(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109641952 A
(43)申请公布日 2019.04.16

(21)申请号 201780041806.7

(22)申请日 2017.07.17

(30)优先权数据
62/363,546 2016.07.18 US
62/474,753 2017.03.22 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.01.04

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/042447 2017.07.17

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2018/017497 EN 2018.01.25

(71)申请人 瑞泽恩制药公司
地址 美国纽约州

(72)发明人 C·基拉特索斯 W·奥尔森 P·马松

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 凌立 黄革生

(51)Int.Cl.
C07K 16/18(2006.01)
A61K 39/00(2006.01)

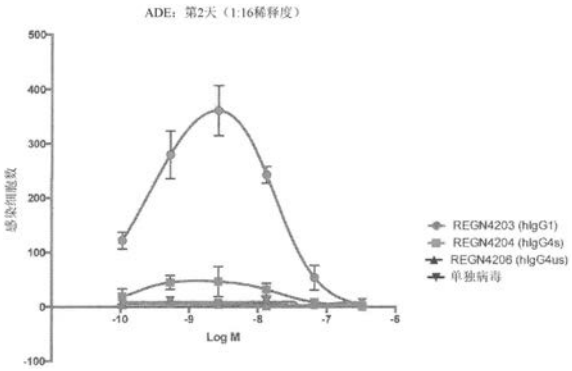
权利要求书6页 说明书52页
序列表130页 附图7页

(54)发明名称

抗兹卡病毒抗体和使用方法

(57)摘要

本发明提供结合到ZIKV糖蛋白的单克隆抗体或其抗原结合片段、包含所述抗体的医药组合物和使用方法。本发明抗体适用于抑制或中和ZIKV活性，从而提供一种治疗或预防人类被ZIKV感染的方式。在一些实施例中，本发明提供一种或多种结合到ZIKV的抗体用于防止病毒附着和/或进入宿主细胞的用途。本发明抗体可以预防性或治疗性地使用，且可以单独或与一种或多种其它抗病毒药剂或疫苗组合使用。



CN 109641952 A

1.一种单离的重组单克隆抗体或其抗原结合片段，其特异性结合到ZIKA病毒(ZIKV)和/或ZIKV包膜糖蛋白(E)，其中所述抗体或其抗原结合片段以小于或等于约10^{-9}M的IC_{50}试管内中和ZIKV，且其中所述抗体或其抗原结合片段在ZIKV感染的动物中展现活体内保护作用。

2.根据权利要求1所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体包含三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述重链互补决定区含在选自由以下所组成的群组的任一种重链可变区(HCVR)序列内：SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322和338；和三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述轻链互补决定区含在选自由以下所组成的群组的任一种轻链可变区(LCVR)序列内：SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330和346。

3.根据权利要求1或权利要求2所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其包含氨基酸序列选自由以下所组成的群组的HCVR：SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322和338。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其包含氨基酸序列选自由以下所组成的群组的LCVR：SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330和346。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其包含：

(a)HCDR1域，其具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列：SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324和340；

(b)HCDR2域，其具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列：SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326和342；

(c)HCDR3域，其具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列：SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328和344；

(d)LCDR1域，其具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列：SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332和348；

(e)LCDR2域，其具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列：SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334和350；

(f)LCDR3域，其具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列：SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336和352。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其包含选自由以下所组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对：SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330，和338/346。

7.根据权利要求5所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其包含HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:116；HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:118；HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:120；LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:124；LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:126；和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:128。

8.根据权利要求5所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其包含HCDR1氨基酸序

列SEQ ID NO:260;HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:262;HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:264;LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:268;LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:270;和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:272。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体进一步包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:357的Fc域。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段不引起抗体依赖性增强(ADE)。

11.根据权利要求2至10中任一项所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其具有以下特征中的一种或多种:

(a)是完全人类单克隆抗体;

(b)以约80pM至约150nM范围内的EC_{50}结合到表达ZIKV prM/E的VLP;

(c)以小于10^{-7}M的解离常数(K_D)结合到ZIKV E,如表面等离子体共振分析中所测量;或

(d)在pH 5或pH 6下可以或可以不展现相对于pH 7.4的解离半衰期(t1/2)变化。

12.一种单离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其与参考抗体或抗原结合片段竞争结合到ZIKV和/或ZIKV E,所述单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCVR的CDR,其中所述HCVR具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322和338;和LCVR的CDR,其中所述LCVR具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330和346。

13.一种单离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其与参考抗体或抗原结合片段结合到ZIKV和/或ZIKV E上的相同表位,所述单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCVR的CDR,其中所述HCVR具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322和338;和LCVR的CDR,其中所述LCVR具有选自由以下所组成的群组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330和346。

14.一种中和感染性ZIKV的方法,所述方法包含将感染ZIKV的细胞暴露于包含一种或多种根据权利要求1至11中任一项所述的抗ZIKV抗体或其抗原结合片段的组合物,其中所述暴露使得对所述细胞的保护增强以免病毒感染或细胞死亡。

15.根据权利要求14所述的方法,其中所述一种或多种抗ZIKV抗体或其抗原结合片段中和具有野生型E蛋白的感染性ZIKV,其中所述野生型E蛋白具有SEQ ID NO:376位置302处的丝氨酸、SEQ ID NO:376位置311处的苏氨酸,和SEQ ID NO:376位置369处的赖氨酸,但不中和具有所述E蛋白的突变形式的感染性ZIKV,其中所述E蛋白的所述突变形式含有以下变化中的一种或多种:SEQ ID NO:376位置302处的苯丙氨酸、SEQ ID NO:376位置311处的异亮氨酸,或SEQ ID NO:376位置369处的谷氨酸。

16.根据权利要求14所述的方法,其中所述保护增强是在所述抗体单独使用时或在其与一种或多种额外治疗剂或抗ZIKV治疗模式组合使用时观察到,其中所述一种或多种额外治疗剂是选自由以下所组成的群组:抗病毒药物、消炎药物(例如皮质类固醇和非类固醇消炎药物)、一种或多种不同抗ZIKV抗体、ZIKV疫苗、免疫调节剂和干扰素。

17.根据权利要求16所述的方法,其中所述一种或多种不同抗ZIKV抗体包含选自由以

下所组成的群组的重链可变区(HCVR)和轻链可变区(LCVR)氨基酸序列对:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330,和338/346。

18.一种医药组合物,其包含一种或多种特异性结合到ZIKV的根据权利要求1至11中任一项所述的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段,和医药学上可接受的载剂或稀释剂。

19.根据权利要求18所述的医药组合物,其中所述一种或多种特异性结合到ZIKV的单离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述重链互补决定区含在选自由以下所组成的群组的任一种重链可变区(HCVR)序列内:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322和338;和三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述轻链互补决定区含在由以下所组成的群组的任一种轻链可变区(LCVR)序列内:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330和346。

20.根据权利要求18或权利要求19中任一项所述的医药组合物,其中所述一种或多种特异性结合到ZIKV的单离的单克隆抗体包含选自由以下所组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330,和338/346。

21.根据权利要求18至20中任一项所述的医药组合物,其中所述一种或多种特异性结合到ZIKV的单离的单克隆抗体包含选自由SEQ ID NO:66/74、114/122和258/266组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

22.根据权利要求21所述的医药组合物,其中所述一种或多种特异性结合到ZIKV的单离的单克隆抗体包含选自由SEQ ID NO:114/122和258/266组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

23.根据权利要求18至22中任一项所述的医药组合物,其中所述一种或多种特异性结合到ZIKV的单离的单克隆抗体包含:

a)特异性结合到ZIKV的第一单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:116的HCDR1;具有氨基酸序列SEQ ID NO:118的HCDR2;具有氨基酸序列SEQ ID NO:120的HCDR3;具有氨基酸序列SEQ ID NO:124的LCDR1;具有氨基酸序列SEQ ID NO:126的LCDR2;具有氨基酸序列SEQ ID NO:128的LCDR3;

b)特异性结合到ZIKV的第二单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:260的HCDR1;具有氨基酸序列SEQ ID NO:262的HCDR2;具有氨基酸序列SEQ ID NO:264的HCDR3;具有氨基酸序列SEQ ID NO:268的LCDR1;具有氨基酸序列SEQ ID NO:270的LCDR2;具有氨基酸序列SEQ ID NO:272的LCDR3;以及

c)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

24.根据权利要求18至23中任一项所述的医药组合物,其中所述一种或多种抗ZIKV抗体中和一种或多种选自由以下所组成的群组的ZIKV株:MR766(乌干达1947)、PRVABC59(波多黎各2015),和FLR(哥伦比亚2015)株。

25.一种医药组合物,其包含至少两种特异性结合到ZIKV的单离的单克隆抗体或其抗

原结合片段，和医药学上可接受的载剂或稀释剂，其中所述两种单克隆抗体中的至少一种以小于约10^{-9}M的IC_{50}试管内中和ZIKV且在ZIKV感染的动物中展现活体内保护作用。

26.根据权利要求25的医药组合物，其中所述组合物包含(a)第一抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段；(b)第二抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段；其中所述第一抗体结合到ZIKV上的第一表位或与其相互作用，且所述第二抗体结合到ZIKV上的第二不同表位或与其相互作用；以及(c)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

27.根据权利要求25或权利要求26中任一项所述的医药组合物，其中所述第一和第二抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段包含三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2，和HCDR3)，所述重链互补决定区含在选自由以下所组成的群组的任一种重链可变区(HCVR)序列内：SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322和338；和三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述轻链互补决定区含在由以下所组成的群组的任一种轻链可变区(LCVR)序列内：SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330和346。

28.根据权利要求25至27中任一项所述的医药组合物，其中：

a)所述第一抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:116的HCDR1；具有氨基酸序列SEQ ID NO:118的HCDR2；具有氨基酸序列SEQ ID NO:120的HCDR3；具有氨基酸序列SEQ ID NO:124的LCDR1；具有氨基酸序列SEQ ID NO:126的LCDR2；和具有氨基酸序列SEQ ID NO:128的LCDR3；且其中

b)特异性结合到ZIKV的所述第二抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:260的HCDR1；具有氨基酸序列SEQ ID NO:262的HCDR2；具有氨基酸序列SEQ ID NO:264的HCDR3；具有氨基酸序列SEQ ID NO:268的LCDR1；具有氨基酸序列SEQ ID NO:270的LCDR2；和具有氨基酸序列SEQ ID NO:272的LCDR3。

29.根据权利要求25至28中任一项所述的医药组合物，其中所述至少两种特异性结合到ZIKV的抗ZIKV抗体包含HCVR/LCVR氨基酸序列对SEQ ID NO:114/122和SEQ ID NO:258/266。

30.根据权利要求25至29中任一项所述的医药组合物，其中所述至少两种抗ZIKV抗体中和一种或多种选自由以下所组成的群组的ZIKV株：MR766(乌干达1947)、PRVABC59(波多黎各2015)，和FLR(哥伦比亚2015)株。

31.一种医药组合物，其包含特异性结合到ZIKV的第一单离单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述第一单离单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:116；HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:118；HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:120；LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:124；LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:126；和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:128；以及医药学上可接受的载剂或稀释剂。

32.根据权利要求31所述的医药组合物，其进一步包含特异性结合到ZIKV的第二单离单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述第二单离单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:260；HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:262；HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:264；LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:268；LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:270；和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:272。

33.一种单离的核酸分子，其编码根据权利要求1至11中任一项所述的特异性结合到

ZIKV的单克隆抗体或其片段。

34.一种载体,其包含根据权利要求33所述的核酸分子。

35.一种单离的细胞,其表达根据权利要求34所述的载体。

36.一种预防、治疗或改善ZIKV感染的至少一种症状,或降低ZIKV感染的至少一种症状的频率或严重性的方法,所述方法包含向有需要的受试者投与一种或多种根据权利要求1至11中任一项所述的抗ZIKV抗体或其抗原结合片段、或包含一种或多种根据权利要求书1至11中任一项所述的抗ZIKV抗体或其抗原结合片段的医药组合物。

37.根据权利要求36所述的方法,其中所述一种或多种抗ZIKV抗体包含HCVR/LCVR氨基酸序列对SEQ ID NO:114/122和258/266。

38.根据权利要求37所述的方法,其中所述至少一种症状是选自由以下所组成的群组:发热、头痛、关节痛、肌痛和斑丘疹。

39.根据权利要求36所述的方法,其中所述医药组合物预防性地或治疗性地投与所述有需要的受试者。

40.根据权利要求36项所述的方法,其中所述有需要的受试者是处于暴露于ZIKV感染或获得ZIKV感染的风险中,且其中所述受试者是选自由以下所组成的群组:已暴露于ZIKV或已被怀疑带有ZIKV的蚊子叮咬的孕妇;生活在ZIKV爆发的地区,或正在访问ZIKV爆发的地区,和正考虑怀孕的女性;免疫受损的个体;怀疑已暴露于带有ZIKV的人的人;与感染个体发生身体接触或身体紧密靠近的人;医院员工;医药研究者;负责清洁治疗ZIKV患者的医院设备或设施的维护人员;已访问或计划访问已知或怀疑ZIKV爆发的地区或国家或已知具有带有ZIKV的蚊子的国家的个体。

41.根据权利要求36项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段、或包含所述抗体或其抗原结合片段的所述医药组合物是与第二治疗剂组合投与,其中所述第二治疗剂是选自由以下所组成的群组:抗病毒药物、消炎药物(例如皮质类固醇和非类固醇消炎药物)、针对ZIKV的不同抗体、ZIKV疫苗、免疫调节剂,和干扰素。

42.根据权利要求36项所述的方法,其中所述医药组合物是皮下、静脉内、皮内、肌内、鼻内或经口投与。

43.一种减小ZIKV传播至妊娠女性的胎儿的可能性和/或防止传播至男性生殖器官的方法,所述方法包含投与至少一种根据权利要求1至11中任一项所述的抗体或抗原结合片段、或包含至少一种根据权利要求1至11中任一项所述的抗体或抗原结合片段的医药组合物。

44.根据权利要求43所述的方法,其包含投与抗体混合物,所述抗体混合物包含至少两种抗ZIKV抗体的混合物,其中所述至少两种抗ZIKV抗体包含HCVR/LCVR氨基酸序列对SEQ ID NO:114/122和258/266。

45.根据权利要求43所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段、或包含所述抗体或其抗原结合片段的所述医药组合物是预防性或治疗性地投与所述有需要的受试者。

46.根据权利要求43所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段、或包含所述抗体或其抗原结合片段的所述医药组合物是与第二治疗剂组合投与,其中所述第二治疗剂是选自由以下所组成的群组:抗病毒药物、消炎药物(例如皮质类固醇和非类固醇消炎药物)、针对ZIKV的不同抗体、ZIKV疫苗、免疫调节剂,和干扰素。

47.根据权利要求46所述的方法，其中所述医药组合物是皮下、静脉内、皮内、肌内、鼻内或经口投与。

抗兹卡病毒抗体和使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及结合到兹卡(Zika)病毒包膜糖蛋白的抗体、包含所述抗体的医药组合物,和其使用方法。

背景技术

[0002] 兹卡病毒(ZIKV)是一种黄病毒科黄病毒属中的正股RNA节足动物携带性病毒(虫媒病毒)(Gubler,DJ等人,在Knipe,DM等人编,《费氏病毒学(Fields Virology)》,第5版,费城(Philadelphia),PA:Lippincott Williams&Wilkins Publishers,2007:1155-227中)。其被认为主要由蚊子(埃及斑蚊(Aedes aegypti))传播给人类。除了由蚊子传播之外,ZIKV可以通过性(Foy,BD等人,(2011),《新发传染病(Emerg.Infect.Dis.)》17:880-882)及垂直(Mlakar,J.等人,(2016),《新英格兰医学期刊(N.Engl.J.Med.)》374:951-958)传播,或通过血液制品或组织样品传播。ZIKV通常导致轻度疾病,其中大部分有症状的个体有皮疹及轻度发热不适。然而,当孕妇感染ZIKV时,胎儿小头畸形发育(Schuler-Faccini,L.等人,(2016),《发病率及死亡率周报(MMWR Morb.Mortal.Wkly Rep.)》65:59-62)或其它发育异常(Brasil等人,(2016)《新英格兰医学期刊》3月4日)的风险增加。还已经报道,ZIKV在感染所述病毒的患者中与格-巴二氏综合症(Guillain-Barré syndrome)相关(Cao-Lormeau,VM等人,(2016),《柳叶刀(Lancet)》,4月9日;387(10027):1531-9)。此外,还已有ZIKV与脑缺血、脊髓炎和脑膜脑炎关联的报道(Carteaux,G.等人(2016),新英格兰医学期刊》374(16):1595)。

[0003] ZIKV的趋性及发病机理在很大程度上是未知的。一般来说,黄病毒是包膜病毒,其含有被二十面体壳包围、与衣壳蛋白的多个拷贝复合的约11,000个碱基的单链RNA基因组,所述二十面体壳由包膜糖蛋白(E)(约500个氨基酸)及膜蛋白(M)(约75个氨基酸)或前驱膜蛋白(prM)(约165个氨基酸)的各180个拷贝组成,所有拷贝均固定在脂质膜中。基因组还编码七种涉及复制及组装的非结构蛋白(Sirohi,D.等人,(2016),《科学(Science)》,352:467-470)。

[0004] 黄病毒病毒粒子在其生命周期期间,以不成熟(非感染性)状态及成熟(感染性)状态存在(Lindenbach,BD,于《费氏病毒学》,Knipe,DM及Howley,PM编,费城(Philadelphia),PA:Lippincott Williams&Wilkins Publishers,第6版,第1卷,2013,第25章,第712-746页中)。

[0005] ZIKV包膜糖蛋白(E)可以是保护性抗体的目标,但至今为止,尚无特异性针对ZIKV包膜糖蛋白的抗体进入临床测试。因此,所述领域中仍需要鉴别可以用于预防或治疗ZIKV感染的新抗体。

发明内容

[0006] 本发明提供结合ZIKV E的抗体和其抗原结合片段。本发明抗体可以用于抑制或中和ZIKV的活性。在一些实施例中,所述抗体可以用于阻断ZIKV附着至宿主细胞或用于防止

病毒融合至宿主细胞膜。这样，本发明抗体阻断病毒进入宿主细胞。在某些实施例中，所述抗体可以用于预防、治疗或改善受试者被ZIKV感染的至少一种症状。在某些实施例中，本发明抗体可以中和病毒，且这样，可防止病毒在妊娠女性中传播至其胎儿，从而预防所述妊娠女性的胎儿出现畸形小头(或其它发育异常)。在某些实施例中，所述抗体可预防性或治疗性地投与患有ZIKV感染、或处于获得ZIKV感染的风险、或处于传播ZIKV感染的风险的受试者。在某些实施例中，含有至少一种本发明抗体的组合物可投与禁忌疫苗的或疫苗不太有效的受试者，例如老年患者、非常年轻的患者、妊娠女性患者、对疫苗的任何一种或多种组分过敏的患者、或可对疫苗的免疫原无反应的免疫受损患者。在某些实施例中，含有至少一种本发明抗体的组合物可投与妊娠女性、医务人员、住院患者或疗养院居民、到已知ZIKV爆发的国家旅行或到已知具有携带ZIKV的蚊子的国家旅行的个体、或在ZIKV爆发期间的其它高风险患者。在某些实施例中，含有至少一种本发明抗体的组合物可作为第一线疗发投与已经暴露于ZIKV的患者。

[0007] 本发明抗体可以是全长的(例如IgG1或IgG4抗体)或可仅包含抗原结合部分(例如Fab、F(ab′)$_2$、或scFv片段)，且可经修饰以影响功能性，例如增加在宿主中的持就性或消除残余效应功能(Reddy等人，2000，《免疫学杂志(J.Immunol.)》164:1925-1933)。在某些实施例中，抗体可以是双特异性的。

[0008] 在第一方面中，本发明提供单离重组单克隆抗体或其抗原结合片段，其特异性结合到ZIKV包膜糖蛋白(E)。

[0009] 在一个实施例中，本发明提供一种单离重组抗体或其抗原结合片段，其特异性结合到ZIKV和/或ZIKV E，其中所述抗体或其抗原结合片段以小于或等于10^{-9}M的IC_{50}试管内中和ZIKV，且其中所述抗体或其抗原结合片段在ZIKV感染动物中显示活体内保护作用。

[0010] 在一个实施例中，本发明提供一种单离重组抗体或其抗原结合片段，其特异性结合到ZIKV和/或ZIKV E，其中所述抗体具有以下特征中的一种或多种：

[0011] (a)是完全人类单克隆抗体；

[0012] (b)以约80pM至约150nM范围内的EC_{50}结合到表达兹卡prM/E的VLP；

[0013] (c)以小于10^{-7}M的解离常数(K_D)结合到ZIKV E，如在表面等离子体共振分析中所测量；或

[0014] (d)在pH 5或pH 6下可以或可以不显示相对于pH 7.4的解离半衰期(t1/2)变化。

[0015] 本发明的例示性抗ZIKV E抗体列举于本文的表1及2中。表1阐明例示性抗ZIKV E抗体的重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)、重链互补决定区(HCDR1、HCDR2，和HCDR3)，和轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2，和LCDR3)的氨基酸序列识别符。表2阐明例示性抗ZIKV E抗体的HCVRs、LCVRs、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2，和LCDR3的核酸序列识别符。

