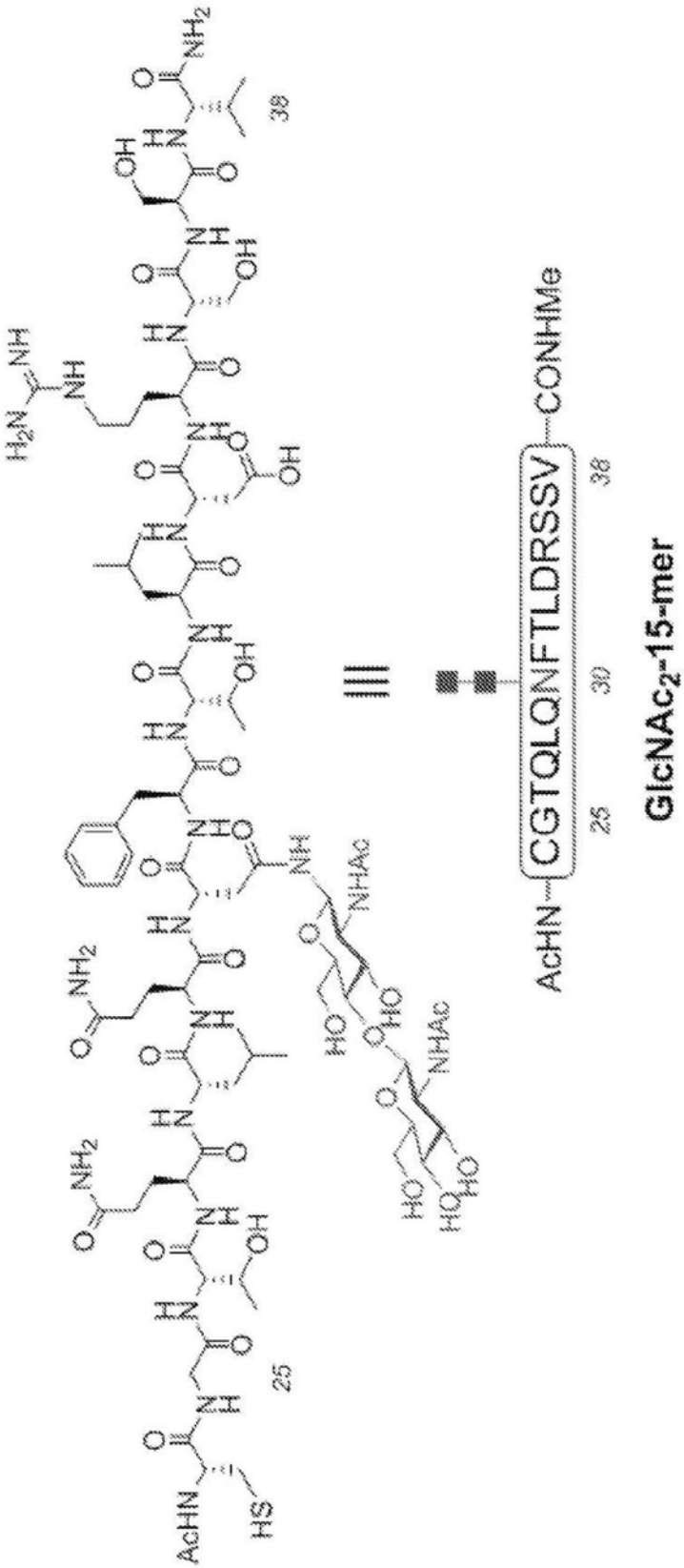


图30B

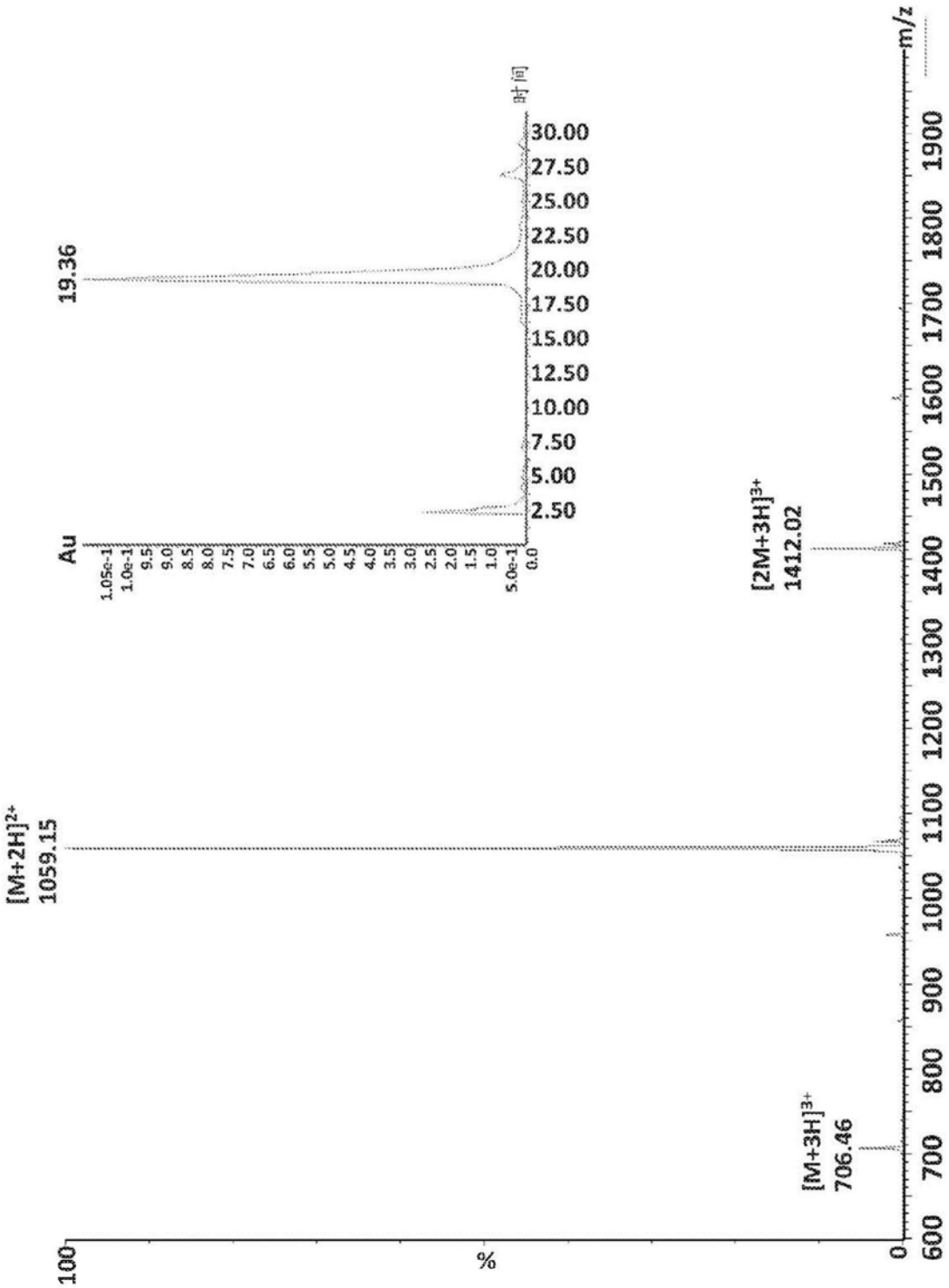

m/z
600 700 800 900 1000 1100 1200 1300 1400 1500 1600 1700 1800 1900
100
%
0
[M+2H]2+
1059.15
[M+3H]3+
706.46
[2M+3H]3+
1412.02
19.36
Au
时间
30.00
27.50
25.00
22.50
20.00
17.50
15.00
12.50
10.00
7.50
5.00
2.50