[0016] 本发明提供包含HCVR的抗体或其抗原结合片段，所述HCVR包含选自表1所列的任一种HCVR氨基酸序列的氨基酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％、或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0017] 本发明还提供包含LCVR的抗体或其抗原结合片段，所述LCVR包含选自表1所列的任一种LCVR氨基酸序列的氨基酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％、或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0018] 本发明还提供包含HCVR及LCVR氨基酸序列对(HCVR/LCVR)的抗体或其抗原结合片

段，所述氨基酸序列对包含表1中所列举的任一种HCVR氨基酸序列和表1中所列举的任一种LCVR氨基酸序列的对。根据某些实施例，本发明提供包含HCVR/LCVR氨基酸序列对的抗体或其抗原结合片段，所述HCVR/LCVR氨基酸序列对包含在表1中所列举的任一种例示性抗ZIKV E抗体内。

[0019] 在一个实施例中，单离抗ZIKV单克隆抗体或抗原结合片段包含：三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2，和HCDR3)，其含在选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的任一种重链可变区(HCVR)序列内：2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322和338；和三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2，和LCDR3)，其含在选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的任一种轻链可变区(LCVR)序列内：10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330和346。

[0020] 在一个实施例中，单离抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCVR，所述HCVR具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列：2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322和338。

[0021] 在一个实施例中，单离抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段包含LCVR，所述LCVR具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列：10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330和346。

[0022] 在一个实施例中，单离抗体或抗原结合片段包含选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对：2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330，和338/346。

[0023] 在某些实施例中，HCVR/LCVR氨基酸序列对是选自由SEQ ID NO：66/74(H4H25598P)、SEQ ID NO：114/122(H4H25619P)，和SEQ ID NO：258/266(H4H25703N)所组成的群组。在一个实施例中，HCVR/LCVR氨基酸序列对是选自由SEQ ID NO：114/122(H4H25619P)及SEQ ID NO：258/266(H4H25703N)所组成的群组。

[0024] 在一个实施例中，单离抗体或抗原结合片段包含：

[0025] (a)HCDR1域，其具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列：4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324，和340；

[0026] (b)HCDR2域，其具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列：6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326，和342；

[0027] (c)HCDR3域，其具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列：8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328，和344；

[0028] (d)LCDR1域，其具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列：12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332，和348；

[0029] (e)LCDR2域，其具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列：14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334，和350；

[0030] (f)LCDR3域，其具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列：16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336，和

352。

[0031] 在一个实施例中,单离抗体或其抗原结合片段包含:HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:68;HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:70;HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:72;LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:76;LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:78;和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:80。

[0032] 在一个实施例中,单离抗体或其抗原结合片段包含:HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:116;HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:118;HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:120;LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:124;LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:126;和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:128。

[0033] 在一个实施例中,单离抗体或其抗原结合片段包含:HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:260;HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:262;HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:264;LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:268;LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:270;和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:272。

[0034] 本发明还提供包含重链CDR1(HCDR1)的抗体或其抗原结合片段,所述HCDR1包含选自表1中所列举的任一种HCDR1氨基酸序列的氨基酸序列,或具有至少90%、至少95%、至少98%、或至少99%序列一致性的其实质相似序列。

[0035] 本发明还提供包含重链CDR2(HCDR2)的抗体或其抗原结合片段,所述HCDR2包含选自表1中所列举的任一种HCDR2氨基酸序列的氨基酸序列,或具有至少90%、至少95%、至少98%、或至少99%序列一致性的其实质相似序列。

[0036] 本发明还提供包含重链CDR3(HCDR3)的抗体或其抗原结合片段,所述HCDR3包含选自表1中所列举的任一种HCDR3氨基酸序列的氨基酸序列,或具有至少90%、至少95%、至少98%、或至少99%序列一致性的其实质相似序列。

[0037] 本发明还提供包含轻链CDR1(LCDR1)的抗体或其抗原结合片段,所述LCDR1包含选自表1中所列举的任一种LCDR1氨基酸序列的氨基酸序列,或具有至少90%、至少95%、至少98%、或至少99%序列一致性的其实质相似序列。

[0038] 本发明还提供包含轻链CDR2(LCDR2)的抗体或其抗原结合片段,所述LCDR2包含选自表1中所列举的任一种LCDR2氨基酸序列的氨基酸序列,或具有至少90%、至少95%、至少98%、或至少99%序列一致性的其实质相似序列。

[0039] 本发明还提供包含轻链CDR3(LCDR3)的抗体或其抗原结合片段,所述LCDR3包含选自表1中所列举的任一种LCDR3氨基酸序列的氨基酸序列,或具有至少90%、至少95%、至少98%、或至少99%序列一致性的其实质相似序列。

[0040] 本发明还提供包含HCDR3及LCDR3氨基酸序列对(HCDR3/LCDR3)的抗体或其抗原结合片段,所述氨基酸序列对包含表1中所列举的任一种HCDR3氨基酸序列与表1中所列举的任一种LCDR3氨基酸序列的对。根据某些实施例,本发明提供包含HCDR3/LCDR3氨基酸序列对的抗体或其抗原结合片段,所述HCDR3/LCDR3氨基酸序列对含在表1中所列举的任一种例示性抗ZIKV E抗体内。在某些实施例中,HCDR3/LCDR3氨基酸序列对是SEQ ID NO:72/80(例如H4H25598P)及264/272(例如H4H25703N)。

[0041] 本发明还提供包含六个CDR的集合(即,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)的抗体或其抗原结合片段,所述六个CDR的集合含在表1中所列举的任一种例示性抗ZIKV E抗体内。在某些实施例中,所述HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列集合是选自由以下所组成的群组:SEQ ID NO:68-70-72-76-78-80(例如H4H25598P);SEQ ID NO:116、118、120、124、126,和128(H4H25619P);和SEQ ID NO:260-262-264-268-270-272(例如

H4H25703N)。

[0042] 在一个相关实施例中,本发明提供包含六个CDR的集合(即,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)抗体或其抗原结合片段,所述六个CDR的集合含在如表1中所列举的任一种例示性抗ZIKV E抗体所定义的HCVR/LCVR氨基酸序列对内。例如,本发明包括包含HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列集合的抗体或其抗原结合片段,所述氨基酸序列集合含在选自由以下所组成的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:66/74(列如H4H25598P)、SEQ ID NO:114/122(列如H4H25619P),和258/266(例如H4H25703N)。用于识别HCVR及LCVR氨基酸序列内的CDR的方法及技术是所述领域中熟知的,且可以用于鉴别本文中所公开的指定HCVR和/或LCVR氨基酸序列内的CDR。可以用于鉴别CDR边界的例示性惯例包括例如Kabat定义、Chothia定义,和AbM定义。一般来说,Kabat定义是基于序列可变性,Chothia定义是基于结构环区的位置,且AbM定义是Kabat与Chothia方法之间的折衷。参见例如Kabat,"免疫学关注的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)"国立卫生研究院(National Institutes of Health),Bethesda,Md.(1991);Al-Lazikani等人,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》273:927-948(1997);和Martin等人,《美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA)》86:9268-9272(1989)。公共数据库还可以用于鉴别抗活体内的CDR序列。

[0043] 在一个实施例中,本发明提供一种抗ZIKV抗体,其特异性结合到ZIKV且具有重链(HC)氨基酸序列SEQ ID NO:367及轻链(LC)氨基酸序列SEQ ID NO:368。

[0044] 在一个实施例中,本发明提供一种抗ZIKV抗体,其特异性结合到ZIKV且具有重链(HC)氨基酸序列SEQ ID NO:370及轻链(LC)氨基酸序列SEQ ID NO:371。

[0045] 在一个实施例中,本发明提供一种抗ZIKV抗体,其特异性结合到ZIKV且具有重链(HC)氨基酸序列SEQ ID NO:373及轻链(LC)氨基酸序列SEQ ID NO:374。

[0046] 在一个实施例中,本发明提供一种抗ZIKV抗体,其特异性结合到ZIKV且具有重链(HC)氨基酸序列SEQ ID NO:369及轻链(LC)氨基酸序列SEQ ID NO:368。

[0047] 在一个实施例中,本发明提供一种抗ZIKV抗体,其特异性结合到ZIKV且具有重链(HC)氨基酸序列SEQ ID NO:372及轻链(LC)氨基酸序列SEQ ID NO:371。

[0048] 在一个实施例中,本发明提供一种抗ZIKV抗体,其特异性结合到ZIKV且具有重链(HC)氨基酸序列SEQ ID NO:375及轻链(LC)氨基酸序列SEQ ID NO:374。

[0049] 在一个实施例中,本发明抗体能够中和选自由以下所组成的群组的ZIKV株:MR766(乌干达1947)、PRVABC59(波多黎各2015),和FLR(哥伦比亚2015)株。

[0050] 在本发明的一个方面中,本发明提供中和ZIKV的人类抗体、抗体变异体或其抗原结合片段,其中所述抗体、抗体变异体或抗原结合片段不促成、导致或诱导抗体依赖性增强(ADE)。在一个实施例中,所述抗体或其抗原结合片段不促成、导致或诱导ZIKV感染的抗体依赖性增强(ADE)或黄病毒家族中的一种或多种其它病毒(例如登革热病毒)感染。

[0051] 在一个实施例中,本发明提供一种抗体,所述抗体中和具有野生型E蛋白的ZIKV(参见例如SEQ ID NO:376),但不中和具有E蛋白质突变形式的ZIKV,其中所述突变是在SEQ ID NO:376的位置302丝氨酸突变成苯丙氨酸(S302F)、在SEQ ID NO:376的位置311苏氨酸突变成异亮氨酸(T311I)、或在SEQ ID NO:376的位置369赖氨酸突变成谷氨酸(K369E)。

[0052] 在一个实施例中,本发明提供中和ZIKV的人类抗体、抗体变异体或其抗原结合片

段,其中所述抗体、抗体变异体或抗原结合片段包含一个或多个在Fc区中的突变,其中所述一个或多个突变减小所述抗体对细胞上Fc受体的结合。

[0053] 在一个实施例中,本发明提供中和ZIKV的人类抗体、抗体变异体或其抗原结合片段,其中所述抗体、抗体变异体或抗原结合片段包含一个或多个在Fc区中的突变,其中所述一个或多个突变导致更长时间的抗体的血清半衰期。在一个实施例中,所述突变由在SEQ ID NO:357的位置131、133,和135的YTE修饰(M131Y、S133T,和T135E)组成。所述变化显示在SEQ ID NO:358中的所述位置。

[0054] 在一个实施例中,本发明提供中和ZIKV的人类抗体、抗体变异体或其抗原结合片段,其中所述抗体、抗体变异体或抗原结合片段包含至少一个在Fc区中的导致抗体对细胞上的Fc受体的结合减小的突变及至少一个导致抗体的血清半衰期增加的突变。

[0055] 本发明包括包含Fc域的抗ZIKV抗体,其中所述Fc域包含如本文其它地方所述的IgG1或IgG4同型。

[0056] 在某些实施例中,本发明的抗ZIKV抗体包含一种Fc域,其具有选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的氨基酸序列:356(IgG1)、357(不具有YTE突变的IgG4)、358(具有YTE突变的IgG4)、365(不具有YTE突变的IgG4),和366(具有YTE突变的IgG4)。

[0057] 在一个实施例中,本发明的抗ZIKV抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:357的Fc域。

[0058] 在一个实施例中,本发明的抗ZIKV抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:358的Fc域。

[0059] 在一个实施例中,本发明的抗ZIKV抗体包含HCVR/LVCR氨基酸序列对SEQ ID NO:258/266及具有氨基酸序列SEQ ID NO:357或358的Fc域。

[0060] 在一个实施例中,本发明的抗ZIKV抗体包含HCVR/LVCR氨基酸序列对SEQ ID NO:114/122及具有氨基酸序列SEQ ID NO:357或358的Fc域。

[0061] 在一个实施例中,本发明的抗ZIKV抗体包含HCVR/LVCR氨基酸序列对SEQ ID NO:114/122及具有氨基酸序列SEQ ID NO:357的Fc域。

[0062] 在一个实施例中,本发明的抗ZIKV抗体包含HCVR/LVCR氨基酸序列对SEQ ID NO:66/74及具有氨基酸序列SEQ ID NO:357或358的Fc域。

[0063] 在一个实施例中,本发明的抗ZIKV抗体包含HCVR/LVCR氨基酸序列对SEQ ID NO:66/74及具有氨基酸序列SEQ ID NO:357的Fc域。

[0064] 本发明包括具有经修饰的糖基化模式的抗ZIKV抗体。在一些实施例中,去除非期望的糖基化位点的修饰可以用于或例如抗体缺乏存在于寡糖链上的海藻糖部分可以用于增加抗体依赖性细胞毒性(ADCC)功能(参见Shield等人(2002)JBC 277:26733)。在其它应用中,可进行半乳糖化的修饰以修改补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0065] 本发明还提供交叉竞争结合到ZIKV,或结合与参考抗体或其抗原结合片段相同的表位的抗体和其抗原结合片段,其包含HCVR的CDR及LCVR的CDR,其中所述HCVR及LCVR各自具有选自表1中所列举的HCVR及LCVR序列的氨基酸序列。

[0066] 本发明还提供单离抗体和其抗原结合片段,其阻断ZIKV附着至细胞,或防止病毒融合至细胞膜,从而防止病毒进入宿主细胞中。

[0067] 在某些实施例中,本发明抗体或抗原结合片段是双特异性的,其包含针对ZIKV的

第一表位的第一结合特异性和针对ZIKV的第二表位的第二结合特异性，其中第一和第二表位不同且不重叠。在某些实施例中，双特异性可包含结合到病毒包膜糖蛋白中的表位的第一臂及结合到不同病毒抗原中的表位的第二臂。

[0068] 在第二方面中，本发明提供编码抗ZIKV抗体或其部分的核酸分子。例如本发明提供编码表1中所列举的任一种HCVR氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，所述核酸分子包含选自表2中所列举的任一种HCVR核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％、或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0069] 本发明还提供编码表1中所列举的任一种LCVR氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，所述核酸分子包含选自表2中所列举的任一种LCVR核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0070] 本发明还提供编码表1中所列举的任一种HCDR1氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，所述核酸分子包含选自表2中所列举的任一种HCDR1核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0071] 本发明还提供编码表1中所列举的任一种HCDR2氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，所述核酸分子包含选自表2中所列举的任一种HCDR2核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％、或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0072] 本发明还提供编码表1中所列举的任一种HCDR3氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，所述核酸分子包含选自表2中所列举的任一种HCDR3核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0073] 本发明还提供编码表1中所列举的任一种LCDR1氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，所述核酸分子包含选自表2中所列举的任一种LCDR1核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％、或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0074] 本发明还提供编码表1中所列举的任一种LCDR2氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，所述核酸分子包含选自表2中所列举的任一种LCDR2核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％、或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0075] 本发明还提供编码表1中所列举的任一种LCDR3氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，所述核酸分子包含选自表2中所列举的任一种LCDR3核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％、或至少99％序列一致性的其实质相似序列。

[0076] 本发明还提供编码HCVR的核酸分子，其中所述HCVR包含三个CDR的集合(即，HCDR1-HCDR2-HCDR3)，其中所述HCDR1-HCDR2-HCDR3氨基酸序列集合是如表1中所列举的例示性抗ZIKV E抗体的任一种所定义。

[0077] 本发明还提供编码LCVR的核酸分子，其中所述LCVR包含三个CDR的集合(即，LCDR1-LCDR2-LCDR3)，其中所述LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列集合是如表1中所列举的任一种例示性抗ZIKV E抗体所定义。

[0078] 本发明还提供编码HCVR及LCVR两者的核酸分子，其中所述HCVR包含表1中所列举的HCVR氨基酸序列的任一种氨基酸序列，且其中所述LCVR包含表1中所列举的LCVR氨基酸序列中的任一种氨基酸序列。在某些实施例中，所述核酸分子包含：选自表2中所列举的任一种HCVR核酸序列的多核苷酸序列，或与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列一致性的其实质相似序列；和选自表2中所列举的任一种LCVR核酸序列的多核苷酸序

列,或与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列一致性的其实质相似序列。在根据本发明的此方面的某些实施例中,所述核酸分子编码HCVR及LCVR,其中所述HCVR与LCVR均来源于表1中所列举的相同抗ZIKV E抗体。

[0079] 本发明提供编码表1中所列举的任一种重链氨基酸序列的核酸分子。本发明还提供编码表1中所列举的任一种轻链氨基酸序列的核酸分子。

[0080] 在一个相关方面中,本发明提供能够表达包含抗ZIKV E抗体重链可变区或轻链可变区的多肽的重组表达载体。例如本发明包括包含上文所提及的任一种核酸分子(即,编码如表1中所阐明的HCVR、LCVR,和/或CDR序列的任一种的核酸分子)的重组表达载体。还包括在本发明范围内的是,引入此类载体的宿主细胞,以及通过在允许产生抗体或抗体片段的条件下培养宿主细胞来产生抗体或其部分并回收如此产生的抗体或抗体片段的方法。

[0081] 在第三方面中,本发明提供一种医药组合物,其包含一种或多种特异性结合到ZIKV E的单离单克隆抗体或其抗原结合片段,和医药学上可接受的载剂或稀释剂。所述一种或多种单离抗体包含选自由表1中所列举的HCVR及LCVR序列所组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对。在一个实施例中,所述一种或多种特异性结合到ZIKV的单离单克隆抗体或其抗原结合片段包含:三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2,和HCDR3),其含在选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的任一种重链可变区(HCVR)序列内:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322,和338;和三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2,和LCDR3),其含在由以下SEQ ID NO所组成的群组的任一种轻链可变区(LCVR)序列内:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330,和346。在一个实施例中,所述HCVR/LCVR氨基酸序列对是选自由以下SEQ ID NO所组成的群组:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330,和338/346。在一个实施例中,所述HCVR/LCVR氨基酸序列对是选自由SEQ ID NO:66/74、114/122,和258/266所组成的群组。在一个实施例中,所述HCVR/LCVR氨基酸序列对是选自由SEQ ID NO:114/122,和258/266所组成的群组。

[0082] 在一个实施例中,所述医药组合物包含:

[0083] a)特异性结合到ZIKV的第一单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含:具有氨基酸序列SEQ ID NO:116的HCDR1;具有氨基酸序列SEQ ID NO:118的HCDR2;具有氨基酸序列SEQ ID NO:120的HCDR3;具有氨基酸序列SEQ ID NO:124的LCDR1;具有氨基酸序列SEQ ID NO:126的LCDR2;具有氨基酸序列SEQ ID NO:128的LCDR3;

[0084] b)特异性结合到ZIKV的第二单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含:具有氨基酸序列SEQ ID NO:260的HCDR1;具有氨基酸序列SEQ ID NO:262的HCDR2;具有氨基酸序列SEQ ID NO:264的HCDR3;具有氨基酸序列SEQ ID NO:268的LCDR1;具有氨基酸序列SEQ ID NO:270的LCDR2;具有氨基酸序列SEQ ID NO:272的LCDR3;以及

[0085] c)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0086] 在一个相关方面中,本发明特征在于一种医药组合物,其包含至少两种本发明抗体和医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0087] 在一个实施例中,所述医药组合物包含至少两种特异性结合到ZIKV的单离单克隆抗体或其抗原结合片段,和医药学上可接受的载剂或稀释剂,其中所述两种单克隆抗体的

至少一者以小于或等于约10^{-9}M的IC_{50}试管内中和ZIKV，且在ZIKV感染动物中显示活体内保护作用。

[0088] 在一个实施例中，所述至少两种单离抗体是选自第一和第二抗ZIKV单克隆抗体或抗原结合片段，其包含：三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2，和HCDR3)，其含在选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的任一种重链可变区(HCVR)序列内：2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322，和338；和三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2，和LCDR3)，其含在由以下SEQ ID NO所组成的群组的任一种轻链可变区(LCVR)序列内：10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330，和346。

[0089] 在一个实施例中，所述至少两种单离抗体是选自第一和第二抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述第一抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:116的HCDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:118的HCDR2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:120的HCDR3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:124的LCDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:126的LCDR2，和具有氨基酸序列SEQ ID NO:128的LCDR3；且其中特异性结合到ZIKV的所述第二抗ZIKV单克隆抗体或其抗原结合片段包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:260的HCDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:262的HCDR2、具有氨基酸序列SEQ ID NO:264的HCDR3、具有氨基酸序列SEQ ID NO:268的LCDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO:270的LCDR2，和具有氨基酸序列SEQ ID NO:272的LCDR3。

[0090] 在一个相关方面中，本发明特征在于一种组合物，其包含至少三种本发明抗体和医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0091] 在某些实施例中，本发明提供一种医药组合物，其包含：(a)包含如表1中所述的HCVR/LCVR氨基酸序列的第一抗ZIKV抗体、或其抗原结合片段；(b)包含如表1中所述的HCVR/LCVR氨基酸序列的第二抗ZIKV抗体、或其抗原结合片段，其中所述第一抗体结合到ZIKV E上的第一表位，且所述第二抗体结合到ZIKV E上的不同的第二表位，其中所述第一表位及所述第二表位不同且不重叠；和(c)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0092] 在另一个相关方面中，本发明特征在于一种组合物，其包含抗ZIKV E抗体与第二治疗剂的组合。

[0093] 在一个实施例中，第二治疗剂是有利地与抗ZIKV E抗体组合的任何药剂。可有利地与抗ZIKV抗体组合的例示性药剂包括但不限于结合和/或抑制ZIKV活性的其它药剂(包括其它抗体或其抗原结合片段等)和/或不直接结合ZIKV、但是抑制病毒活性(包括宿主细胞的感染性)和/或病毒发病机理的药剂。

[0094] 在某些实施例中，本发明提供一种医药组合物，其包含：(a)第一抗ZIKV抗体或其抗原结合片段；(b)第二抗ZIKV抗体或其抗原结合片段，其中所述第一抗体不与第二抗体交叉竞争结合到ZIKV；和(c)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0095] 在某些实施例中，本发明提供一种医药组合物，其包含：(a)第一抗ZIKV抗体或其抗原结合片段；(b)第二抗ZIKV抗体或其抗原结合片段，其与不同的ZIKV抗原相互作用，其中所述第一抗体结合到ZIKV E上的表位，且所述第二抗体结合到不同ZIKV抗原上的表位；和(c)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0096] 在某些实施例中，本发明提供一种医药组合物，其包含：(a)第一抗ZIKV抗体或其

抗原结合片段;(b)第二抗ZIKV抗体或其抗原结合片段;(c)第三抗ZIKV抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗体结合到ZIKV E上的第一表位,且所述第二抗体和/或所述第三抗体结合到ZIKV E上的不同表位,其中所述第一表位、所述第二表位,和所述第三表位不同且不重叠;和(d)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0097] 在某些实施例中,本发明提供一种医药组合物,其包含:(a)第一抗ZIKV抗体或其抗原结合片段;(b)第二抗ZIKV抗体或其抗原结合片段;(c)第三抗ZIKV抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗体可以或可以不与所述第二抗体和/或所述第三抗体交叉竞争结合到ZIKV;和(d)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0098] 在某些实施例中,本发明提供一种医药组合物,其包含:(a)第一抗ZIKV抗体或其抗原结合片段;(b)第二和/或第三抗ZIKV抗体或其抗原结合片段,其与不同的ZIKV抗原相互作用,其中所述第一抗体结合到ZIKV E上的表位,且所述第二和/或第三抗体结合到不同ZIKV抗原上的表位;和(c)医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0099] 在一个实施例中,所述医药组合物包含:第一抗ZIKV抗体或其抗原结合片段,其结合到ZIKV的一种株上的一个表位或与其相互作用;和第二和/或第三抗ZIKV抗体或其抗原结合片段,其结合到ZIKV的相同株或不同株上的第二和/或第三表位或与其相互作用。

[0100] 在一个相关方面中,本发明提供一种医药组合物,其包含:特异性结合到ZIKV E的第一单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第一单离单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:68;HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:70;HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:72;LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:76;LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:78;和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:80;以及医药学上可接受的载剂或稀释剂。所述医药组合物可进一步包含特异性结合到ZIKV E的第二单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第二单离单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:116或260;HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:118或262;HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:120或264;LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:124或268;LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:126或270;和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:128或272。

[0101] 在一个实施例中,所述医药组合物包含:特异性结合到ZIKV的第一单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第一单离单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:116;HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:118;HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:120;LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:124;LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:126;和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:128;以及医药学上可接受的载剂或稀释剂。所述医药组合物可进一步包含特异性结合到ZIKV的第二单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第二单离单克隆抗体或其抗原结合片段包含HCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:260;HCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:262;HCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:264;LCDR1氨基酸序列SEQ ID NO:268;LCDR2氨基酸序列SEQ ID NO:270;和LCDR3氨基酸序列SEQ ID NO:272。所述医药组合物可进一步包含特异性结合到ZIKV E的第三单离单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述第三单离单克隆抗体或其抗原结合片段包含来自表1中所示的任一种抗体的HCDR1氨基酸序列、HCDR2氨基酸序列、HCDR3氨基酸序列、LCDR1氨基酸序列、LCDR2氨基酸序列,和LCDR3氨基酸序列。

[0102] 在一个相关方面中,本发明提供一种抗体混合物,其包含至少两种特异性结合到ZIKV的抗体的混合物,其中所述抗体包含选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的HCVR/LCVR

氨基酸序列对:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330,和338/346。

[0103] 在一个实施例中,所述混合物包含两种抗体的混合物,所述抗体包含HCVR/LCVR氨基酸序列对SEQ ID NO:114/122及258/266。在一个实施例中,所述抗体混合物可包含第三抗体,所述第三抗体包含选自表1中所示的抗体的氨基酸序列对。在一个实施例中,所述第三抗体包含HCVR/LCVR氨基酸序列对SEQ ID NO:66/74。

[0104] 在一个实施例中,所述抗体混合物包含两种抗体的混合物,所述抗体包含重链(HC)/轻链(LC)氨基酸序列对SEQ ID NO:367/368及370/371。在一个实施例中,所述抗体混合物可包含第三抗体,所述第三抗体包含HC/LC氨基酸序列对SEQ ID NO:373/374。

[0105] 在某些实施例中,各抗体可调配成分开的调配物,且如果确定需要超过一种抗体来达成最大治疗功效,则抗体调配物中的每一种可视需要共投与(同时或依序)。可替代地,所述抗体混合物可以是共调配的。

[0106] 在某些实施例中,当在一种医药组合物中将两种或更多种抗体组合在一起时,其可以或可以不结合ZIKV蛋白上的相同或重叠表位。涉及本发明的抗ZIKV抗体的额外组合疗法及共调配物公开于本文其它地方。

[0107] 在某些实施例中,本发明提供一种医药组合物,其包含两种或更多种结合ZIKV E的人类抗体或其抗原结合片段,其中至少一种抗体可防止病毒附着至细胞,且第二抗体可防止病毒融合至宿主细胞膜,且因此,所述组合物可提供防止病毒进入细胞中且在细胞内复制。在一个相关实施例中,包含两种抗兹卡抗体的组合物能够防止ZIKV进入宿主细胞中,其中所述抗体不引起ZIKV感染出现抗体依赖性增强(ADE)。

[0108] 在某些实施例中,中和兹卡病毒而不引起ADE的本发明抗ZIKV抗体包含选自由以下SEQ ID NO组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:258/266、114/122,和66/74,其各自具有如SEQ ID NO:357中所示的Fc氨基酸序列。

[0109] 在某些实施例中,中和兹卡病毒而不引起ADE的本发明抗ZIKV抗体包含HC/LC氨基酸序列对:SEQ ID NO:367/368(H4H25703N)及SEQ ID NO:370/371(H4H25619P)。

[0110] 在某些实施例中,中和兹卡病毒而不引起ADE且可具有延长的血清半衰期的本发明抗ZIKV抗体包含选自由以下SEQ ID NO组成的群组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:258/266、114/122,和66/74,其各自具有如SEQ ID NO:358(具有本文中其它地方所述的YTE突变的IgG4)中所示的Fc氨基酸序列。

[0111] 在某些实施例中,中和兹卡病毒而不引起ADE且可具有延长的血清半衰期的本发明抗ZIKV抗体包含以下HC/LC氨基酸序列对SEQ ID NO:369/368(具有本文中其它地方所述的YTE突变的H4H25703N)、SEQ ID NO:372/371(具有本文中其它地方所述的YTE突变的H4H25619P),和SEQ ID NO:375/373(具有本文中其它地方所述的YTE突变的H4H25598P)。

[0112] 在第四方面中,本发明提供使用本发明抗ZIKV E抗体或抗体的抗原结合部分、或至少两种或更多种本发明抗体的混合物来治疗与ZIKV相关联的疾病或病症(例如受试者的病毒感染)、或至少一种与病毒感染相关的症状、或降低至少一种与ZIKV感染相关的症状的频率或严重性的治疗方法,其中所述治疗方法包含向有需要的受试者投与治疗有效量的一种或多种本发明抗体或抗原结合片段。在一个实施例中,所述方法包含投与至少两种或至

少三种本发明抗体的组合(混合物)。在一个实施例中,所述抗体混合物包含两种抗ZIKV E抗体,其具有如SEQ ID NO:114/122及258/266中所阐明的氨基酸序列对。所治疗的病症是通过抑制ZIKV活性而改良、改善、抑制或预防的任何疾病或病状。在某些实施例中,本发明提供预防、治疗或改善ZIKV感染的至少一种症状的方法,所述方法包含向有需要的受试者投与治疗有效量的至少一种或多种本发明抗ZIKV E抗体或其抗原结合片段。

[0113] 在一个相关方面中,本发明提供一种中和感染性ZIKV的方法,所述方法包含将感染ZIKV的细胞暴露于包含一种或多种抗ZIKV抗体或其抗原结合片段的组合物,其中所述暴露能够增强对细胞的保护以防病毒感染或细胞死亡。在某些实施例中,暴露可以是试管内或活体内。在一个实施例中,所述一种或多种抗ZIKV抗体或其抗原结合片段中和具有野生型E蛋白的感染性ZIKV,其中所述野生型E蛋白具有SEQ ID NO:376的位置302处的丝氨酸、SEQ ID NO:376的位置311处的苏氨酸,和SEQ ID NO:376的位置369处的赖氨酸,但不中和具有所述E蛋白的突变形式的感染性ZIKV,其中所述E蛋白的所述突变形式含有以下变化中的一种或多种:在SEQ ID NO:376的位置302处的苯丙氨酸、在SEQ ID NO:376的位置311处的异亮氨酸、或在SEQ ID NO:376的位置369处的谷氨酸。在一个实施例中,所述方法包含投与一种或多种本发明抗体。在一个实施例中,所述方法包含投与少两种本发明抗体的组合(混合物)。在一个实施例中,所述抗体混合物包含两种抗ZIKV抗体,其具有如SEQ ID NO:114/122及258/266中所阐明的氨基酸序列对。

[0114] 在一些实施例中,本发明提供通过投与一种或多种本发明的抗ZIKV E抗体来改善或降低ZIKV感染的至少一种症状的严重性、持续时间、或发生频率的方法,其中所述至少一种症状是选自由以下所组成的群组:发热、头痛、关节痛、肌痛,和斑丘疹。

[0115] 在某些实施例中,本发明提供减少受试者的病毒负荷的方法,所述方法包含向所述受试者投与有效量的一种或多种本发明抗体或其片段,所述一种或多种抗体或其片段结合ZIKV E且阻断附着至细胞膜、或与细胞膜融合,和/或进入宿主细胞中,减小散布至男性生殖器官中的可能性。

[0116] 在一个实施例中,本发明提供减小ZIKV从被感染的个体传播至另一个体的可能性。在一个实施例中,病毒从被感染的母亲传播至胎儿可以使用至少一种本发明抗体预防。在一个相关实施例中,ZIKV从被感染的母亲传播至胎儿可以使用至少两种本发明抗体预防。这样,以一种或多种本发明抗体治疗妊娠女性可预防婴儿出现发育畸形小头(或发育异常)。

[0117] 在某一实施例中,ZIKV传播至性伴侣可使用至少一种本发明抗体预防。在一个相关实施例中,ZIKV传播至性伴侣可使用至少两种本发明抗体预防。

[0118] 在一个实施例中,有需要的受试者是处于暴露于ZIKV感染或获得ZIKV感染的风险的受试者,其中所述受试者是选自由以下所组成的群组:已暴露于ZIKV或已被怀疑带有ZIKV的蚊子叮咬的孕妇;生活在ZIKV爆发的地区、或正在访问ZIKV爆发的地区,和正考虑怀孕的女性;或免疫受损的个体;医护人员;怀疑已暴露于带有ZIKV的人的人;与感染个体身体接触或身体紧密靠近的人;医院员工;医药研究者;负责清洁治疗ZIKV患者的医院设备或设施的维护人员;已访问或计划访问已知或怀疑ZIKV爆发的地区或国家、或已知具有可带有病毒的蚊子的国家的个体。

[0119] 在一个实施例中,有需要的受试者可投与少一种本发明的抗ZIKV抗体或其抗原结

合片段、或包含至少一种本发明抗体或其抗原结合片段以及第二治疗剂的医药组合物。所述第二治疗剂可选自由以下所组成的群组:抗病毒药物、消炎药物(例如皮质类固醇及非类固醇消炎药物,例如TNF的抗体)、ZIKV的不同抗体、ZIKV疫苗,和/或干扰素(α/β/或λ)。

[0120] 在一个实施例中,所述医药组合物可皮下、静脉内、皮内、肌内、鼻内或经口投与。

[0121] 在一个相关实施例中,当所述哺乳动物以包含一种或多种本发明的抗ZIKV抗体的医药组合物或以包含至少两或多种本发明抗体的抗体混合物治疗时,可在暴露于或感染ZIKV的哺乳动物中观察到保护增强。

[0122] 在一个实施例中,所观察到的保护增强可通过至少一个与ZIKV感染相关的症状的严重性或频率降低、或通过病毒负荷减少来测量。所述至少一种症状可选自由以下所组成的群组:发热、头痛、关节痛、肌痛,和斑丘疹。

[0123] 在一个实施例中,保护增强是在经一种或多种本发明抗体治疗的ZIKV感染哺乳动物中当在病毒感染之后无实质上的重量减轻时观察到。

[0124] 在一个实施例中,保护增强是在经一种或多种本发明抗体治疗的ZIKV感染哺乳动物中观察到,如通过经一种或多种抗ZIKV抗体治疗的ZIKV感染哺乳动物相较于未经一种或多种本发明抗体治疗的ZIKV病毒感染哺乳动物的存活率增加来测量。

[0125] 可以在单独使用一种或多种抗体时,或当与一种或多种额外治疗剂或抗ZIKV治疗模态组合使用一种或多种抗体时,观察到保护增强。

[0126] 所述一种或多种额外治疗剂可选自由以下所组成的群组:抗病毒药物、消炎药物(例如皮质类固醇和非类固醇消炎药物,例如TNF的抗体)、ZIKV的不同抗体、ZIKV疫苗,和/或干扰素(α/β/或λ)。

[0127] 在一个实施例中,所述一种或多种额外治疗剂包含一种或多种抗ZIKV抗体。

[0128] 在一个实施例中,所述一种或多种抗ZIKV抗体包含选自由表1的任一种HCVR及LCVR氨基酸序列组成的群组的重链可变区(HCVR)及轻链可变区(LCVR)氨基酸序列。

[0129] 在一个相关实施例中,所述一种或多种抗ZIKV抗体包含选自由以下所组成的群组的重链可变区(HCVR)及轻链可变区(LCVR)氨基酸序列对:SEQ ID NO:2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330,和338/346。

[0130] 在另一个相关实施例中,所述一种或多种抗ZIKV抗体包含选自由SEQ ID NO:66/74及258/266组成的群组的重链可变区(HCVR)及轻链可变区(LCVR)氨基酸序列对。

[0131] 在某些实施例中,所述一种或多种抗体或其抗原结合片段可预防性或治疗性地投与患有ZIKV感染、或处于患有ZIKV感染的风险、或倾向于发展ZIKV感染的受试者。有风险的受试者包括但不限于:已暴露于ZIKV或已被怀疑带有ZIKV的蚊子叮咬的妊娠女性;生活在ZIKV爆发的地区、或正在访问ZIKV爆发的地区,和正考虑怀孕的女性;免疫受损的个体,例如由于自体免疫疾病而免疫受损的人、或接受免疫抑制疗法(例如在器官移植之后)的那些人;接受来自感染ZIKV的人的移植物或血液样品的人;或受人类免疫缺陷综合症(HIV)或后天性免疫不全症侯群(AIDS)、耗尽或破坏白血球的某些形式的贫血折磨的那些人;接受辐射或化疗的那些人;或受发炎性病症折磨的那些人。处于获得ZIKV感染的风险的其它受试者包括医护人员,或与感染个体身体接触或身体紧密靠近、或暴露于来自被感染的个体的体液或组织、还具有增加的发展ZIKV感染的风险的任何人。此外,受试者由于以下而处于感

染ZIKV感染的风险:靠近疾病爆发,例如受试者居住于人口密集的城市或紧密靠近已确认或怀疑ZIKV感染的受试者;或职业选择,例如负责清洁治疗兹卡患者的医院设备或设施的维护人员、医院员工、医药研究者、已访问或计划访问已知或怀疑ZIKV爆发的地区或国家、或已知具有可带有ZIKV的蚊子的国家的个体。

[0132] 在某些实施例中,本发明抗体或其抗原结合片段是与第二治疗剂组合投与有需要的受试者。第二治疗剂可选自由以下所组成的群组:消炎药物(例如皮质类固醇和非类固醇消炎药物,例如抗TNF抗体)、抗感染药物、抗病毒药物、ZIKV的不同抗体、ZIKV疫苗、或干扰素、膳食补充剂例如抗氧化剂,和所述领域中已知可以用于改善ZIKV感染的至少一种症状或减少患者的病毒负荷的任何其它药物或疗法。在某些实施例中,第二治疗剂可以是有助于抵消或减少与本发明抗体或其抗原结合片段相关的任何可能的负作用的药剂,如果此类负作用发生。所述抗体或其片段可皮下、静脉内、皮内、腹膜内、经口、鼻内、肌内、或颅内投与。在一个实施例中,所述抗体可呈单一静脉内输注投与以实现受试者血清中的最大抗体浓度。所述抗体或其片段可以约0.1mg/kg受试者体重至约100mg/kg受试者体重的剂量投与。在某些实施例中,本发明抗体可以包含50mg至600mg之间的一个或多个剂量投与。

[0133] 本发明还包括本发明的抗ZIKV抗体或其抗原结合片段,其用于治疗已患有或怀疑患有ZIKV或已暴露于ZIKV的受试者,或用于制造治疗可受益于阻断ZIKV附着至细胞或与细胞膜融合的疾病或病症的药剂。

[0134] 其它实施例将根据随后的具体实施方式而变得显而易见。

附图说明

[0135] 图1.显示用于使用与所有黄病毒交叉反应的嵌合抗体测量抗体依赖性增强(ADE)的免疫荧光分析的结果。

[0136] 图2.显示抗兹卡抗体H4H25703N对防止兹卡病毒感染的小鼠的重量减轻的保护作用。

[0137] 图3.显示抗兹卡抗体H4H25619P对防止兹卡病毒感染的小鼠的重量减轻的保护作用。

[0138] 图4.显示抗兹卡抗体H4H25703N对兹卡病毒感染的小鼠的存活的保护作用。

[0139] 图5.显示抗兹卡抗体H4H25619P对兹卡病毒感染的小鼠的存活的保护作用。

[0140] 图6.显示用于使用制备成IgG1或IgG4的抗兹卡病毒抗体H4H25703N测量抗体依赖性增强(ADE)的分析的结果。

[0141] 图7.显示用于使用制备成IgG1或IgG4的抗兹卡病毒抗体H4H25619P测量抗体依赖性增强(ADE)的分析的结果。

[0142] 图8A及8B.显示使用在抗体H4H25703N及H4H25619P存在下所产生的逃逸突变体的ZIKV中和。

具体实施方式

[0143] 在描述本发明方法之前,应了解,本发明不限于具体方法及所描述的实验条件,因此方法及条件可变化。也应了解本文所用的术语仅出于描述特定实施例的目的,并且不希望具有限制性,因为本发明的范围将仅由随附权利要求书限定。

[0144] 除非另外定义，否则本文所用的所有技术及科学术语皆与本发明所属领域中的一般技艺人员通常所理解具有相同含义。尽管与本文所述的那些方法及材料类似或等效的任何方法及材料可以用于本发明的实施或测试，但现在描述优选方法及材料。本说明书中所提及的所有专利、申请，和非专利出版物均以全文引用方式并入本文。

[0145] 定义

[0146] “兹卡病毒”或“ZIKV”是黄病毒科的人员，且与暴露于所述病毒的孕妇的胎儿的畸形小头及其它发育异常相关(Schuler-Faccini,L.等人，(2016)，《发病率及死亡率周报》65:59-62)，且还与成人格巴二氏综合症相关(Cao-Lormeau,VM,等人，(2016)，《柳叶刀(Lancet)》，4月9日;387(10027):1531-9)。术语“ZIKV”还包括与不同ZIKV分离物单离的ZIKV变异体。

[0147] ZIKV包膜糖蛋白(E)(本文指出为“ZIKV E”)的氨基酸序列在GenBank中所见的聚蛋白氨基酸序列内例示为登录号ALU33341.1(还参见SEQ ID NO:353)。所述术语还涵盖偶联至例如组氨酸标签(例如参见登录号ALU33341.1，其具有组氨酸标签(SEQ ID NO:354及355))、小鼠或人类Fc、或信号序列的ZIKV E或其片段。ZIKV E的氨基酸序列还显示于SEQ ID NO:376中。H4H25703N的E蛋白逃逸突变显示在SEQ ID NO:377的位置302(S302F)。H4H25619P的E蛋白逃逸突变显示在SEQ ID NO:378的位置311(T311I)及位置369(K369E)。

[0148] 如本文所用，术语“ZIKV感染”或“ZIKV感染”是指由暴露于所述病毒(例如在被带有所述病毒的蚊子叮咬之后)、或被感染的动物、或被感染的人类患者，或与患有ZIKV感染的动物或人类患者的体液或组织接触所导致的疾病或病状。“与ZIKV感染相关的症状”包括发热、头痛、关节痛、肌痛，和斑丘疹。“由暴露于所述病毒所导致的病状”或“与暴露于所述病毒相关的病状”还包括在被带有所述病毒的蚊子叮咬之后感染所述病毒的孕妇的胎儿的畸形小头(或发育异常)。另一“由暴露于所述病毒所导致的病状”或“与暴露于所述病毒相关的病状”包括格巴二氏综合症。