图30C

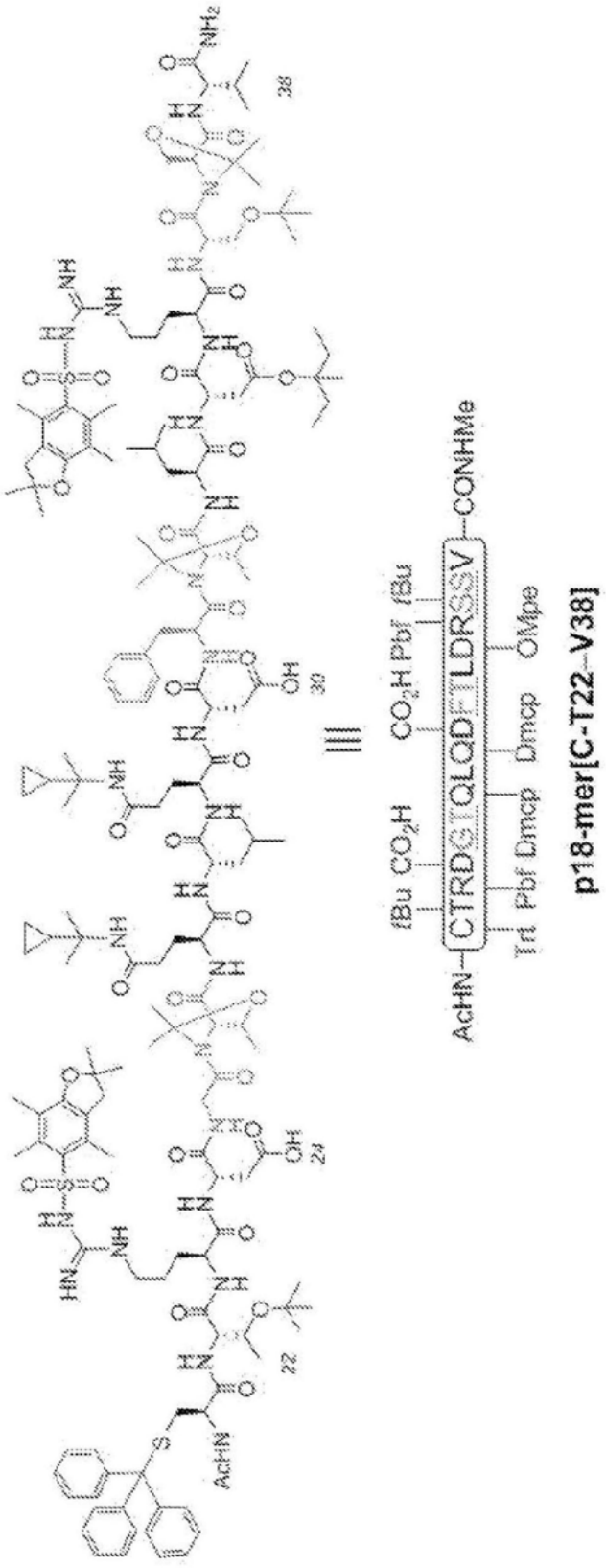

AcHN
CTRDGTQLQDFTLDRSSV
CONHMe
fBu CO2H
CO2H Pbf fBu
Trt Pbf Dmcp
Dmcp OMpe
p18-mer[C-T22–V38]