[0149] 如本文所用，术语“抗体”意指包含四条多肽链(通过二硫键互相连接的两条重(H)链及两条轻(L)链)的免疫球蛋白分子(即，“完全抗体分子”)、以及其多聚体(例如IgM)、或其抗原结合片段。每条重链包含重链可变区(“HCVR”或“V_H”)及重链恒定区(包含域C_H1、C_H2，和C_H3)。每条轻链包含轻链可变区(“LCVR”或“V_L”)及轻链恒定区(C_L)。V_H区及V_L区可进一步再分成称为互补决定区(CDR)的高变区，穿插有称为构架区(FR)的较保守区域。每个V_H及V_L包含三个CDR及四个FR，所述区域依以下顺序自胺基端至羧基端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的某些实施例中，抗体(或其抗原结合片段)的FR可与人类胚系序列一致，或可经天然或人工修饰。氨基酸共同序列可基于两或更多个CDR的并排分析来定义。

[0150] 一个或多个CDR残基的取代或一个或多个CDR的省略也是可能的。抗体已描述于科学文献中，其中可省去一或两个CDR以供结合。Padlan等人(1995FASEB J.9:133-139)基于公开的晶体结构分析了抗体与其抗原之间的接触区，且推断仅约五分之一至三分之一的CDR残基实际上接触抗原。Padlan还发现许多其中一或两个CDR不具有与抗原接触的氨基酸的抗体(还参见Vajdos等人2002《分子生物学杂志(J Mol Biol)》320:415-428)。

[0151] 未接触抗原的CDR残基可基于在先研究(例如常常不需要CDR H2中的残基H60-H65)，自位于Chothia CDR外侧的Kabat CDR的区域，通过分子模型化和/或凭经验来鉴别。

如果CDR或其残基是省略的，则其通常被占据另一人类抗体序列或此类序列的共同序列中的对应位置的氨基酸取代。还可凭经验选择待取代的CDR及氨基酸内取代的位置。凭经验取代可以是保守或非保守取代。

[0152] 本文中所公开的完全人类抗ZIKV单克隆抗体可在重链可变域及轻链可变域的构架和/或CDR区中相较于对应的胚系序列包含一个或多个氨基酸取代、插入，和/或缺失。此类突变可容易通过将本文中所公开的氨基酸序列与可购自例如公共抗体序列数据库的胚系序列比较来确定。本发明包括源于本文中所公开的任一种氨基酸序列的抗体和其抗原结合片段，其中以后多个构架和/或CDR区内的一个或多个氨基酸突变成所述抗体所衍生的胚系序列的对应残基、或另一人类胚系序列的对应残基、或对应胚系残基的保守氨基酸取代(此类序列变化在本文中统称为“胚系突变”)。所属领域中的技术人员以本文中所公开的重链可变区及轻链可变区开始，可容易地产生许多包含一个或多个个别胚系突变或其组合的抗体及抗原结合片段。在某些实施例中，V_H和/或V_L域内的所有构架和/或CDR残基突变回抗体所衍生的原始胚系序列中所见的残基。在一个实施例中，仅某些残基突变回原始胚系序列，例如仅FR1之前8个氨基酸内或FR4之后8个氨基酸内所见的突变残基，或仅CDR1、CDR2或CDR3内所见的突变残基。在其它实施例中，架构和/或CDR残基的一种或多种突变成不同胚系序列的对应残基(即，与抗体最初所衍生的胚系序列不同的胚系序列)。此外，本发明抗体可含有构架和/或CDR区内两个或更多个胚系突变的任何组合，例如其中某些个别残基突变成具体胚系序列的对应残基，同时与原始胚系序列不同的某些其它残基保持或突变成不同胚系序列的对应残基。一旦获得，则可容易地测试含有一个或多个胚系突变的抗体及抗原结合片段的一种或多种所期望性质，例如改良的结合特异性、增加的结合亲和力、改良的或增强的拮抗或对抗生物性质(根据情况而定)、降低的免疫原性等。以此一般方式获得的抗体及抗原结合片段涵盖在本发明内。

[0153] 本发明还包括完全人类抗ZIKV单克隆抗体，其包含本文所公开的具有一个或多个保守取代的HCVR、LCVR，和/或CDR氨基酸序列的任一种的变异体。例如本发明包括具有相对于本文中所公开的HCVR、LCVR，和/或CDR氨基酸序列具有HCVR、LCVR，和/或CDR氨基酸序列的抗ZIKV抗体，所述氨基酸序列具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少个保守氨基酸取代等。

[0154] 如本文所用，术语“人类抗体”希望包括具有源于人类胚系免疫球蛋白序列的可变区及恒定区的抗体。本发明的人类mAb可包括不由人类胚系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过试管内随机或位点特异性突变诱发或通过活体内体细胞突变引入的突变)，例如在CDR及具体CDR3中。然而，如本文所用的术语“人类抗体”不希望包括其中CDR序列源于已移植至人类FR序列上的另一哺乳动物物种(例如小鼠)的胚系的mAb。所述术语包括在非人类哺乳动物中或在非人类哺乳动物的细胞中重组产生的抗体。所述术语不旨在不包括单离自人类受试者或在人类受试者中产生的抗体。

[0155] 如本文所用，术语“重组”是指本发明的通过在所述领域中称为重组DNA技术的技术或方法(其包括例如DNA剪切及转基因表达)所产生、表达、单离、或获得的抗体或其抗原结合片段。所述术语是指在非人类哺乳动物(包括转基因非人类哺乳动物，例如转基因小鼠)、或细胞(例如CHO细胞)表达系统中表达或单离自重组组合人类抗体文库的抗体。

[0156] 术语“特异性结合”、或“特异性结合到”、或其类似者意指抗体或其抗原结合片段

在生理学条件下与抗原形成相对稳定的复合物。特异性结合可由至少约$1x10^{-7}$M或更少的平衡解离常数表征(例如较小K_D表示更紧密结合)。用于确定两个分子是否特异性结合的方法是所述领域中熟知的,且包括例如平衡透析、表面等离子体共振等。如本文中所述,已通过表面等离子体共振例如BIACORE™鉴别出特异性结合到ZIKV的抗体。此外,尽管如此,结合ZIKV中的一个域及一个或多个额外抗原的多特异性抗体或结合到ZIKV的两个不同区域的双特异性抗体仍视为"特异性结合"的抗体,如本文所用。

[0157] 术语"高亲和力"抗体是指对ZIKV具有结合亲和力的那些mAb,其以至少10^{-7}M;优选10^{-8}M;更优选10^{-9}M;甚至更优选10^{-10} M;甚至更优选10^{-11}M;甚至更优选10^{-12}M的K_D表示,如通过表面等离子体共振(例如BIACORE™)或溶液亲和力ELISA所测量。

[0158] 术语"缓慢的解离速率"、"Koff"、或"kd"意指抗体以$1x\ 10^{-3}\ s^{-1}$或更小、优选$1x\ 10^{-4}s^{-1}$或更小的速率常数自ZIKV或表达ZIKV E的类病毒粒子解离,如通过表面等离子体共振(例如BIACORE™)所测定。

[0159] 如本文所用,术语抗体的"抗原结合部分"、抗体的"抗原结合片段"等包括任何天然存在的、以酶促方式可获得的合成或基因工程多肽或糖蛋白,其特异性结合抗原而形成复合物。如本文所用,术语抗体的"抗原结合片段"或"抗体片段"是指保留对ZIKV结合的能力的抗体的一个或多个片段。

[0160] 在特定实施例中,本发明抗体或抗体片段可结合到例如配位体的部分或治疗部分("免疫结合物"),例如抗病毒药物、第二抗ZIKV抗体、或可以用于治疗ZIKV所引起的感染的任何其它治疗部分。

[0161] 如本文所用,"单离抗体"意指实质上不含具有不同抗原特异性的其它抗体(Ab)的抗体(例如特异性结合ZIKV的单离抗体或其片段实质上不含特异性结合非为ZIKV的抗原的Ab)。

[0162] 如本文所用,"阻断抗体"或"中和抗体"(或"中和ZIKV活性的抗体"或"拮抗抗体")意指结合到ZIKV引起ZIKV的至少一种生物活性被抑制的抗体。例如本发明抗体可防止或阻断ZIKV附着至宿主细胞、与宿主细胞融合,和/或进入宿主细胞中。此外,"中和抗体"是能够中和(即,防止、抑制、减小、阻碍、或干扰)病原体起始和/或维持宿主感染能力的抗体。术语"中和抗体",和"中和……的一种抗体"、或"中和……的抗体"可在本文中互换使用。所述抗体可以单独使用或作为预防或治疗剂与其它抗病毒剂组合在适当调配后使用,或与活性疫苗联合使用,或用作诊断工具。

[0163] "抗体依赖性增强"或"ADE"是病毒当结合到抗病毒抗体时据以进入具有Fc受体的细胞、从而引起细胞感染性增强的机理。ADE常见于实验室培养的细胞中,但活体内很少发生,除了感染登革热病毒,登革热病毒是黄病毒科成员。此病毒可以使用此机理感染巨噬细胞,致使正常轻度病毒感染变得危及生命。

[0164] 如本文所用,术语"表面等离子体共振"是指一种光学现象,其允许通过例如使用BIACORE™系统(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,N.J.)检测生物传感器基质内的蛋白质浓度变化来分析实时生物分子相互作用。

[0165] 如本文所用,术语"K_D"意指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0166] 术语"表位"是指与抗体分子可变区中的特定抗原结合位点(称为抗体互补位)相互作用的抗原决定子。单个抗原可能具有超过一个的表位。因此,不同抗体可结合于抗原上

的不同区域且可具有不同生物作用。术语“表位”还指抗原上B细胞和/或T细胞响应的位点。其还指抗原的被抗体结合的区域。表位可以按照结构或功能表位定义。功能表位一般是结构表位的子集，且具有直接促成相互作用的亲和力的那些残基。表位还可以是构形表位，即，由非线性氨基酸构成。在某些实施例中，表位可包括决定子，其是分子的化学活性表面基团，例如氨基酸、糖侧链、磷酰基、或磺酰基，且在某些实施例中，可具有特定三维结构特征和/或特定电荷特征。

[0167] 如本文所用，术语“交叉竞争”意指抗体或其抗原结合片段结合到抗原且抑制或阻断另一抗体或其抗原结合片段的结合。所述术语还包括两种定向的两种抗体之间的竞争，即，第一抗体结合且阻断第二抗体的结合，且反之亦然。在某些实施例中，第一抗体与第二抗体可结合到相同表位。可替代地，第一抗体与第二抗体可结合到不同、但重叠的表位，使得一种抗体的结合例如通过位阻抑制或阻断第二抗体的结合。抗体之间的交叉竞争可通过所述领域中已知的方法，例如通过实时无标记生物层干涉分析来测量。为了测定测试抗体是否与本发明的参考抗ZIKV抗体交叉竞争，使参考抗体在饱和条件下结合到ZIKV E或肽。接着，评估测试抗体结合到ZIKV E的能力。如果测试抗体能够在与参考抗ZIKV E抗体饱和结合之后结合到ZIKV E，可推断所述测试抗体结合到与参考抗ZIKV抗体不同的表位。换而言之，如果测试抗体在与参考抗ZIKV E抗体饱和结合之后不能结合到ZIKV E，则所述测试抗体可能结合到与本发明的参考抗ZIKV E抗体所结合的表位相同的表位。

[0168] 当指核酸或其片段时，术语“实质上一致性”或“实质上一致”表示，当在适当核苷酸插入或缺失的情况下与另一核酸(或其互补股)最优比对时，至少约90％、且更优选至少约95％、96％、97％、98％或99％的核苷酸碱基存在核苷酸序列一致性，如通过任何熟知的序列一致性算法所测量，例如FASTA、BLAST或GAP，如下文所讨论。在某些情况下，与参考核酸分子具有实质上一致性的核酸分子可编码氨基酸序列与参考核酸分子所编码的多肽相同或实质上相似的多肽。

[0169] 如应用于多肽，术语“实质上相似性”或“实质上相似”意指，当最优比对时，两个肽序列(例如通过使用默认间隙权重的程序GAP或BESTFIT)共有至少90％序列一致性、甚至更优选至少95％、98％或99％序列一致性。优选的是，不一致的残基位置因保守氨基酸取代而不同。“保守氨基酸取代”是氨基酸残基被具有化学性质(例如电荷或疏水性)类似的侧链的另一氨基酸残基(R基)取代。一般来说，保守氨基酸取代不会实质上改变蛋白质的功能性质。在两个或更多个氨基酸序列因保守取代而彼此不同的情况下，相似性百分比或程度可向上调整以针对取代的保守本质来校正。用于进行此调整的方式为所属领域中的技术人员所熟知。参见例如Pearson(1994)《分子生物学方法(Methods Mol.Biol.)》24:307-331，其以引用方式并入本文。具有化学性质类似的侧链的氨基酸的基团实例包括:1)脂族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸，和异亮氨酸;2)脂族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷酰胺;4)芳族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸，和组氨酸;6)酸性侧链:天冬氨酸盐及谷氨酸盐;和7)含硫侧链:半胱氨酸及甲硫氨酸。优选的保守氨基酸取代基是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸盐-天冬氨酸盐，和天冬酰胺-谷酰胺。可替代地，保守置换是具有Gonnet等人(1992)《科学》256:1443 45中所公开的PAM250对数可能性矩阵中的正值的任何变化，其以引用方式并入本文中。“中等保守”置换是具有PAM250对数可能性矩阵中的

非负值的任何变化。

[0170] 针对多肽的序列相似性通常是使用序列分析软件测量。蛋白质分析软件使用归因于各种取代、缺失和其它修饰包括保守氨基酸取代的相似性的测量来匹配类似序列。例如GCG软件含有例如GAP及BESTFIT的程序，其可与默认参数一起用于确定紧密相关的多肽例如来自不同物种有机体或在野生型蛋白质与其突变蛋白之间的同源多肽)之间的序列同源性或序列一致性。参见例如GCG 6.1版。多肽序列还可使用FASTA(GCG 6.1版中的程序)以默认或建议参数比较。FASTA(例如FASTA2及FASTA3)提供查询序列与搜索序列之间的最优选重叠的区域的比对和序列一致性百分比(Pearson(2000)同上)。当将本发明的序列与含有大量来自不同有机体的序列的数据库比较时，另一优选算法是使用默认参数的计算机程序BLAST，尤其是BLASTP或TBLASTN。参见例如Altschul等人(1990)《分子生物学杂志》215:403-410及(1997)《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》25:3389-3402，其各自以引用方式并入本文中。

[0171] 词组“治疗有效量”意指产生投与所期望的作用的量。确切量将取决于治疗目的，且将可由所属领域中的技术人员使用已知技术确定(参见例如Lloyd(1999)《医药混配的技艺、科学和技术(The Art，Science and Technology of Pharmaceutical Compounding)》)。

[0172] 如本文所用，术语“受试者”是指需要疾病或病症例如病毒感染的改善、预防，和/或治疗的动物、优选哺乳动物、更优选人类。所述受试者可患有ZIKV感染或倾向于发展ZIKV感染。“倾向于发展ZIKV感染”的受试者或“可处于感染ZIKV感染的高风险”的受试者是：免疫系统由于自体免疫疾病而受损的那些受试者；接受免疫抑制疗法(例如在器官移植之后)的那些人；受人类免疫缺陷综合症(HIV)或后天性免疫不全症侯群(AIDS)折磨的那些人；当居住或访问ZIKV爆发的地区时已暴露于ZIKV或可能变得暴露于ZIKV的妊娠女性；以及居住或访问已知ZIKV爆发的地区且考虑怀孕的女性；耗尽或破坏白血球的某些形式的贫血；接受辐射或化疗的那些人；或受发炎性病症折磨的那些人。可替代地，极年轻或年老的受试者的风险增加。与被感染的动物或人类患者身体接触或身体紧密靠近、或暴露于被感染的动物或人类患者的体液或组织的人的发展ZIKV感染的风险增加。此外，受试者由于以下而处于感染ZIKV感染的风险：靠近疾病爆发，例如受试者居住于人口密集的城市或紧密靠近已确认或怀疑ZIKV感染的受试者；或职业选择，例如医院员工、医药研究者、已访问或计划访问已知或怀疑ZIKV爆发的地区或国家的个体。在感染ZIKV感染的受试者中还有严重结果的风险增加。当孕妇感染ZIKV时，宝宝出生时患有畸形小头或其它发育异常的风险增加。因此，如果女性怀孕、或考虑怀孕，且其居住于ZIKV爆发的地区、或访问ZIKV爆发的地区、或处于已知具有带有ZIKV的蚊子的区域中，则其处于感染ZIKV感染的风险。在受试者暴露于ZIKV之后，发展格-巴二氏综合症的风险增加。

[0173] 如本文所用，术语“治疗(treat、treating、或treatment)”是指由于向有需要的受试者投与治疗剂例如本发明抗体而减轻或改善ZIKV感染的至少一种症状或适应症的严重性。所述术语包括抑制疾病的进展或感染的恶化。所述术语还包括疾病的积极预后，即，所述受试者在投与治疗剂(例如本发明抗体)之后不受感染、或其病毒效价减小或无病毒效价。治疗剂可以治疗剂量向受试者投与。

[0174] 术语“预防(prevent、preventing、或prevention)”是指投与本发明抗体之后抑制

ZIKV感染的表达或ZIKV感染的任何症状或适应症。所述术语包括预防感染在暴露于病毒或处于ZIKV感染的风险的受试者中的蔓延。

[0175] 如本文所用，术语“抗病毒药物”是指用于治疗、预防、或改善受试者的病毒感染的任何抗感染剂或疗法，不管是化学部分还是生物疗法。例如在本发明中，抗病毒药物可包括但不限于ZIKV的抗体(在一个实施例中，ZIKV的抗体可与本文中所述的抗体不同)、ZIKV疫苗、直接作用抗病毒剂，和干扰素(或其它免疫调节物)。在本发明中，待治疗的感染是由ZIKV所致。

[0176] 一般描述

[0177] ZIKV感染在健康受试者中一般是轻度疾病，但暴露于所述病毒的孕妇处于分娩出患有畸形小头或其它发育异常的风险。所述病毒是黄病毒科成员。

[0178] 所述病毒的基因组由长度大致11kb的单链正义RNA组成且编码约10个基因。兹卡病毒粒子含有三种结构蛋白：衣壳蛋白(C)、膜蛋白/前膜蛋白(M/prM)，和包膜糖蛋白(E)。所述病毒基因组还编码七种非结构蛋白。

[0179] 本文描述了特异性结合到ZIKV E且调节ZIKV与宿主细胞相互作用的完全人类抗体和其抗原结合片段。抗ZIKV E抗体可以高亲和力结合到ZIKV。在某些实施例中，本发明抗体可防止病毒附着至细胞，或可阻断病毒融合至宿主细胞膜。这样，抗体阻断病毒进入细胞且因此抑制或中和宿主细胞的病毒感染。在一些实施例中，抗体可以用于治疗罹患ZIKV感染的受试者、或处于获得ZIKV感染风险的受试者(例如居住于或访问ZIKV爆发的国家的妊娠女性)。当向有需要的受试者投与时，抗体可以减少病毒(例如ZIKV)对受试者的感染。其可以用于减小受试者的病毒负荷。其可单独或作为辅助疗法与所述领域中已知的其它治疗部分或模式一起用于治疗病毒感染。已鉴别的抗体可预防性地(在感染之前)用于保护哺乳动物免遭感染，或可治疗性地(在感染建立之后)用于改善先前所确立的感染、或改善与感染相关的至少一种症状。

[0180] 例示性ZIKV聚蛋白的全长氨基酸序列在GenBank中显示为登录号ALU33341.1且还显示在SEQ ID NO:353中。ZIKV E的片段可偶联至组氨酸标签，例如SEQ ID NO:354或355中所示。在某些实施例中，本发明抗体是获自以一级免疫原例如与prM共表达的全长ZIKV E或以ZIKV E的重组形式或其片段、或包含prM及E的粒子免疫，接着以二级免疫原、或以ZIKV E的免疫原活性片段免疫的小鼠。在某些实施例中，抗体是获自以编码ZIKV prM/E的DNA免疫的小鼠。

[0181] 免疫原可以是ZIKV E的生物活性和/或免疫原性片段或编码其活性片段的DNA。所述片段可源于病毒E的任何区域。所述肽可经修饰以包括某些残基的添加或取代，以供标记或达成结合到携带者分子(例如KLH)的目的。例如可将半胱氨酸添加在肽的N末端或C末端，或可添加连接子序列以制备结合到例如KLH的肽供免疫用。

[0182] 本发明的某些抗ZIKV抗体能够结合到ZIKV且中和ZIKV的活性，如通过试管内或活体内分析所测定。本发明抗体结合到ZIKV且中和ZIKV活性的能力和因此所述病毒附着和/或进入宿主细胞、接着病毒感染可使用所属领域中的技术人员已知的任何标准方法测量，包括结合分析或活性分析，如本文中所述。