图31A

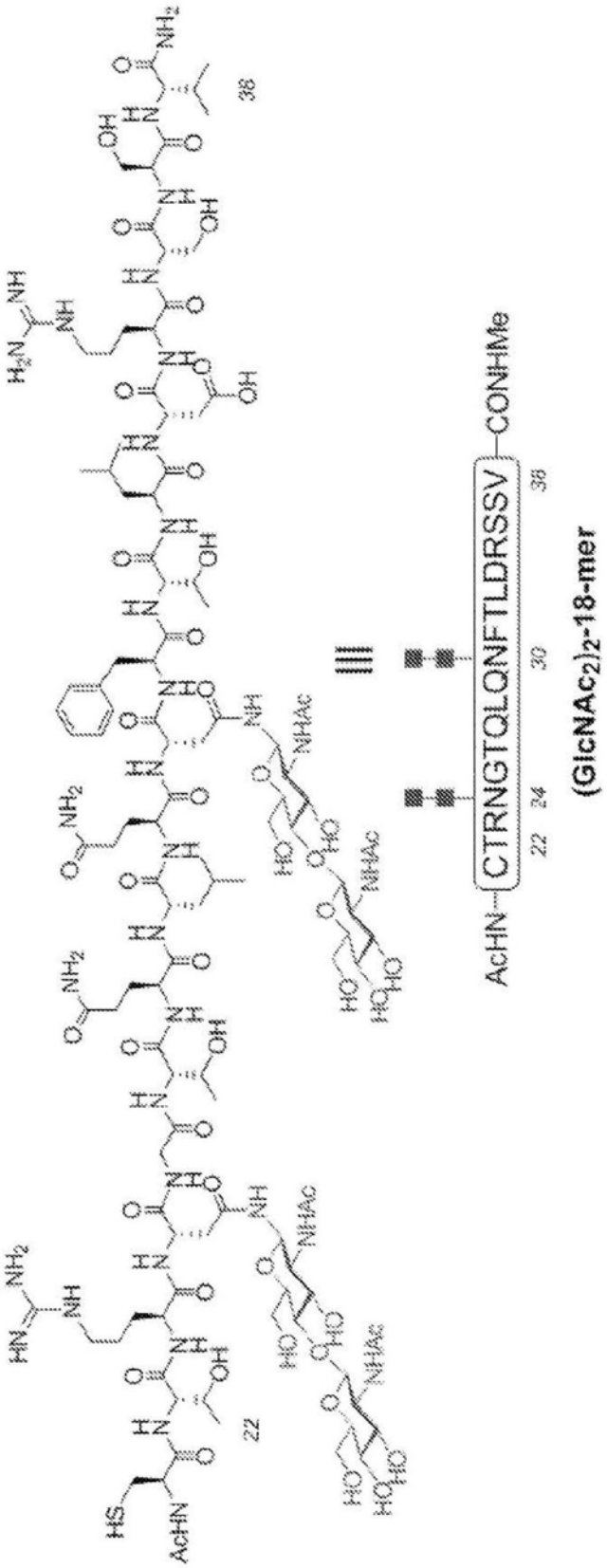

AcHN
CTRNGTQLQNFTLDRSSV
CONHMe
22
24
30
36
38
(GlcNAc2)2-18-mer

图31B

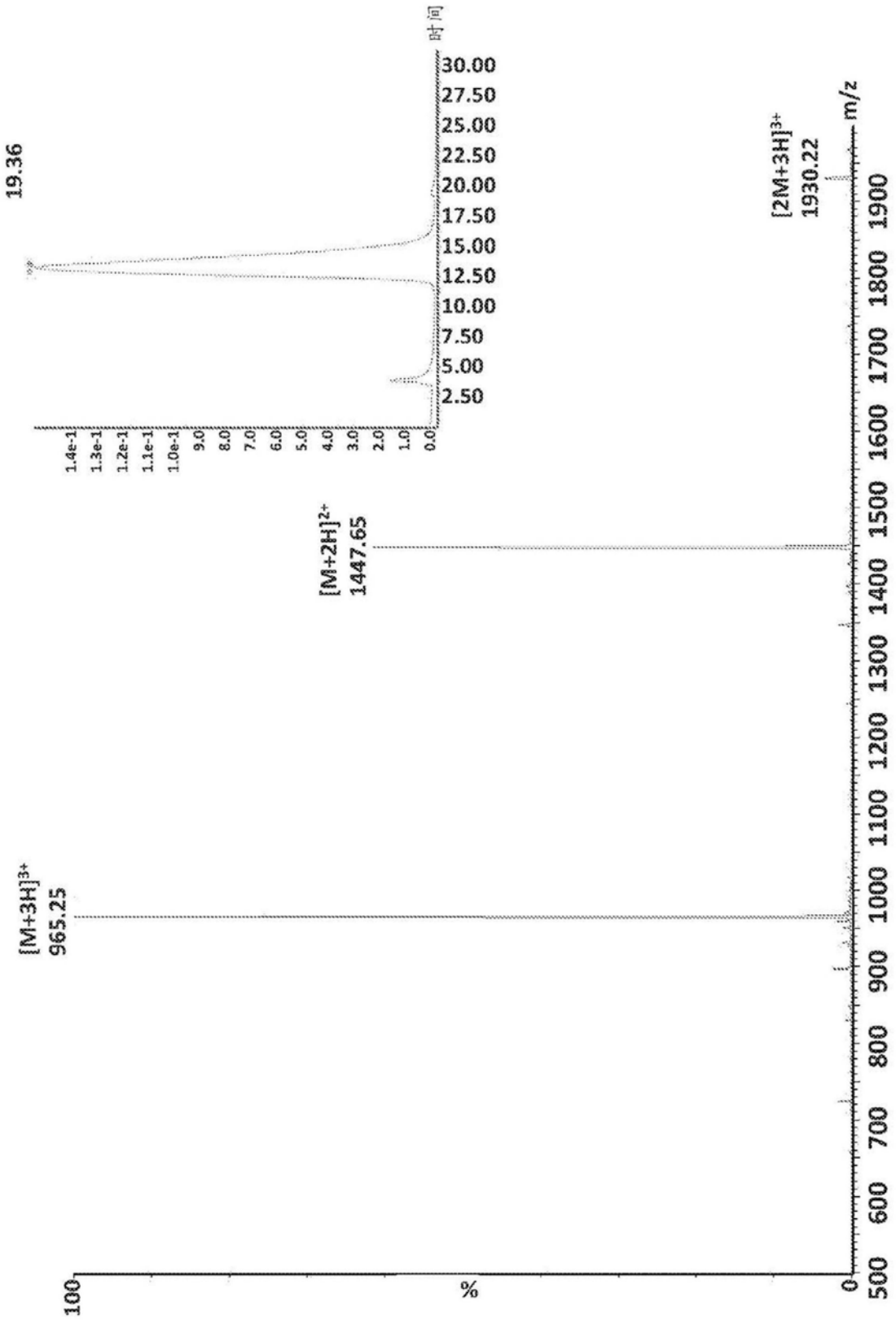

时间
30.00
27.50
25.00
22.50
20.00
17.50
15.00
12.50
10.00
7.50
5.00
2.50
19.36
1.4e-1
1.3e-1
1.2e-1
1.1e-1
1.0e-1
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
[M+3H]3+
965.25
[M+2H]2+
1447.65
[2M+3H]3+
1930.22
m/z
100
%
0
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
1400
1500
1600
1700
1800
1900

图31C

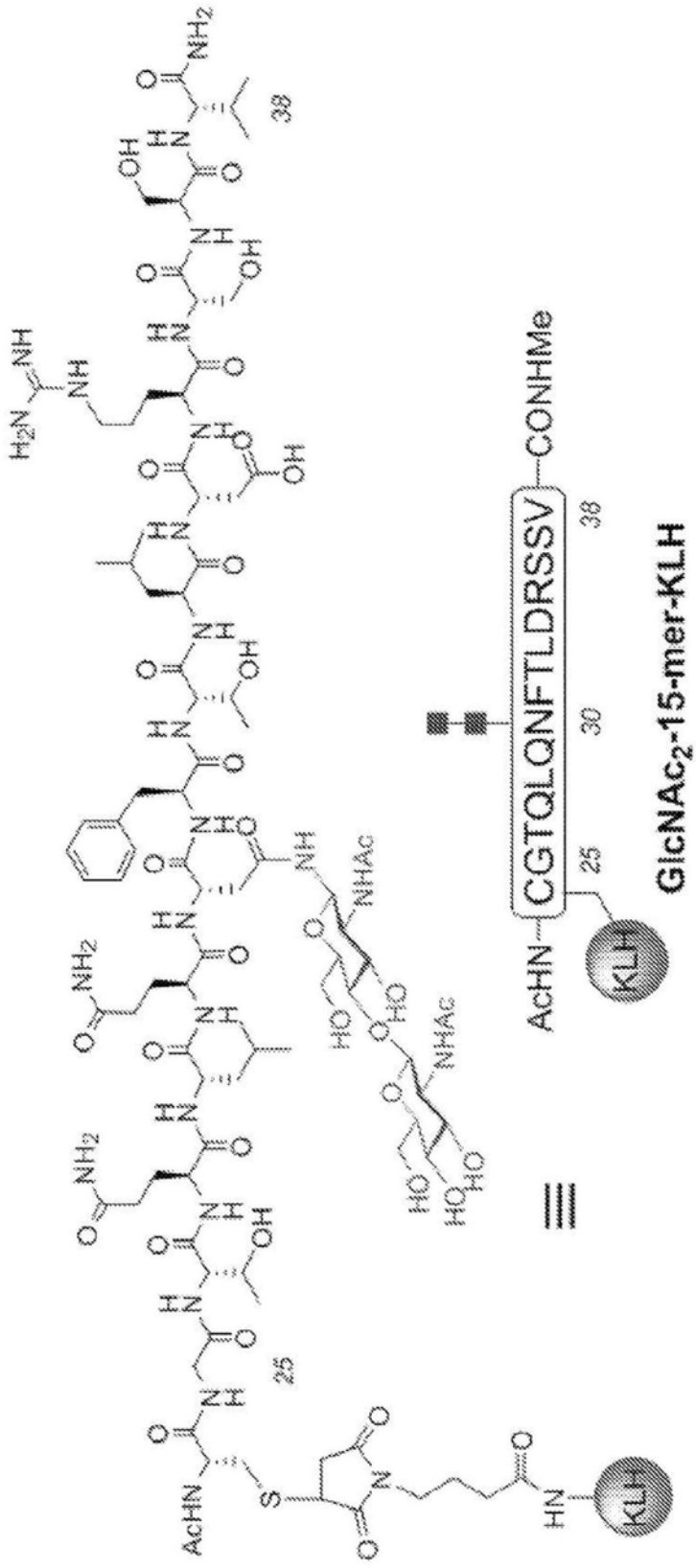

AcHN
CGTQLQNFTLDRSSV
CONHMe
KLH
GlcNAc2-15-mer-KLH
25
30
38
NHAc
HO
HN