[0183] 用于测量结合活性的非限制性例示性试管内分析说明于本文的实例3中。在实例3中，抗ZIKV E的结合是通过对表达prM/E的细胞中所产生的类病毒粒子(VLP)的结合来确

定。在实例4中，平衡解离常数是在Biacore 4000仪器中使用实时表面等离子体共振测定。中和分析在实例5中用于测定抗兹卡病毒对ZIKV感染性的作用。在实例6中进行交叉竞争分析以测定抗兹卡抗体的交叉反应性。

[0184] 特异性针对KV E的抗体可不含有额外标记或部分，或其可含有N端或C端标记或部分。在一个实施例中，所述标记或部分是生物素。在结合分析中，标记(如果有的话)的位置可以决定肽相对于肽所结合表面的定向。例如，如果表面涂布有抗生物素蛋白，则含有N端生物素的肽将被定向，使得肽的C端部分位于表面的远侧。在一个实施例中，所述标记可以是放射性核种、荧光染料或MRI可检测标记。在某些实施例中，此类标记抗体可以用于诊断分析包括成像分析中。

[0185] 抗体的抗原结合片段

[0186] 除非另有具体说明，否则如本文所用，术语“抗体”应理解为涵盖包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链的抗体分子(即，“完全抗体分子”)以及其抗原结合片段。如本文所用，术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括任何天然存在的、以酶促方式可获得的合成或基因工程多肽或糖蛋白，其特异性结合抗原而形成复合物。如本文所用，术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指保留对ZIKV特异性结合的能力的抗体的一个或多个片段。抗体片段可包括Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段、dAb片段、含有CDR的片段、或单离CDR。在某些实施例中，术语“抗原结合片段”是指多特异性抗原结合分子的多肽片段。抗体的抗原结合片段可使用任何适合的标准技术，由例如完整抗体分子获得，所述标准技术例如蛋白分解或重组遗传工程改造技术，其涉及操作及表达DNA编码抗体可变域及(任选的)恒定域。此类DNA是已知的和/或可容易得自例如商业来源、DNA文库(包括例如噬菌体-抗体文库)，或可以合成。DNA可以测序且以化学方式或通过使用分子生物学技术来操纵，例如将一个或多个可变域和/或恒定域排列成合适构型，或引入密码子，产生半胱氨酸残基，修饰、添加或缺失氨基酸等。

[0187] 抗原结合片段的非限制性实例包括：(i)Fab片段；(ii)F(ab′)2片段；(iii)Fd片段；(iv)Fv片段；(v)单链Fv(scFv)分子；(vi)dAb片段；和(vii)由模拟抗体高变区(例如单离互补决定区(CDR)，例如CDR3肽)的氨基酸残基组成的最小识别单元、或受约束的FR3-CDR3-FR4肽。如本文所用的表述“抗原结合片段”内还涵盖其它工程改造的分子，例如域特异性抗体、单域抗体、域缺失抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、微型抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫医药(SMIP)，和鲨鱼可变IgNAR域。

[0188] 抗体的抗原结合片段通常包含至少一个可变域。可变域可具有任何大小或氨基酸组成，且一般将包含至少一个CDR，其邻接于一个或多个构架序列或与其同框。在V_H域与V_L域缔合的抗原结合片段中，V_H与V_L域可以任何合适排列彼此相对定位。例如，可变区可以是二聚的且含有V_H-V_H、V_H-V_L、或V_L-V_L二聚物。可替代地，抗体的抗原结合片段可含有单体V_H或V_L域。

[0189] 在某些实施例中，抗体的抗原结合片段可含有共价连接至至少一个恒定域的至少一个可变域。可发现于本发明抗体的抗原结合片段内的可变域及恒定域的非限制性例示性构型包括：(i)V_H-C_H1；(ii)V_H-C_H2；(iii)V_H-C_H3；(iv)V_H-C_H1-C_H2；(v)V_H-C_H1-C_H2-C_H3；(vi)V_H-C_H2-C_H3；(vii)V_H-C_L；(viii)V_L-C_H1；(ix)V_L-C_H2；(x)V_L-C_H3；(xi)V_L-C_H1-C_H2；(xii)V_L-C_H1-

C_H2-C_H3;(xiii)V_L-C_H2-C_H3;和(xiv)V_L-C_L。在可变域及恒定域的任何构型中,包括上文所列举的任一种例示性构型,可变域与恒定域可彼此直接连接或可以通过完全或部分铰链区或连接子区域连接。铰链区可由至少2个(例如5、10、15、20、40、60个或更多个)氨基酸组成,从而使单一多肽分子中的相邻可变域和/或恒定域之间存在柔性或半柔性键联。此外,本发明抗体的抗原结合片段可包含上文所列举的任一种可变域合恒定域构型的均二聚物或杂二聚物(或其它多聚物),其彼此和/或与一个或多个单体V_H或V_L域(例如通过二硫键)非共价缔合。

[0190] 与完全抗体分子一样,抗原结合片段可以是单特异性或多特异性(例如双特异性)。抗体的多特异性抗原结合片段将通常包含至少两个不同的可变域,其中每个可变域能够特异性结合到分开的抗原或相同抗原上的不同表位。任何多特异性抗体形式,包括本文中所公开的例示性双特异性抗体形式,可适于使用所述领域中可供使用的常规技术在本发明抗体的抗原结合片段的情况中使用。

[0191] 人类抗体的制备

[0192] 用于在转基因小鼠中产生人类抗体的方法是所述领域中已知的。任何此类方法可以在本发明的的情况中用于制备特异性结合到ZIKV E的人类抗体。包含以下中的任一种的免疫原可以用于产生ZIKV的抗体。在某些实施例中,本发明抗体是获自以全长ZIKV聚蛋白(参见例如GenBank登录号ALU33341.1(SEQ ID NO:353))的片段免疫的小鼠,所述全长ZIKV聚蛋白由prM/E或其片段组成。可替代地,ZIKV E或其片段可使用标准生物化学技术产生且经修饰并用作免疫原。在一个实施例中,免疫原是重组产生的ZIKV E或其片段。在本发明的某些实施例中,免疫原可以是可商业购得的ZIKV E。在某些实施例中,可投与一或多次追加注射。在某些实施例中,追加注射可包含一种或多种可商业购得的ZIKV包膜糖蛋白。在某些实施例中,免疫原可以是在大肠杆菌中或在任何其它真核细胞或哺乳动物细胞(例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞)中表达的重组ZIKV E。

[0193] 使用VELOCIMMUNE®技术(参见例如US 6,596,541,Regeneron Pharmaceuticals,VELOCIMMUNE®)或用于产生单克隆抗体的任何其它已知方法,首先单离出具有人类可变区和小鼠恒定区的针对ZIKV E的高亲和力嵌合抗体。VELOCIMMUNE®技术涉及转基因小鼠的产生,所述小鼠具有包含可操作地连接至内源性小鼠恒定区基因座的人类重链可变区和轻链可变区的基因组,使得所述小鼠回应于抗原刺激产生包含人类可变区和小鼠恒定区的抗体。编码抗体的重链和轻链的可变区的DNA被单离且可操作地连接至编码人类重链恒定区和轻链恒定区的DNA。随后,DNA在能够表达完全人类抗体的细胞中表达。

[0194] 一般来说,将VELOCIMMUNE®小鼠以所关注的抗原攻击,且从表达抗体的小鼠回收淋巴细胞(例如B细胞)。淋巴细胞可与骨髓瘤细胞株融合以制备永生融合瘤细胞株,且此类融合瘤细胞株经筛选并选择以鉴别产生特异性针对所关注抗原的抗体的融合瘤细胞株。编码重链和轻链可变区的DNA可加以单离并连接至重链及轻链的所期望同型恒定区。此类抗体蛋白可产生于细胞(例如CHO细胞)中。可替代地,编码抗原特异性嵌合抗体或轻链和重链的可变域的DNA可直接从抗原特异性淋巴球单离。

[0195] 首先,单离出具有人类可变区和小鼠恒定区的高亲和力嵌合抗体。如在下文实验章节中,表征抗体并针对所期望的特征选择,包括亲和力、选择性、表位等。小鼠恒定区被所期望的人类恒定区置换以产生本发明的完全人类抗体,例如野生型或修饰IgG1或IgG4。尽

管所选择的恒定区可根据特定用途改变，但是高亲和力抗原结合和目标特异性特征存在于可变区中。

[0196] 生物等效物

[0197] 本发明的抗ZIKV E和抗体片段涵盖氨基酸序列与所述抗体的氨基酸序列不同，但保留与ZIKV反应的能力的蛋白质。相较于亲本序列，此类变异体抗体和抗体片段包含氨基酸的一个或多个添加、缺失或取代，但展现基本上等效于所述抗体的生物活性的生物活性。同样，相较于所公开的序列，本发明的编码抗体的DNA序列涵盖的序列包含核苷酸的一个或多个添加、缺失或取代，但编码基本上生物等效于本发明抗体或抗体片段的抗体或抗体片段。

[0198] 两种抗原结合蛋白或抗体在以下情况下被视为生物等效的，例如其在类似实验条件下以相同摩尔剂量(单次剂量或多次剂量)投与时，是吸收速率和程度不显示显著差异的医药等效物或医药替代物。一些抗体如果其吸收程度等效、但其吸收速率不等效，则可以被视为等效物或医药替代物，且仍可被视为生物等效的，因为吸收速率的此类差异是有意的，并且在标记时反映出来，在例如长期使用时达到有效身体药物浓度并非关键，且就所研究的特定药物产品来说，在医学上被视为不显著的。

[0199] 在一个实施例中，如果两种抗原结合蛋白的安全性、纯度、或效力无临床上有意义的差异，则其为生物等效的。

[0200] 在一个实施例中，如果患者可在参考产品与生物产品之间切换一或多次，而相较于无此类切换的持续疗法，不良作用的风险不会出现预期的增加，包括免疫原性的临床显著变化或有效性减弱，则两种抗原结合蛋白是生物等效的。

[0201] 在一个实施例中，如果两种抗原结合蛋白均通过常见机理或针对一个或多个使用条件的作用机理起作用(在此类机理已知的情况下)，则其是生物等效的。

[0202] 生物等效性可通过活体内和/或试管内方法证明。生物等效性测量包括例如(a)人类或其它哺乳动物活体内测试，其中测量抗体或其代谢物在血液、血浆、血清或其它生物流体中随时间而变的浓度；(b)试管内测试，其与人类活体内生物有效性数据相关且合理地预测人类活体内生物有效性数据；(c)人类或其它哺乳动物活体内测试，其中测量抗体(或其目标)随时间而变的适当急性药效；和(d)良好可控的临床试验，其确立抗体的安全性、功效，或生物有效性或生物等效性。

[0203] 本发明抗体的生物等效变异体可以如下构建：例如进行残基或序列进行各种取代或使生物活性不需要的末端或内部残基或序列缺失。例如，可将对于生物活性来说不必需的半胱氨酸残基缺失或以其它氨基酸置换以防止不必要的或错误的分子内二硫桥在复性后形成。在其它情况下，生物等效抗体可包括包含氨基酸变化的抗体变异体，其修改抗体的糖基化特征，例如消除或去除糖基化的突变。

[0204] 包含Fc变异体的抗ZIKV抗体

[0205] 根据本发明的某些实施例，可制备包含Fc域的抗ZIKV抗体，所述Fc域包含减弱抗体对FcRn受体的结合的一个或多个突变。

[0206] 在一个实施例中，本发明包括包含嵌合重链恒定(C_H)区的抗ZIKV抗体，其中所述嵌合C_H区包含来源于超过一种免疫球蛋白同型的C_H区的区段。例如，本发明抗体可包含嵌合C_H区，其包含来源于人类IgG1、人类IgG2或人类IgG4分子的部分或所有C_H2域，以及来源于人

类IgG1、人类IgG2或人类IgG4分子的部分或所有C_H3域。根据某些实施例，本发明抗体包含具有嵌合铰链区的嵌合C_H区。例如，嵌合铰链可包含来源于人类IgG1、人类IgG2或人类IgG4铰链区的“上铰链”氨基酸序列(根据EU编号，从位置216至位置227的氨基酸残基)，以及来源于人类IgG1、人类IgG2、或人类IgG4铰链区的“下铰链”序列(根据EU编号，从位置228至位置236的氨基酸序列)。根据某些实施例，嵌合铰链区包含来源于人类IgG1或人类IgG4上铰链的氨基酸残基和来源于人类IgG2下铰链的氨基酸残基。在某些实施例中，包含如本文中所述的嵌合C_H区的抗体可展现修饰Fc效应功能，而不会不利地影响抗体的治疗性质或药物动力学性质。(参见例如美国专利第US9,359,437号，其公开内容以全文引用反式并入本文中)。

[0207] 在本发明的某些实施例中，用于本发明情况的经修饰Fc域可包含IgG1 Fc，其包含如SEQ ID NO:356中所示的氨基酸序列。可替代地，用于本发明情况的经修饰Fc可包含IgG4 Fc，其包含SEQ ID NO:357或SEQ ID NO:358中所示的氨基酸序列。可以用于本发明情况的非限制性例示性经修饰Fc域阐明于美国专利第9,359,437号和US 62/140,350中，其公开内容以及其中所阐明的经修饰Fc区的任何功能等效变异体以全文引用方式并入本文中。

[0208] 在某些实施例中，本发明还包括抗ZIKV E抗体，其包含具有以下突变的Fc域：M131Y、S133T，和T135E(基于如SEQ ID NO:358中所编号的残基)，其中所述突变提供延长的抗体血清半衰期。

[0209] 可以用于本发明情况的其它经修饰Fc域及Fc修饰包括如US 2014/0171623、US 8,697,396、US 2014/0134162、WO 2014/043361中所阐明的修饰，其公开内容特此以全文引用方式并入。构建包含如本文所述的经修饰Fc域的抗体或其它抗原结合融合蛋白的方法为所述领域中已知的。

[0210] 抗体依赖性增强

[0211] 抗体依赖性增强(ADE)是病毒当结合到抗病毒抗体时进入具有Fc受体的细胞，引起细胞的感染性增加的机理。已试管内证明许多病毒(包括ZIKV)的ADE，但在人中ADE的唯一引人注目的数据来自登革热病毒感染。此病毒可使用此机理感染巨噬细胞，致使正常轻度病毒感染变得危及生命。例如，大多数情况的初始登革热病毒感染临床上表达为登革热发热(DF)，其为自限性发热不适。尽管很少致命，但是DF特征为常常严重的弥漫性身体疼痛、发热、头痛、皮疹、淋巴腺病，和白血球减少症。后续感染异源性登革热病毒可引起更为严重至致命的疾病登革热出血性发热(DHF)或登革热休克综合症(DSS)。假设造成初次感染的血清型的抗体的存在在再度感染中增强异源性血清型的感染。在此类再度感染期间，非中和性的交叉反应性抗体与登革热病毒的不同血清型形成病毒-抗体复合物，其进入单核细胞和兰格汉氏细胞(树状细胞)中，且增加感染细胞的数目。这引起细胞毒性淋巴球的活化，其可导致血浆渗漏及特征为DHF及DSS的出血性特征。感染的此抗体依赖性增强为已证明开发成功的针对登革热病毒的疫苗如此困难的一个原因。尽管频率较低，但是DHF/DSS可在初次感染之后发生，所以还相信病毒毒性和免疫活化促成疾病的发病机理。

[0212] ZIKV感染发生于先前暴露于登革热病毒的地区，登革热病毒与ZIKV密切相关。此外，近来已显示对登革热病毒有免疫力的患者的血浆显示实质的针对ZIKV的交叉反应性。此外，使用与登革热病毒包膜蛋白反应的一组人类血清及抗体，显示这些抗体还与ZIKV反应。这些抗体中的某些抗体能够结合ZIKV，但不能中和所述病毒，而是试管内促进ADE。

[0213] 所提出的ADE发生机理是通过使病毒结合到含有丰富FcγR的细胞表面，但其它病毒附着因子的水平低。在其它病毒附着因子不存在的情况下，这引起细胞内化，从而通过正常感染途径引起病毒感染。

[0214] 在某些实施例中，本发明的抗ZIKV抗体包含效应功能减小的经修饰Fc域。如本文所用，“效应功能减小的经修饰Fc域”意指相对于天然存在的野生型Fc域，已经修饰、突变、截断等的免疫球蛋白的任何Fc部分，使得包含经修饰Fc的分子相对于包含天然存在型的野生型Fc部分的比较分子，展现选自由以下组成的群组的至少一种作用的严重性或程度降低：细胞杀伤(例如ADCC和/或CDC)、补体活化、吞噬作用和助噬作用。在某些实施例中，“效应功能减小的经修饰Fc域”是对Fc受体(例如FcγR)的结合减小或减弱的Fc域。

[0215] 因此，在本发明的某些实施例中，抗ZIKV抗体包含对抗体的Fc区的修饰以允许对巨噬细胞及带有Fc受体的其它细胞上的Fc受体的结合减小，同时维持中和病毒的能力，且这样起作用以防止ADE发生，同时允许通过正常的病毒附着和/或融合中和来实现病毒感染性的减小。

[0216] 根据某些实施例，效应功能减小的经修饰Fc域为变异型IgG4 Fc，其包含SEQ ID NO:357(位置131、133和135无YTE修饰)或SEQ ID NO:358(位置131、133和135具有YTE修饰)中所示的氨基酸序列，如上文所述。因此，具有无YTE修饰的变异型IgG4 Fc的抗体不显示抗体依赖性增强，且不具有延长的半衰期(例如具有SEQ ID NO:367/368的HC/LC的H4H25703N)，而具有YTE修饰的变异型IgG4 Fc的抗体(例如具有SEQ ID NO:369/368的HC/LC的H4H25703)不显示抗体依赖性增强，但具有延长的半衰期。因此，相较于野生型IgG4 Fc可以进行Fc修饰，从而实现抗体的效应功能降低和血清半衰期延长。

[0217] 在本发明的一个方面中，本发明包含中和ZIKV的人类抗体、抗体变异体或其抗原结合片段，其中所述抗体、抗体变异体或抗原结合片段不会导致ZIKV感染出现抗体依赖性增强。在一个实施例中，本发明包含中和ZIKV的人类抗体、抗体变异体或其抗原结合片段，其中所述抗体、抗体变异体或抗原结合片段包含Fc区中的突变，且其中所述突变减少抗体对Fc受体的结合。

[0218] 在本发明的另一实施例中，本发明包含一种医药组合物，其包含两种或更多种结合ZIKV E的人类抗体或其抗原结合片段。所述抗体或抗原结合片段可防止病毒附着至细胞，或可防止病毒融合至宿主细胞膜，且因此防止病毒进入细胞并在细胞内复制，且不会导致ZIKV感染出现抗体依赖性增强。

[0219] 抗体的生物特征

[0220] 一般来说，本发明抗体通过结合到ZIKV包膜糖蛋白(E)来起作用。例如，本发明包括以小于10^{-7}M的K_D结合ZIKV E(例如在25℃或37℃下)的抗体和抗体的抗原结合片段，如通过表面等离子体共振(例如使用如本文所述的分析形式)所测量。在某些实施例中，抗体或其抗原结合片段以小于约100nM、小于约50nM、小于约5nM、小于约1nM、小于约500pM、小于约250pM、小于约100pM或小于约1pM的K_D结合ZIKV E，如通过表面等离子体共振(例如使用如本文所述的分析形式或实质上相似的分析)所测量。

[0221] 本发明还包括以大于约0.5分钟(如通过表面等离子体共振在25℃下所测量)或大于约0.3分钟(如通过表面等离子体共振在37℃下所测量)的解离半衰期(t1/2)结合ZIKV的抗体和其抗原结合片段，且例如使用如本文中所定义的分析形式或实质上相似的分析可以

或可以不显示在pH 5或pH 6下相对于pH 7.4的解离半衰期(t1/2)变化。在某些实施例中，本发明抗体或抗原结合片段以大于约10分钟、大于约30分钟、大于约60分钟、大于约100分钟、大于约200分钟、大于约300分钟、大于约400分钟、大于约500分钟、大于约600分钟、大于约700分钟、大于约800分钟、大于约900分钟或大于约1000分钟的t1/2结合ZIKV，如通过表面等离子体共振、在25℃下或在37℃下、例如使用如本文所定义的分析形式(例如mAb捕捉或抗原捕捉形式)或实质上相似的分析所测量。

[0222] 本发明还包括中和其宿主细胞的ZIKV感染的抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中，抗体以约10^{-11}M至10^{-9}M范围内的IC_{50}展现针对ZIKV的中和效力。本发明抗体还与包括MR766(乌干达1947)、PRVABC59(波多黎各2015)，和FLR(哥伦比亚2015)的ZIKV株交叉反应。本发明抗体还以约80pM至约150nM范围内的EC_{50}结合到来源于表达ZIKV prM/E的细胞的VLP。此外，本发明抗体与结合ZIKV E的其它抗体交叉竞争。

[0223] 在一个实施例中，本发明提供一种单离重组抗体或其抗原结合片段，其特异性结合到ZIKV和/或ZIKV E，其中所述抗体具有以下特征中的一种或多种：

[0224] (a)包含：三个重链互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2，和HCDR3)，其含在选自由以下SEQ ID NO所组成的群组的任一种重链可变区(HCVR)序列内：2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322，和338；和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2，和LCDR3)，其含在由以下SEQ ID NO所组成的群组的任一种轻链可变区(LCVR)序列内：10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330，和346；

[0225] (b)是完全人类单克隆抗体；

[0226] (c)以约80pM至约150nM的EC_{50}结合到表达兹卡prM/E的VLP；

[0227] (d)以小于10^{-7}M的解离常数(K_D)结合到ZIKV E，如在表面等离子体共振分析中所测量；

[0228] (e)在pH 5或pH 6下可以或可以不显示相对于pH 7.4的解离半衰期(t1/2)变化；

[0229] (f)显示以约10^{-11}M至约10^{-9}M范围内的IC_{50}中和ZIKV；

[0230] (g)在ZIKV感染动物中显示活体内保护作用；

[0231] (h)与参考抗体交叉竞争，其中参考抗体包含选自由表1的HCVR及LCVR氨基酸序列中的任一种组成的群组的重链可变区(HCVR)及轻链可变区(LCVR)氨基酸序列。

[0232] 本发明抗体可拥有前述生物特征的一种或多种、或其任何组合。下文概述本发明抗体的某些性质。本发明抗体的其它生物特征将根据本公开(包括本文中的工作例)为所属领域中的技术人员显而易知。

[0233] 表位定位和相关技术

[0234] 本发明包括与ZIKV E内所发现的一个或多个氨基酸相互作用的抗ZIKV抗体。抗体所结合的表位可由定位于ZIKV E内的3个或更多个(例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)氨基酸的单一邻接序列组成(例如域中的线性表位)。可替代地，表位可由定位于ZIKV E内的多个非邻接氨基酸(或氨基酸序列)组成(例如构形表位)。

[0235] 可使用所属领域中的技术人员已知的各种技术确定抗体是否与多肽或蛋白质内的“一个或多个氨基酸相互作用”。例示性技术包括例如常规交叉阻断分析，例如Antibodie

s,Harlow及Lane(Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harbor,NY)中所述。其它方法包括丙氨酸扫描突变分析、肽印迹分析(Reineke(2004)《分子生物学方法》248:443-63)、肽裂解分析结晶学研究,和NMR分析。此外,可采用例如表位切除、表位提取和抗原化学修饰的方法(Tomer(2000)《蛋白质科学(Prot.Sci.)》9:487-496)。可以用于鉴别多肽内的与抗体相互作用的氨基酸的另一方法是通过质谱法检测的氢/氘交换。一般来说,氢/氘交换方法涉及氘标记所关注的蛋白质,接着使抗体结合到氘标记蛋白。接着,将蛋白质/抗体复合物转移至水中,且氨基酸内的被抗体复合物保护的可交换质子经历氘-氢反向交换的速率比不是界面的一部分的氨基酸内的可交换质子慢。因此,形成蛋白质/抗体界面的一部分的氨基酸可保留氘,且因此相较于不包括在界面中的氨基酸展现相对较高的质量。在抗体解离之后,靶蛋白经受蛋白酶裂解和质谱法分析,借此显露对应于与抗体相互作用的特定氨基酸的氘标记残基。参见例如Ehring(1999)《分析生物化学(Analytical Biochemistry)》267:252-259;Engen及Smith(2001)《分析生物化学(Anal.Chem.)》73:256A-265A。

[0236] 术语“表位”是指B细胞和/或T细胞所响应的抗原上的位点。B细胞表位可由通过蛋白质的三级折叠并列的邻接氨基酸或非邻接氨基酸形成。由邻接氨基酸形成的表位通常在暴露于变性溶剂时保留,然而由三级折叠形成的表位通常在变性溶剂处理时丧失。表位通常包括呈独特空间构形的至少3个,且更通常至少5个或8-10个氨基酸。

[0237] 修饰辅助分析(Modification-Assisted Profiling,MAP)(也称为基于抗原结构的抗体分析(Antigen Structure-based Antibody Profiling,ASAP))是根据每种抗体对化学或酶修饰抗原表面的结合概况的相似性将大量针对相同抗原的单克隆抗体(mAb)分类的方法(参见US 2004/0101920,其特别以全文引用方式并入本文中)。每个类别可反映与另一类别所表达的表位截然不同或部分重叠的独特表位。此技术允许快速过滤遗传相同的抗体,使得表征可聚焦于遗传不同的抗体。当应用于融合瘤筛选时,MAP可以有助于鉴别产生具有所要特征的mAb的罕见融合瘤纯系。MAP可以用于将本发明抗体分选成结合不同表位的抗体群。

[0238] 在某些实施例中,ZIKV抗体或其抗原结合片段结合ZIKV E中所例示的任一种或多种区域内的表位(以自然形式或重组产生)或其片段。

[0239] 在一个实施例中,逃逸突变体是使用H4H25703N和H4H25619P抗体产生。这些研究的结果证明,SEQ ID NO:376的位置302的丝氨酸在H4H25703N抗体结合到E蛋白时起作用,因为丝氨酸变成苯丙氨酸引起抗体对突变E蛋白的结合损失,且还引起H4H25703N抗体的病毒中和能力损失。同样,使用H4H25619P抗体产生的逃逸突变体的结果证明,SEQ ID NO:376的位置311的苏氨酸和SEQ ID NO:376的位置369的赖氨酸在H4H25619P结合E蛋白时起作用,因为SEQ ID NO:376的位置311从苏氨酸变成异亮氨酸和位置369从赖氨酸变成谷氨酸引起抗体对突变E蛋白的结合损失,且还引起H4H25619P抗体的病毒中和能力损失。

[0240] 本发明包括结合到相同表位或表位的一部分的抗ZIKV E抗体。同样,本发明还包括与本文所述的任一种特定例示性抗体竞争结合到ZIKV E或其片段的抗ZIKV E抗体。例如,本发明包括与获自表1和2所述的那些抗体的一个或多个抗体交叉竞争结合到ZIKV的抗ZIKV E抗体。

[0241] 使用所述领域中已知的常规方法能够容易地确定抗体是结合到与参考抗ZIKV E抗体相同的表位,还是与参考抗ZIKV E抗体竞争结合。例如,为了确定测试抗体是否结合到

与本发明的参考抗ZIKV E抗体相同的表位，使参考抗体在饱和条件下结合到ZIKV E或肽。接着，评估测试抗体结合到ZIKV E的能力。如果测试抗体在与参考抗ZIKV E抗体的饱和结合之后能够结合到ZIKV E，可推断所述测试抗体结合到与参考抗ZIKV抗体不同的表位。换而言之，如果测试抗体在与参考抗ZIKV E抗体的饱和结合之后不能结合到ZIKV E，则所述测试抗体可能结合到与本发明的参考抗ZIKV E抗体所结合的表位相同的表位。

[0242] 为了确定抗体使用与参考抗ZIKV E抗体竞争结合，按照两种定向执行上文所述的结合方法：在第一定向中，使参考抗体在饱和条件下结合到ZIKV E，接着评估测试抗体对ZIKV E的结合。在第二定向中，使测试抗体在饱和条件下结合到ZIKV E，接着评估参考抗体对ZIKV E的结合。在两个定向中，如果仅第一(饱和)抗体能够结合到ZIKV E，则推断测试抗体和参考抗体竞争结合到ZIKV E。如所属领域中的技术人员将了解，与参考抗体竞争结合的抗体可不必结合到与参考抗体相同的表位，但可通过结合重叠或相邻表位而空间上阻断参考抗体的结合。

[0243] 如果两种抗体各自竞争抑制(阻断)另一抗体对抗原的结合，则所述两种抗体结合到相同或重叠表位。即，1、5、10、20或100倍过量的一种抗体将另一抗体的结合抑制至少50％、但优选75％、90％或甚至99％，如竞争性结合分析所测量(参见例如Junghans等人，《癌症研究(Cancer Res.)》199050:1495-1502)。可替代地，如果抗原中的减少或消除一种抗体结合的基本上所有氨基酸突变减少或消除另一抗体的结合，则两种抗体具有相同表位。如果减少或消除一种抗体结合的一些氨基酸突变减少或消除另一抗体的结合，则两种抗体具有重叠表位。

[0244] 随后可进行额外常规实验(例如肽突变及结合分析)以确认所观察的缺乏测试抗体的结合实际上是否归因于结合到与参考抗体相同的表位，或空间阻断(或另一现象)是否导致缺乏所观察的结合。此分选的实验可使用ELISA、RIA、表面等离子体共振、流动式细胞测量术或所述领域中可获得的任何其它定量或定性抗体结合分析来执行。

[0245] 免疫结合物

[0246] 本发明涵盖结合到治疗部分的人类抗ZIKV E单克隆抗体(“免疫结合物”)，例如治疗ZIKV感染的抗病毒药物。如本文所用，术语“免疫结合物”是指化学上或生物上连接至放射剂、细胞介素、干扰素、目标或报道部分、酶、肽或蛋白质、或治疗剂的抗体。所述抗体可在任何位置连接至放射性剂、细胞介素、干扰素、目标或报道部分、酶、肽、或治疗剂，只要其能够结合其目标。免疫结合物的实例包括抗体药物结合物和抗体毒素融合蛋白。在一个实施例中，所述药剂可以是ZIKV或ZIKV E的第二不同抗体。在某些实施例中，所述抗体可结合到特异性针对病毒感染细胞的药剂。可结合到抗ZIKV抗体的治疗部分的类型将考虑欲治疗的条件和欲达成的所要治疗作用。适用于形成免疫结合物的药剂实例为所述领域中已知的；参见例如WO 05/103081。

[0247] 多特异性抗体

[0248] 本发明抗体可以是单特异性、双特异性或多特异性的。多特异性抗体可特异性针对一种靶多肽的不同表位，或可含有特异性针对超过一种靶多肽的抗原结合域。参见例如Tutt等人，1991，《免疫学杂志(J.Immunol.)》147:60-69；Kufer等人，2004，《生物技术趋势(Trends Biotechnol.)》22:238-244。

[0249] 本发明的任一种多特异性抗原结合分子或其变异体可使用标准分子生物技术(例

如重组DNA和蛋白质表达技术)构建,如所属领域中的技术人员所知。

[0250] 在一些实施例中,ZIKV特异性抗体是以双特异性形式产生(“双特异性抗体”),其中结合到ZIKV的不同域的可变区连接在一起以在单一结合分子内赋予双域特异性。适当设计的双特异性抗体可通过增加特异性和结合亲合力来增强总体ZIKV-蛋白抑制功效。具有对个别域(例如N端域的区段)的特异性或可结合到一个域内的不同区的可变区在结构支架上成对,所述结构支架允许各区同时结合到分开的表位、或一个域内的不同区域。在双特异性抗体的一个实例中,来自具有对一个域的特异性的结合子的重链可变区(V_H)与来自具有对第二域的特异性的一系列结合子的轻链可变区(V_L)组合以鉴别可与原始V_H成对而不破坏对所述V_H的原始特异性的非同族V_L搭配物。以此方式,单一V_L区段(例如V_L1)可与两个不同的V_H域(例如V_H1及V_H2)组合以产生包含两条结合“臂”(V_H1-V_L1和V_H2-V_L1)的双特异性抗体。使用单一V_L区段减小系统的复杂性,且从而简化并增加用于产生双特异性抗体的选殖、表达和纯化过程的效率(参见例如USSN13/022759和US2010/0331527)。

[0251] 可替代地,结合超过一个域和第二目标的抗体(例如,但不限于,例如不同的第二抗ZIKV抗体)可以双特异性形式、使用本文中所述的技术或所属领域中的技术人员已知的其它技术制备。结合到不同区域的抗体可变区可与结合到例如ZIKV上的相关位点的可变区连接在一起,以在单一结合分子内赋予双抗原特异性。此本质的适当设计的双特异性抗体提供双重功能。细胞外域具有特异性的可变区与细胞外域之外具有特异性的可变区组合,且在结构支架上成对,从而允许每个可变区结合到分开的抗原。

[0252] 可以用于本发明情况的例示性双特异性抗体形式涉及使用第一免疫球蛋白(Ig)C_H3域和第二Ig C_H3域,其中所述第一Ig C_H3域和所述第二Ig C_H3域彼此相差至少一个氨基酸,且其中相较于缺乏所述氨基酸差异的双特异性抗体,至少一个氨基酸差异使得双特异性抗体对蛋白质A的结合减小。在一个实施例中,第一Ig C_H3结合蛋白质A,且第二Ig C_H3域含有减小或消除蛋白质A结合的突变,例如H95R修饰(通过IMGT外显子编号;H435R,根据EU编号)。第二C_H3可进一步包含Y96F修饰(通过IMGT;Y436F,根据EU)。在第二C_H3内可发现的其他修饰包括:在IgG1抗体的情况下,D16E、L18M、N44S、K52N、V57M,和V82I(通过IMGT;D356E、L358M、N384S、K392N、V397M,和V422I,根据EU);在IgG2抗体的情况下,N44S、K52N,和V82I(IMGT;N384S、K392N,和V422I,根据EU);以及在IgG4抗体的情况下,Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q,和V82I(通过IMGT;Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q,和V422I,根据EU)。本发明的范畴内涵盖上文所述的双特异性抗体形式的变异体。

[0253] 可以用于本发明情况的其它例示性双特异性形式包括但不限于例如基于scFv或双功能抗体双特异性形式、IgG-scFv融合体、双重可变域(DVD)-Ig、四源杂交瘤(Quadroma)、臼包杵(knobs-into-holes)、共同轻链(例如具有臼包杵的共同轻链等)、杂交Mab、杂交Fab、(SEED)体、亮氨酸拉链、Duobody、IgG1/IgG2、双重作用性Fab(DAF)-IgG,和Mab^2双特异性形式(参见例如Klein等人2012,mAbs 4:6,1-11,及其中引用的参考文献,针对前述形式)。双特异性抗体还可使用肽/核酸结合构建,例如其中使用具有正交化学反应性的非天然氨基酸产生位点特异性抗体-寡核苷酸结合物,其随后自组装成具有所定义的组成、化合价和几何形状的多聚物复合物。(参见例如Kazane等人,《美国化学学会杂志(J.Am.Chem.Soc.)》[电子出版:2012年12月4日])。

[0254] 治疗剂投与和调配物

[0255] 本发明提供治疗性组合物，其包含本发明的抗ZIKV E抗体或其抗原结合片段。根据本发明的治疗性组合物将与合适的载剂、赋形剂和并入调配物中以提供改良的转移、递送、耐受性等其它药剂一起投与。众多适当调配物可见于所有医药化学师已知的处方集(《雷明登氏药学全书(Remington′s Pharmaceutical Sciences)》，Mack Publishing Company，Easton，PA)中。这些调配物包括例如粉末、糊剂、软膏、胶冻、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子)的囊泡(例如LIPOFECTIN™)、DNA结合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水型乳液、乳液卡波蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶，和含半固体混合物的卡波蜡。还参见Powell等人″Compendium of excipients for parenteral formulations″PDA(1998)《医药科学和技术杂志(J Pharm Sci Technol)》52:238-311。

[0256] 抗体的剂量可以根据欲投与的受试者的年龄与体型、目标疾病、病状、投与途径等而变化。当本发明抗体用于治疗成人患者的疾病或病症、或用于预防此类疾病时，有利的是通常以约0.1至约60mg/kg体重、更优选约5至约60mg/kg体重、约10至约50mg/kg体重、或约20至约50mg/kg体重的单一剂量投与本发明抗体。视病状的严重性而定，治疗的频率和持续时间可以调整。在某些实施例中，本发明抗体或其抗原结合片段可按照至少约0.1mg至约800mg、约1mg至约500mg、约5mg至约300mg、或约10mg至约200mg、至约100mg、或至约50mg的初始剂量投与。在某些实施例中，初始剂量之后，可以按照与初始剂量的量大致相同或小于初始剂量的量投与第二剂量或多次后续剂量的抗体或其抗原结合片段，其中所述后续剂量可相隔至少1天至3天；至少一周；至少2周；至少3周；至少4周；至少5周；至少6周；至少7周；至少8周；至少9周；至少10周；至少12周；或至少14周。

[0257] 各种递送系统是已知的，且可以用于投与本发明的医药组合物，例如囊封于脂质体中、微粒、微胶囊、能够表达突变病毒的重组细胞、受体介导的胞吞作用(参见例如Wu等人(1987)《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》262:4429-4432)。引入方法包括但不限于皮内、透皮、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外，和经口途径。所述组合物可通过任何便利途径投与，例如通过输注或弹丸注射、通过上皮或黏膜皮肤内层(例如口腔黏膜、直肠和肠黏膜等)吸收，且可与其它生物活性药剂一起投与。投与可以是全身性或局部的。医药组合物还可以通过囊泡(具体来说，脂质体)中递送(参见例如Langer(1990)《科学》249:1527-1533)。

[0258] 本文中还涵盖使用纳米粒子递送本发明抗体。抗体结合的纳米粒子可以用于治疗和诊断应用。抗体结合的纳米粒子和制备与使用方法由Arruebo，M.等人2009(“Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications”于《纳米材料杂志(J.Nanomat.)》第2009卷，论文ID 439389，第24页，doi:10.1155/2009/439389中)详细描述，其以引用方式并入本文中。纳米粒子可经开发且结合到含于医药组合物中的抗体以靶向病毒感染的细胞。用于药物递送的纳米粒子还描述于例如US 8257740或US 8246995中，其各自全文并入本文中。

[0259] 在某些情况下，所述医药组合物可以通过控制释放系统递送。在一个实施例中，可使用泵。在另一实施例中，可使用聚合材料。在又另一实施例中，控制释放系统可靠近组合物的目标放置，因此仅需要全身剂量的一部分。

[0260] 可注射制剂可包括用于静脉内、皮下、皮内、颅内、腹膜内和肌内注射、点滴输注等的剂型。所述可注射制剂可通过公众已知的方法制备。例如，可注射制剂可例如通过溶解、

悬浮、或乳化上述抗体或其盐于传统上用于注射的无菌水介质或油性介质中来制备。作为注射用的水性介质，有例如生理食盐水、含有葡萄糖的等张溶液，和其它助剂等，其可与例如醇(例如乙醇)、多元醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非离子表面活性剂[例如聚山梨醇酯80、HCO-50(氢化篦麻油的聚氧乙烯(50mol)加合物)]、等适当助溶剂组合使用。作为油性介质，采用例如芝麻油、大豆油、等，其可与例如苯甲酸苯甲酯、苯甲醇、等助溶剂组合使用。如此制备的注射剂优选填充于适当安瓿中。

[0261] 本发明的医药组合物可利用标准针和注射器皮下或静脉内递送。此外，就皮下递送来说，笔式递送装置已应用于递送本发明的医药组合物。此类笔式递送装置可以是可再用的或抛弃式的。可再用的笔式递送装置一般利用含有医药组合物的可替换筒。一旦已投与筒内的所有医药组合物，且所述筒为空的，则可容易将空筒抛弃并用含有所述医药组合物的新筒替换。随后可再使用所述笔式递送装置。在抛弃式笔式递送装置中，不存在可替换筒。实际上，抛弃式笔式递送装置预填充有医药组合物，所述医药组合物保持在装置内的储器中。一旦所述储器的医药组合物清空，则将整个装置抛弃。

[0262] 许多可再用笔式和自注射器递送装置已应用于本发明的医药组合物的皮下递送中。实例包括但当然不限于AUTOPEN™(Owen Mumford公司，Woodstock，英国)、DISETRONIC™笔(Disetronic Medical Systems，Burghdorf，瑞士)、HUMALOG MIX 75/25™笔、HUMALOG™笔、HUMALIN 70/30™笔(Eli Lilly公司，Indianapolis，IN)、NOVOPEN™I、II，和III(Novo Nordisk，Copenhagen，丹麦)、NOVOPEN JUNIOR™(Novo Nordisk，Copenhagen，丹麦)、BD™笔(Becton Dickinson，Franklin Lakes，NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™、以及OPTICLIK™(Sanofi-Aventis，Frankfurt，德国)，仅举几例。已应用于本发明的医药组合物的皮下递送的抛弃式笔式递送装置的实例包括但当然不限于SOLOSTAR™笔(Sanofi-Aventis)、FLEXPEN™(Novo Nordisk)，和KWIKPEN™(Eli Lilly)、SURECLICK™自我注射器(Amgen，Thousand Oaks，CA)、PENLET ™(Haselmeier，Stuttgart，德国)、EPIPEN(Dey，L.P.)、以及HUMIRA™笔(Abbott Labs，Abbott Park，IL)，仅举几例。

[0263] 有利的是，用于上文所述的经口或肠胃外用途的医药组合物制备成以适合于配合活性成分的剂量的单位剂量的剂型。此类以单位剂量的剂型包括例如片剂、丸剂、胶囊、注射剂(安瓿)、栓剂等。所含抗体的量一般是单位剂量中每个剂型约5mg至约500mg；尤其是注射形式，优选的是其它剂型以约5mg至约100mg且以约10mg至约250mg含有所述抗体。

[0264] 抗体的预防或治疗用途

[0265] 本发明抗体可以用于治疗和/或预防与ZIKV感染相关的疾病或病症或病状，和/或用于改善至少一种与此类疾病、病症、或病状相关的症状。

[0266] 在一些实施例中，本发明抗体可以用于降低病毒效价或减小宿主中的病毒负荷。在一个实施例中，本发明抗体或其抗原结合片段可以治疗剂量投与患有ZIKV感染的患者。