图32A

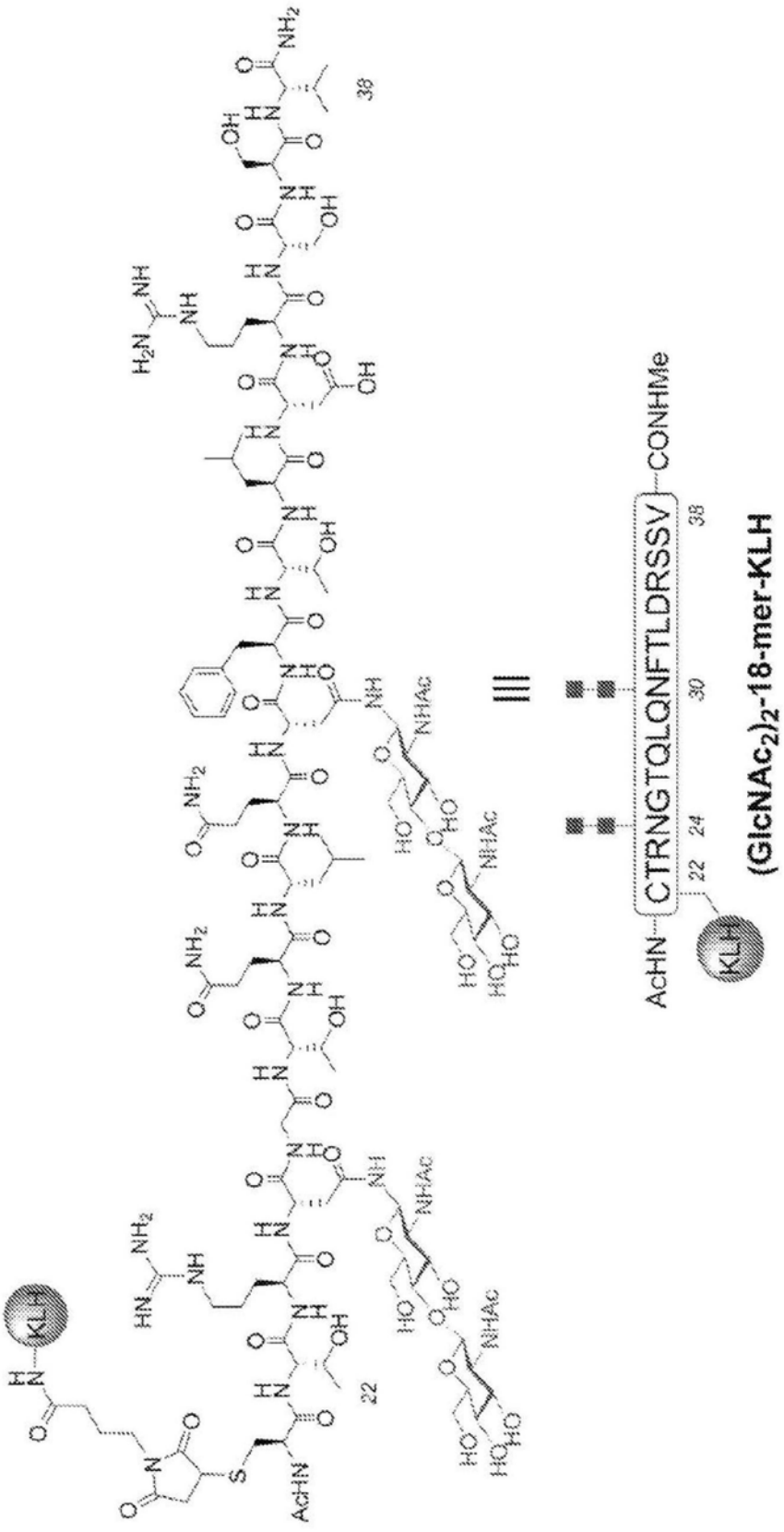

KLH
AcHN
CTRNGTQLQNFTLDRSSV
CONHMe
22
24
30
38
(GlcNAc2)2-18-mer-KLH

图32B