[0267] 本发明的一种或多种抗体可以为了缓解或预防或降低所述疾病或病症的一种或多种症状或病状的严重性而投与。所述抗体可以用于改善或减轻ZIKV感染的至少一种症状的严重性，症状包括但不限于发热、头痛、关节痛、肌痛，和斑丘疹。

[0268] 本文中还涵盖预防性地向处于发展ZIKV感染的风险的受试者使用一种或多种本发明抗体，受试者例如免疫受损的个体；已相信带有ZIKV的蚊子叮咬的人；已暴露于ZIKV的孕妇；居住于或正访问已知ZIKV爆发的国家以及考虑怀孕的女性；正访问或居住于已知带

有怀疑携带ZIKV的蚊子的地区的个体;已访问或计划访问已知或怀疑ZIKV爆发的国家的个体。

[0269] 在本发明的另一个实施例中,本发明抗体用于制备供治疗罹患ZIKV感染或通过携带病毒的蚊子叮咬而暴露于ZIKV的患者的医药组合物。在本发明的另一实施例中,本发明抗体是作为辅助疗法与所属领域中的技术人员已知适用于治疗或改善ZIKV感染的任何其它药剂或任何其它疗法联合使用。

[0270] 组合疗法

[0271] 组合疗法可包括本发明的抗ZIKV E抗体和额外治疗剂,所述额外治疗剂可有利地与本发明抗体或与本发明抗体的生物活性片段组合。本发明抗体可与一种或多种用于治疗ZIKV感染的药物或药剂协同组合。

[0272] 例如,用于治疗病毒感染的例示性药剂可包括例如抗病毒药物、消炎药物(例如皮质类固醇及非类固醇消炎药物,例如抗TNF)、ZIKV的不同抗体、ZIKV疫苗、干扰素、免疫调节剂、或治疗ZIKV感染的任何其它姑息疗法。

[0273] 在一些实施例中,本发明的抗体可以与第二治疗剂组合以减小患有ZIKV感染的患者中的病毒负荷,或改善感染的一种或多种症状,和/或向胎儿或男性生殖器官的蔓延。

[0274] 在某些实施例中,第二治疗剂为特异性针对ZIKV E的另一不同抗体或抗体混合物,其中所述不同抗体或混合物内的抗体可以或可以不结合到与本发明抗体相同的表位或重叠的表位。在某些实施例中,第二治疗剂是不同ZIKV蛋白的抗体。第二抗体可特异性针对来自不同病毒株的一种或多种不同的ZIKV蛋白。本文中涵盖使用具有针对ZIKV的中和或抑制活性的本发明抗体的组合(“混合物”)。在一些实施例中,非竞争抗体可以组合且投与有需要的受试者,以降低ZIKV由于突变而逃逸的能力。在一些实施例中,构成所述组合的抗体结合到E上的不同的非重叠表位。构成所述组合的抗体可阻断病毒附着至细胞,和/或可抑制病毒与细胞膜融合,且这样,可阻断ZIKV进入宿主细胞中。抗体可与选自MR766(乌干达1947)、PRVABC59(波多黎各2015)和FLR(哥伦比亚2015)株的ZIKV株的E相互作用,且当单独或与上文所指出的任一种或多种药剂组合使用时,可中和所指出的任一种或多种ZIKV株或其变异体。

[0275] 本文中还涵盖使用本发明的抗ZIKV E抗体的组合,其中所述组合包含一种或多种不交叉竞争的抗体。在某些实施例中,所述组合包括混合,其包含至少两种或至少三种本发明抗体的混合物。所述混合物内的抗体的不同之处可以是其中和病毒或病毒感染细胞的能力,或其阻断病毒附着至细胞、或阻断病毒融合至细胞膜的能力,或其结合ZIKV E的能力。

[0276] 如本文所用,术语“与……组合”意指额外的治疗活性组分可在至少一种本发明抗ZIKV E抗体或包含两种或更多种本发明抗体的混合物投与之前、同时、或之后投与。术语“与……组合”还包括依序或同时投与抗ZIKV E抗体和第二治疗剂。

[0277] 额外治疗活性组分可在本发明抗ZIKV E抗体投与之前投与受试者。例如,如果第一组分在投与第二组分之前1周、72小时、60小时、48小时、36小时、24小时、12小时、6小时、5小时、4小时、3小时、2小时、1小时、30分钟、15分钟、10分钟、5分钟、或少于1分钟投与,则可认为第一组分为在第二组分“之前”投与。在其它实施例中,额外治疗活性组分可在投与本发明抗ZIKV E抗体之后投与受试者。例如,第一组分在第二组分投与之后1分钟、5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、12小时、24小时、36小时、

48小时、60小时、72小时投与，则可认为第一组分在第二组分“之后”投与。在又其它实施例中，额外治疗活性组分可在投与本发明抗ZIKV E抗体同时投与受试者。出于本发明的目的，“同时”投与包括例如以单一剂型向受试者投与抗ZIKV E抗体和额外治疗活性组分，或以分开的剂型在彼此约30分钟或更少时间内向受试者投与。如果以分开剂型投与，则每种剂型可通过相同途径投与(例如抗ZIKV E抗体和额外治疗活性组分可静脉内投与等)；可替代地，各剂型可通过不同途径投与(例如抗ZIKV E抗体可静脉内投与，且额外治疗活性组分可经口投与)。在任何情况下，出于本揭露的目的，以单一剂型、通过相同途径以分开剂型、或通过不同途径以分开剂型投与组分皆视为“同时投与”。出于本公开的目的，在投与额外治疗活性组分“之前”、“同时”、或“之后”(如同本文上文定义那些术语)投与抗ZIKV E抗体被视为与额外治疗活性组分“组合”投与抗ZIKV E抗体。

[0278] 本发明包括其中本发明抗ZIKV E抗体与一种或多种额外治疗活性组分共调配的医药组合物，如本文其它地方所述。

[0279] 投药方案

[0280] 根据某些实施例，可将单次剂量的本发明抗ZIKV E抗体(或包含一种或多种本发明抗体或一种或多种抗ZIKV E抗体和本发明所提及的任何额外治疗活性药剂的组合的医药组合物)投与有需要的受试者。根据本发明的某些实施例，可在定义的时程内向受试者投与多剂量的抗ZIKV E抗体(或包含抗ZIKV E抗体或一种或多种本发明抗体和本文所提及的任何额外治疗活性药剂的组合的医药组合物)。根据本发明的此方面的方法包括向受试者依序投与多次剂量的一种或多种本发明抗ZIKV E抗体。如本文所用，“依序投与”意指在不同时间点，例如在相隔预定间隔时间(例如数小时、数天、数周、或数月)的不同天，向受试者投与每种剂量的抗ZIKV E抗体。本发明包括的方法包含向患者依序投与单次初始剂量的抗ZIKV E抗体，接着投与一个或多个二次剂量的抗ZIKV E抗体，及任选地接着投与一个或多个三次剂量的抗ZIKV E抗体。

[0281] 术语“初始剂量”、“二次剂量”和“三次剂量”是指投与本发明抗ZIKV E抗体的时间顺序。因此，“初始剂量”为在开始治疗方案时投与的剂量(还称为“基线剂量”)；“二次剂量”为在初始剂量之后投与的剂量；和“三次剂量”为二次剂量之后投与的剂量。初始剂量、二次剂量和三次剂量可均含有相同量的抗ZIKV E抗体，但就投与频率来说一般可彼此不同。然而，在某些实施例中，初始剂量、二次剂量和/或三次剂量中所含有的抗ZIKV E抗体的量在治疗的过程期间彼此不同(例如适当时向上或向下调整)。在某些实施例中，在开始治疗方案时，以“负荷剂量”投与两个或更多个(例如2、3、4或5个)剂量，接着基于较小频率投与后续剂量(例如“维持剂量”)。

[0282] 在本发明的某些例示性实施例中，每种二次剂量和/或三次剂量是在上一剂量之后的1至48小时(例如1、$1^1/_2$、2、$2^1/_2$、3、$3^1/_2$、4、$4^1/_2$、5、$5^1/_2$、6、$6^1/_2$、7、$7^1/_2$、8、$8^1/_2$、9、$9^1/_2$、10、$10^1/_2$、11、$11^1/_2$、12、$12^1/_2$、13、$13^1/_2$、14、$14^1/_2$、15、$15^1/_2$、16、$16^1/_2$、17、$17^1/_2$、18、$18^1/_2$、19、$19^1/_2$、20、$20^1/_2$、21、$21^1/_2$、22、$22^1/_2$、23、$23^1/_2$、24、$24^1/_2$、25、$25^1/_2$、26、$26^1/_2$、或更长时间)投与。如本文所用，词组“上一剂量”意指在多次投与的顺序中，在无干预剂量的情况下以所述顺序投与下一剂量之前投与患者的抗ZIKV E抗体的剂量。

[0283] 根据本发明的此方面的方法可包含向患者投与任何数目个二次剂量和/或三次剂量的抗ZIKV E抗体。例如，在某些实施例中，仅向患者投与单一的二次剂量。在其它实施例

中，向患者投与两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8个或更多个)二次剂量。同样，在某些实施例中，仅向患者投与单一的三次剂量。在其它实施例中，向患者投与两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8个或更多个)三次剂量。

[0284] 在本发明的某些实施例中，向患者投与二次剂量和/或三次剂量的频率可在治疗方案的过程中变化。根据临床检查之后个别患者的需要，医师还可在治疗过程期间调整投药频率。

[0285] 抗体的诊断用途

[0286] 本发明的抗ZIKV E抗体可以用于检测和/或测量样品中的ZIKV以达成例如诊断目的。一些实施例涵盖在分析中使用一种或多种本发明抗体检测例如病毒感染的疾病或病症。ZIKV的例示性诊断分析可包含例如使样品(获自患者)与本发明抗ZIKV E抗体接触，其中所述抗ZIKV E抗体标记有可检测标记或报道分子或用作捕捉配位体以从患者样品选择性单离ZIKV。可替代地，未标记的抗ZIKV E抗体可与本身经可检测标记的二级抗体组合用于诊断应用中。可检测标记或报道分子可以是放射性同位素，例如^{3}H、^{14}C、^{32}P、^{35}S、或^{125}I；荧光或化学发光部分，例如异硫氰酸荧光素或玫瑰红；或酶，例如碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶、或荧光素酶。可以用于检测或测量样品中的ZIKV的特定例示性分析包括酶联免疫吸附分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)，和荧光活化细胞分选(FACS)。

[0287] 可以根据本发明用于ZIKV诊断分析中的样品包括在正常或病理状况下可获自患者的任何组织或流体样品，其含有可检测量的ZIKV或其片段。一般来说，测量获自健康患者(例如未罹患与ZIKV相关的疾病的患者)的特定样品中的ZIKV含量以首先确立ZIKV的基线(或标准)含量。随后可将ZIKV的基线含量与获自怀疑患有与ZIKV相关的病状或与此类病状相关的症状的个体的样品中所测量的ZIKV含量比较。

[0288] 特异性针对ZIKV的抗体可不含有额外标记或部分，或其可含有N端或C端标记或部分。在一个实施例中，所述标记或部分是生物素。在结合分析中，标记(如果有的话)的位置可确定肽相对于肽所结合的表面的定向。例如，如果表面涂布有抗生物素蛋白，则含有N端生物素的肽经定向以使得肽的C端部分将位于表面的远侧。

[0289] 实例

[0290] 提供以下实例以便向所属领域中的技术人员完整地公开和描述如何制备和使用本发明方法和组合物，且以下实例不希望限制本发明人视为其发明的范围。已努力确保关于所用数值(例如量、温度等)的准确度，但应考虑一些实验误差和偏差。除非另外说明，否则份数为重量份数，分子量为重量平均分子量，温度为摄氏温度，室温为约25℃，且压力为大气压或接近大气压。

[0291] 实例1:产生针对ZIKV的人类抗体

[0292] 在小鼠中产生针对ZIKV的人类抗体，其包含编码人类免疫球蛋白重链可变区和K轻链可变区的DNA。在一个实施例中，在VELOCIMMUNE®小鼠中产生针对ZIKV的人类抗体。在一个实施例中，以编码ZIKV prM/E的DNA将VelocImmune®(VI)小鼠免疫(还参见GenBank登录号ALU33341.1和SEQ ID NO:353)。根据包含相隔2周的2次免疫的加速方案产生抗体。通过ZIKV E特异性免疫分析监测抗体免疫反应。例如，分析血清中的针对自表达ZIKV prM/E的细胞所产生的类似病毒粒子(VLP)的特异性抗体效价。使用B细胞分选技术(BST)和融合瘤方法单离产生抗体的纯系。例如，当达成所期望的免疫反应时，收集脾细胞

且将其与小鼠骨髓瘤细胞融合以保持其存活率并形成融合瘤细胞株。筛选且选择融合瘤细胞株以鉴别产生ZIKV E特异性抗体的细胞株。使用此技术和上文所述的各种免疫原，获得若干嵌合抗体(即，拥有人类可变域和小鼠恒定域的抗体)。以此方式产生的例示性抗体指定为H2aM25703N、H2aM25704N、H2aM25708N、H2aM25709N、H2aM25710N，和H2aM25711N。

[0293] 将抗ZIKV抗体直接从抗原阳性小鼠B细胞单离，而不融合至骨髓瘤细胞，如美国专利7582298中所述，其特别以全文引用方式并入本文中。使用此方法，获得若干完全人类抗ZIKV E抗体(即，拥有人类可变域和人类恒定域的抗体)；以此方式产生的例示性抗体指定为H4H25566P、H4H25587P、H4H25591P、H4H25592P、H4H25598P、H4H25602P、H4H25617P、H4H25619P、H4H25622P、H4H25626P、H4H25630P、H4H25633P、H4H25634P、H4H25637P、H4H25640P、H4H25641P、H4H25703N、H4H25704N、H4H25708N、H4H25709N、H4H25710N、H4H25711N。

[0294] 根据此实例的方法产生的例示性抗体的生物性质详细描述于下文所阐明的实例中。

[0295] 实例2：重链可变区与轻链可变区氨基酸和核苷酸序列

[0296] 表1阐明本发明的所选抗ZIKV抗体的重链可变区与轻链可变区和CDR的氨基酸序列识别符。对应核酸序列识别符阐明于表2中。

[0297] 表1：氨基酸序列识别符

[0298]

	SEQ ID NO:							
抗体命名	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H25566P	2	4	6	8	10	12	14	16
H4H25587P	18	20	22	24	26	28	30	32

[0299]

H4H25591P	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H25592P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H25598P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H25602P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H25617P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H25619P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H25622P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H25626P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H25630P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H25633P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H25634P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H25637P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H25640P	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H25641P	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H25703N	258	260	262	264	266	268	270	272
H4H25704N	274	276	278	280	282	284	286	288
H4H25708N	290	292	294	296	298	300	302	304
H4H25709N	306	308	310	312	314	316	318	320
H4H25710N	322	324	326	328	330	332	334	336
H4H25711N	338	340	342	344	346	348	350	352
H2aM25703N	258	260	262	264	266	268	270	272
H2aM25704N	274	276	278	280	282	284	286	288
H2aM25708N	290	292	294	296	298	300	302	304
H2aM25709N	306	308	310	312	314	316	318	320
H2aM25710N	322	324	326	328	330	332	334	336
H2aM25711N	338	340	342	344	346	348	350	352

[0300] 表2:核酸序列识别符

[0301]

	SEQ ID NO:							
抗体命名	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H25566P	1	3	5	7	9	11	13	15
H4H25587P	17	19	21	23	25	27	29	31
H4H25591P	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H25592P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H25598P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H25602P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H25617P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H25619P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H25622P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H25626P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H25630P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H25633P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4H25634P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H25637P	209	211	213	215	217	219	221	223

[0302]

H4H25640P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H25641P	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H25703N	257	259	261	263	265	267	269	271
H4H25704N	273	275	277	279	281	283	285	287
H4H25708N	289	291	293	295	297	299	301	303
H4H25709N	305	307	309	311	313	315	317	319
H4H25710N	321	323	325	327	329	331	333	335
H4H25711N	337	339	341	343	345	347	349	351
H2aM25703N	257	259	261	263	265	267	269	271
H2aM25704N	273	275	277	279	281	283	285	287
H2aM25708N	289	291	293	295	297	299	301	303
H2aM25709N	305	307	309	311	313	315	317	319
H2aM25710N	321	323	325	327	329	331	333	335
H2aM25711N	337	339	341	343	345	347	349	351

[0303] 抗体在本文中通常根据以下命名法提及:Fc前缀(例如“H1H”、“H4H”、“H2aM”等),继之为数字识别符(例如“25566”、“25587”、“25710”等,如表1或2中所示)、继之为“P”、“P2”、“N”、“N2”、或“B”后缀。本文中所用的抗体命名的H1H和H4H前缀表示抗体的特定Fc区同型。因此,根据此命名法,抗体在本文中可称为例如“H4H25566P”、“H2aM25703N”等。例如,“H4H”抗体具有人类IgG4 Fc,且“H2aM”抗体具有小鼠IgG2a Fc(所有可变区为完全人类可变区,如抗体命名中的第一‘H’所表示)。如所属领域中的技术人员所理解,具有特定Fc同型的抗体可转换成具有不同Fc同型的抗体(例如具有小鼠IgG1 Fc的抗体可转换成具有人类IgG4的抗体等),但在任何情况下,可变域(包括CDR)(其由表1或2中所示的数字识别符表示)将保持相同,且预期针对抗原的结合性质相同或实质上相似,不论Fc域的本质。

[0304] 实例3.评估单克隆抗体对兹卡前膜-包膜中间物(prM/E)聚蛋白的结合的结合分析

[0305] 为了研究一组抗ZIKV单克隆抗体结合ZIKV E的能力,开发一种试管内结合分析,其在基于电致化学发光的检测平台(MSD)中利用由表达prM/E的细胞制备类似ZIKV病毒粒子(VLP)。

[0306] VLP是由短暂表达ZIKV prM/E聚蛋白(登录号ALU33341.1(还显示为SEQ ID NO:353),ZIKV聚蛋白的氨基酸123-795)的HEK293T/17细胞产生。还产生由表达水泡性口炎病毒(VSV)糖蛋白(G)的细胞制备的VLP作为阴性结合对照。实验中包括人类IgG4和小鼠IgG2a抗体的阴性对照,作为IgG检测抗体的无关阴性对照。

[0307] 根据以下程序进行实验。将来自上文所述的两种来源的VLP在PBS中稀释,接种至96孔碳电极盘(多数组高结合盘,MSD)中,且在4℃下培育隔夜以使VLP黏附。在室温下用含2%BSA(w/v)的PBS将非特异性结合位点阻断1小时。向盘结合的粒子中双重复添加在1X PBS+0.5%BSA中连续稀释的1.7pM至100nM范围内的抗ZIKV和对照抗体以及单独缓冲液,且将盘在室温下培育1小时。随后使用AquaMax2000盘洗涤器(MDS Analytical Technologies)将盘于1X PBS中洗涤以去除未结合抗体。在室温下以SULFO-TAG™结合抗人类IgG抗体(Meso Scale Development)或SULFO-TAG™结合抗小鼠IgG抗体(Jackson Immunoresearch)检测盘结合的抗体历时1小时。洗涤之后,根据制造商建议的程序将盘用读取缓冲液(MSD)显影,且用SECTOR成像器600(MSD)仪器读取发光信号。分析直接结合信号

(RLU)随抗体浓度的变化，且使用GraphPad Prism™软件将数据与S形(四参数逻辑)剂量-反应模型拟合。确定ZIKV prM/E VLP的EC_{50}值(定义为检测到50％最大结合信号时的抗体浓度)以指示每种抗体的效力。此外，计算11.1nM的抗体在ZIKV prM/E VLP与无关VSV G VLP上的结合信号的比率。结合比率小于2的抗体在表3中标示为NB。NB是指在分析条件下未观察到特异性结合。

[0308] 结果概述及结论：

[0309] 使用免疫结合分析，相较于含VSV G的无关VLP，评估抗ZIKV单克隆抗体特异性结合由表达prM/E的细胞所制备的ZIKV VLP的能力。使用SULFO-TAG™结合抗人类IgG或抗小鼠IgG抗体检测在高达100nM的抗体浓度的情况下，在96孔高结合盘(MSD)上结合到固定VLP的抗体剂量依赖性，且在Sector成像器600(MSD)上记录呈电致化学发光形式的结合信号。确定抗体结合到VLP的RLU值。针对ZIKV prM/E VLP，计算EC_{50}值作为效力的量度。针对具有影响ZIKV结合概况的无关背景的抗体，较高浓度排除在EC_{50}值的计算之外，且将值斜体表示于表中。使用11.1nM的抗体对ZIKV prM/E与无关表达VLP的结合信号的比较评估ZIKV蛋白的结合特异性。将特异性结合定义为抗体对表达ZIKV prM/E的VLP相较于在所述浓度下对无关VLP具有2倍或更高比率的结合。

[0310] 结合结果概述于表3中。结合到ZIKV prM/E VLP的EC_{50}值已有报道且测试抗体的EC_{50}值在87pM至133nM范围内。对于抗体H4H25640P和H4H25704N，较高浓度下的结合值排除在EC_{50}值的计算之外，以补偿无关VSV G VLP的高背景。在11.1nM浓度下对ZIKV prM/E VLP的结合相对于对VSV G VLP的结合的比率也已报道。已评估的所有测试抗体均特异性结合到ZIKV prM/E VLP。阴性同型对照抗体未特异性结合，正如所预期(数据未显示)。

[0311] 表3

[0312]

Ab PID	结合到兹卡 prM/E VLP EC50（M）	11.1 nM 的 RLU 兹卡 VLP/VSV G VLP 的比率
H4H25566P	8.20E-10	6
H4H25587P	1.45E-10	14
H4H25591P	1.02E-10	3
H4H25592P	2.13E-10	7
H4H25598P	4.26E-10	7
H4H25602P	1.56E-09	5
H4H25617P	7.55E-10	8
H4H25619P	1.92E-09	7
H4H25622P	2.44E-09	7
H4H25626P	1.59E-09	10
H4H25630P	2.17E-10	9
H4H25633P	4.00E-10	9
H4H25634P	3.23E-10	11

[0313]

H4H25637P	3.22E-10	9
H4H25640P	*1.02E-10*	2
H4H25641P	2.87E-09	6
H4H25703N	8.46E-11	8
H4H25708N	1.33E-07	4
H4H25704N	*1.80E-10*	4
H4H25710N	5.42E-10	13
H2aM25710N	2.44E-10	107
H2aM25709N	3.62E-10	244
H2aM25711N	4.68E-10	263

[0314] 斜体值具有高抗体浓度,其排除在EC_{50}计算之外。

[0315] 实例4:抗体对ZIKV prM80E的结合,如表面等离子体共振所测定

[0316] A.pH依赖性解离速率常数

[0317] 使用实时表面等离子体共振生物传感器、使用Biacore 4000仪器(目录号28-9643-21)确定结合到纯化抗ZIKV mAb的兹卡(prM80E)-mmH的解离速率常数。通过胺与多株山羊抗人类Fc抗体(Jackson Laboratories,#BR-109005-098)的偶联来获得Biacore CM5传感器表面以捕捉与人类恒定区一起表达的抗ZIKV抗体。在pH 7.4、6.0、5.5和5.0下,在包含0.01M Na_2HPO_4/NaH_2PO_4、0.15M NaCl、0.05%v/v表面活性剂P20(PBS-P电泳缓冲液)的缓冲液中执行Biacore pH追踪研究。在PBS-P电泳缓冲液(在30nM的浓度下)中制备具有C端myc-myc-his标签(SEQ ID NO:354)的ZIKV(prM80E)(因此称为ZIKV-mmH),且将其在30μL/分钟的流速下注射于抗ZIKV mAb捕捉表面上。在pH 7.4下、在PBS-P电泳缓冲液中,监测ZIKV-mmH与捕捉单克隆抗体的缔合持续3分钟,且监测在pH7.4、pH6.0、pH5.5、或pH5.0下、在PBS-P电泳缓冲液中ZIKV-mmH的解离持续10分钟。所有pH追踪实验均在37℃下执行。通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件,将实时感测图与1:1结合模型拟合来确定动力学解离(k_d)速率常数。解离半衰期(t1/2)利用动力学速率常数如下计算:

[0318] $t_{1/2}(min) = ln2/(60xk_d)$

[0319] 在37℃下ZIKV-mmH结合到纯化抗ZIKV mAb的结合动力学参数显示于表4A和4B中。

[0320] 表4A:在pH 7.4和6.0下的37℃结合动力学结果

[0321]

	pH 7.4				pH 6.0				
REGN Nr/Ab PID #	mAb 捕捉（RU）	所结合的 30 nM 兹卡 prM80E（RU）	kd（1/s）	t1/2（min）	mAb 捕捉（RU）	所结合的 30 nM 兹卡 prM80E（RU）	kd（1/s）	t1/2（min）	t 1/2 pH 7.4 / t 1/2 pH 6.0
H4H25566P	113.3	14.1	5.42E-02	0.21	111.5	6.9	2.99E-01	0.04	5.5
H4H25587P	65.4	20.1	1.80E-02	0.64	62.2	22.1	1.51E-02	0.77	0.8
H4H25591P	159.9	62.7	6.30E-03	1.83	161.8	62.3	1.36E-02	0.85	2.2
H4H25592P	126.7	57.9	1.74E-03	6.63	123	59.6	5.03E-03	2.3	2.9
H4H25598P	65.5	29.3	3.97E-04	29.13	59.8	28.8	1.29E-02	0.9	32.4
H4H25602P	95.4	31.5	3.56E-04	32.46	92.5	32.2	1.22E-02	0.95	34.1
H4H25617P	28.3	13.6	6.02E-03	1.92	19.2	14.1	4.94E-03	2.34	0.8
H4H25619P	79.2	15.8	1.93E-03	6	73.8	18.4	1.02E-03	11.29	0.5
H4H25622P	66.8	18	3.18E-03	3.63	56.8	16.5	2.34E-03	4.93	0.7
H4H25626P	8	1.3	IC	IC	4.1	1.5	IC	IC	IC
H4H25630P	-11.6	-0.5	IC	IC	-21.6	-1.5	IC	IC	IC
H4H25633P	8.6	0.6	IC	IC	4.7	1.5	IC	IC	IC
H4H25634P	26.3	15	1.19E-02	0.97	15.4	15	5.85E-03	1.98	0.5
H4H25637P	119.9	37.6	1.18E-02	0.98	116.4	38.5	3.92E-03	2.95	0.3
H4H25640P	104.7	55.6	1.72E-03	6.72	102.2	58.5	3.23E-03	3.58	1.9
H4H25641P	85.9	23.4	1.91E-02	0.61	79.7	25.1	1.59E-02	0.73	0.8
H4H25703N	153.4	74.6	2.11E-03	5.47	158.7	77.3	2.83E-03	4.08	1.3
H4H25708N	69.9	22.5	2.60E-03	4.45	67.8	25.4	1.44E-03	8.02	0.6
H4H25704N	78.1	46.6	1.21E-03	9.56	74.9	49.7	1.31E-03	8.85	1.1
H4H25710N	82.7	21.3	5.41E-03	2.14	81.1	21.1	1.30E-01	0.09	24

[0322] IC＝非决定性

[0323] NB 无结合

[0324] 表4B:在pH 5.5和5.0下的37℃结合动力学结果

[0325]

	pH 5.5					pH 5.0				
REGN Nr/Ab PID #	mAb 捕捉（RU）	所结合的 30 nM 兹卡 prM80E（RU）	kd（1/s）	t1/2（min）	t 1/2 pH 7.4 / t 1/2 pH 5.5	mAb 捕捉（RU）	所结合的 30 nM 兹卡 prM80E（RU）	kd（1/s）	t1/2（min）	t 1/2 pH 7.4 / t 1/2 pH 5.0
H4H25566P	96.8	6.4	3.92E-01	0.03	7.2	101.5	6.1	3.68E-01	0.03	6.8
H4H25587P	63.7	27.2	1.74E-02	0.66	1	46.2	23.6	1.77E-02	0.7	1
H4H25591P	145	62.1	1.84E-02	0.63	2.9	151.6	57.7	1.48E-02	0.8	2.4
H4H25592P	124.6	66.7	7.36E-03	1.57	4.2	111.7	61.5	6.58E-03	1.8	3.8
H4H25598P	44.9	26.9	7.41E-02	0.16	187	54	22.4	1.14E-01	0.1	288
H4H25602P	94.3	37	4.76E-02	0.24	134	81.8	30.4	9.70E-02	0.1	272
H4H25617P	-0.2	15.2	4.65E-03	2.48	0.8	10.4	13.4	4.64E-03	2.5	0.8
H4H25619P	71.9	24.6	9.53E-04	12.12	0.5	59.1	21.2	5.48E-04	21.1	0.3
H4H25622P	42.8	19.3	1.78E-03	6.49	0.6	49.8	16.9	7.04E-04	16.4	0.2
H4H25626P	-1.1	5	IC	IC	IC	-6.5	1	IC	IC	IC
H4H25630P	-35.2	-2.6	IC	IC	IC	-22.7	-3.9	IC	IC	IC
H4H25633P	0.5	1.7	IC	IC	IC	-8.3	-2.9	IC	IC	IC
H4H25634P	-4	17.3	6.11E-03	1.89	0.5	6.4	14	5.53E-03	2.1	0.5
H4H25637P	118.2	42.6	4.14E-03	2.79	0.4	105.1	38.9	2.28E-03	5.1	0.2
H4H25640P	86.1	60	4.02E-03	2.87	2.3	92.4	55.3	3.37E-03	3.4	2
H4H25641P	79.5	29.9	2.04E-02	0.57	1.1	65.4	24.8	1.33E-02	0.9	0.7
H4H25703N	145.5	79.9	3.26E-03	3.54	1.5	148.6	73	2.80E-03	4.1	1.3
H4H25708N	68.2	31.1	1.57E-03	7.37	0.6	51.4	25.9	1.29E-03	8.9	0.5
H4H25704N	59.2	52.4	1.07E-03	10.77	0.9	65.8	49.4	9.59E-04	12	0.8
H4H25710N	81	20	1.81E-01	0.06	33.4	65.9	11.5	3.39E-01	0.03	62.6

[0326] IC＝非决定性

[0327] NB 无结合

[0328] 结果及概述

[0329] 在37℃下，在pH 7.4、6.0、5.5和5.0下研究pH对ZIKV.mmH从抗ZIKV抗体解离(kd和t1/2)的影响。本发明的抗ZIKV抗体H4H25710N、H4H25602P和H4H25598P显示解离存在最高的pH依赖性变化。抗ZIKV抗体H4H25566P显示解离存在中等pH依赖性变化，而剩余ZIKV抗体未显示解离存在显著的pH依赖性变化。

[0330] B.在25℃及37℃下的结合亲和力和动力学

[0331] 使用实时表面等离子体共振生物传感器分析，在Biacore 4000仪器上确定ZIKV(prM80E)-mmH蛋白结合到纯化抗ZIKV单克隆抗体的平衡解离常数(K_D值)。通过胺与多株山羊抗人类Fc抗体(Jackson Laboratories，#BR-109005-098)的偶联来获得Biacore传感器表面以捕捉与人类恒定区一起表达的抗ZIKV抗体。在HBS-P电泳缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、0.05％v/v表面活性剂P20)中执行Biacore结合研究。内部制备具有C端myc-myc-六组氨酸标签(mmH)的ZIKV(prM80E)蛋白，且因此称为ZIKV-mmH(参见SEQ ID NO：354)。将不同浓度(3倍稀释)的ZIKV-mmH(在30nM至0.37nM范围内)(在HBS-P电泳缓冲液中制备)在30μL/min的流速下注射在抗ZIKV抗体捕捉表面上。监测ZIKV-mmH对每种捕捉单克

隆抗体的缔合持续3分钟，且在HBS-P电泳缓冲液中监测解离8分钟。在25℃或37℃下执行所有结合动力学实验。通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件，将实时感测图与1:1结合模型拟合来确定动力学缔合(k_a)和解离(k_d)速率常数。利用动力学速率常数如下计算结合解离平衡常数(K_D)和解离半衰期(t1/2)：

[0332] $$K_D\ (M) = \frac{kd}{ka} / k_a, \text{和} t½\ (min) = \frac{ln(2)}{60 * kd}$$

[0333] ZIKV-mmH在25℃和37℃下结合到抗ZIKV抗体的结合动力学参数显示于表5和6中。

[0334] 表5:抗ZIKV单克隆抗体在25℃下结合到ZIKV(prM80E)-mmH的结合动力学参数。

[0335]

抗体	捕捉抗体的量（RU）	所结合的30 nM ZIKV-mmH（RU）	k_a（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）	t½（min）
H4H25566P	218.4±0.9	49.5	5.90E+05	1.63E-02	2.77E-08	0.7
H4H25587P	151.2±2.1	68.8	8.22E+05	4.22E-03	5.13E-09	2.7

[0336]

H4H25591P	291.6±5.1	103.6	6.49E+05	3.18E-03	4.90E-09	3.6
H4H25592P	263.4±3.2	123.3	1.35E+06	6.76E-04	5.02E-10	17.1
H4H25598P	206.8±1.7	64.7	2.89E+05	4.49E-05	1.56E-10	257.3
H4H25602P	218.4±4.8	68.8	2.86E+05	1.95E-05	7.00E-11	592.0
H4H25617P	144.6±2.3	41.6	2.50E+05	1.97E-03	7.90E-09	5.9
H4H25619P	202.5±3.2	39.3	1.64E+05	5.16E-04	3.14E-09	22.4
H4H25622P	186.0±2.7	32.5	2.51E+05	1.33E-03	5.31E-09	8.7
H4H25626P	354.7±6.3	55.1	1.47E+05	9.05E-04	6.17E-09	12.8
H4H25630P	252.6±2.8	140.7	1.67E+06	3.50E-04	2.10E-10	33.0
H4H25633P	258.4±3.1	76.1	4.11E+05	8.02E-04	1.95E-09	14.4
H4H25634P	142.2±2.0	54.7	6.47E+05	5.44E-03	8.41E-09	2.1
H4H25637P	331.7±3.3	126.8	6.17E+05	3.91E-03	6.33E-09	3.0
H4H25640P	291.7±7.7	129.3	1.21E+06	7.22E-04	5.97E-10	16.0
H4H25641P	189.5±3.1	57.8	1.05E+06	9.22E-03	8.75E-09	1.3
H4H25703N	390.8±6.6	169.1	5.66E+05	3.07E-04	5.42E-10	37.6
H4H25708N	176.3±1.6	56.0	4.17E+05	5.04E-04	1.21E-09	22.9
H4H25704N	222.0±3.6	110.0	1.33E+06	3.59E-04	2.70E-10	32.2
H4H25710N	186.4±1.1	48.4	2.99E+05	2.09E-03	6.99E-09	5.5

[0337] 表6:抗ZIKV单克隆抗体在37℃下结合到ZIKV(prM80E)-mmH的结合动力学参数。

[0338]

抗体	捕捉抗体的量（RU）	所结合的30 nM ZIKV-mmH（RU）	k_a（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）	t½（min）
H4H25566P	178.0±9.6	20.8	6.87E+05	3.60E-02	5.25E-08	0.3
H4H25587P	100.1±7.9	51.3	1.10E+06	1.45E-02	1.32E-08	0.8
H4H25591P	271.8±11.8	112.0	8.16E+05	6.82E-03	8.37E-09	1.7
H4H25592P	216.4±10.9	120.0	1.61E+06	1.65E-03	1.02E-09	7.0
H4H25598P	168.9±9.9	75.3	4.06E+05	2.84E-04	7.00E-10	40.7
H4H25602P	193.0±10.6	83.7	3.81E+05	2.84E-04	7.45E-10	40.6
H4H25617P	112.1±7.1	34.3	4.52E+05	7.29E-03	1.61E-08	1.6
H4H25619P	166.3±9.6	44.3	1.93E+05	1.08E-03	5.59E-09	10.7
H4H25622P	120.3±3.5	30.1	2.95E+05	2.67E-03	9.07E-09	4.3
H4H25626P	237.2±6.5	61.5	3.03E+05	1.87E-03	6.18E-09	6.2
H4H25630P	164.6±4.6	102.5	1.98E+06	2.29E-03	1.16E-09	5.1
H4H25633P	152.1±4.4	53.4	6.78E+05	5.01E-03	7.39E-09	2.3
H4H25634P	87.3±2.5	36.8	8.66E+05	1.01E-02	1.17E-08	1.1
H4H25637P	240.5±5.5	93.7	9.92E+05	9.89E-03	9.97E-09	1.2
H4H25640P	221.8±7.9	109.6	1.47E+06	1.86E-03	1.27E-09	6.2
H4H25641P	142.2±4.0	45.6	1.59E+06	1.88E-02	1.19E-08	0.6
H4H25703N	267.5±6.8	134.8	7.38E+05	1.77E-03	2.39E-09	6.5

[0339]

H4H25708N	93.9±2.3	47.7	7.81E+05	2.32E-03	2.97E-09	5.0
H4H25704N	142.5±2.6	83.3	1.93E+06	1.20E-03	6.21E-10	9.6
H4H25710N	119.2±2.1	36.2	5.19E+05	6.40E-03	1.24E-08	1.8

[0340] 结果及概述

[0341] 在25℃下，本发明的所有20种抗兹卡抗体均结合到ZIKV-.mmH，其中K_D值在70pM至27.7nM范围内(表5)。在37℃下，本发明的抗ZIKV抗体结合到ZIKV-mmH，其中K_D值在621pM至52.5nM范围内(表6)。正如所预期，阴性同型对照显示无结合(数据未显示)。

[0342] 实例5：以特异性针对ZIKV E的抗体中和ZIKV

[0343] 在感染ZIKV之前1天，将Vero细胞(非洲绿猴肾-ATCC®CCL81)在含有10％热灭活FBS和青霉素/链霉素/L-谷酰胺的MEM-α完全培养基中，以每孔10,000个细胞接种于具有透明底部的Corning黑色96孔细胞培养盘中。

[0344] 用于感染Vero细胞的ZIKV株为MR766(1947年从乌干达的警哨恒河猴单离，登录#AY632535)、FLR(2015年12月从哥伦比亚的人中单离，登录#KU820897)，和PRVABC59(2015年12月从波多黎各的人中单离，登录#KU501215)。

[0345] 在中和/感染当天，将测试抗体在含有2％热灭活FBS、青霉素/链霉素/L-谷酰胺的DMEM中稀释至2X浓度，且在37℃下与ZIKV 1:1混合30分钟。

[0346] 从所接种的Vero细胞去除培养基，随后在37℃下、在每15分钟轻轻地搅拌分析盘的情况下，与抗体和病毒1:1混合物一起培育1小时。去除经抗体处理的病毒接种物，且将细胞用100uL含有1％热灭活FBS、青霉素/链霉素/L-谷酰胺和1％甲基纤维素的DMEM覆盖，且在37℃、5％CO2下培育隔夜(12-16小时)。

[0347] 第二天，从细胞吸去覆盖培养基，用PBS洗涤两次，随后在4℃下用冰冷的1:1丙酮和甲醇混合物固定30分钟。固定的细胞用PBS洗涤两次，随后在室温下用含有0.1％Triton-X和5％FBS的PBS渗透15分钟。将细胞用单独PBS洗涤一次，接着在室温下用含有5％FBS的PBS培育30分钟以阻断非特异性结合。细胞随后在室温下与在含有5％FBS和0.1％吐温-20的PBS中按照1:10,000稀释的多株抗体(兹卡小鼠免疫腹水，其得自UTMB)培育1小时。将细胞用300uL PBS、使用Molecular Devices AquaMax 4000盘洗涤器洗涤6次，随后在室温下、在黑暗中与二级抗体(Life Technologies Alexa-488结合山羊-抗小鼠IgG)一起培育1小时。将细胞在盘洗涤器上洗涤6次，且在分析之前添加100uL PBS。使用具有Mini Max盘读取器的SpectraMax，通过对每个孔成像且使用对不同荧光焦点计数的设定来完成分析。

[0348] 中和％计算如下：

[0349]
$$\text{中和\%} = \frac{\text{每种 mAb 浓度下的感染细胞数 - 分析背景}}{\text{单独病毒对照组的感染细胞数 - 分析背景}}$$

[0350] 使用非线性回归(4参数逻辑)，利用Prism 5软件(GraphPad Software公司)分析用中和％表示的结果以获得IC_{50}值。结果显示于下表7和8中。

[0351] 结果概述及结论：

[0352] 下表7和8中所示的数据表明，使用本文中所述的实验设计，20种本发明抗ZIKV病毒抗体中有18种以约10^{-11}M至约10^{-9}M范围内的IC_{50}有效地中和ZIKV株MR766、PRVABC59(波多黎各2015)和FLP(哥伦比亚2015)的感染性。正如所预期，阴性同型对照显示无中和(数据未显示)。

[0353] 表7

[0354]

Ab PID	MR766 乌干达 1947 IC50（M）	PRVABC59 波多黎各 2015 IC50（M）	FLR 哥伦比亚 2015 IC50（M）
H4H25587P	1.50E-10	3.21E-10	9.55E-10
H4H25598P	5.45E-11	3.98E-10	5.53E-10
H4H25602P	5.31E-11	5.01E-10	6.30E-10
H4H25630P	1.47E-10	5.39E-10	2.83E-10
H4H25633P	1.02E-10	6.52E-10	4.40E-10

[0355]

H4H25710N	4.71E-11	1.24E-09	1.06E-09
H4H25591P	3.43E-11	2.54E-10	3.30E-10
H4H25592P	4.26E-11	2.18E-10	5.53E-10
H4H25634P	1.39E-10	1.45E-10	2.07E-10
H4H25637P	6.71E-11	2.39E-10	1.34E-10
H4H25640P	2.79E-11	1.66E-10	9.90E-11
H4H25641P	3.71E-11	3.56E-10	2.12E-10
H4H25703N	4.45E-11	2.51E-10	6.19E-11
H4H25704N	4.60E-11	2.78E-10	7.58E-11
H4H25617P	1.66E-10	5.43E-10	5.52E-10
H4H25566P	部分中和	部分 中和	1.55E-09
H4H25619P	1.71E-10	1.14E-09	1.26E-09
H4H25622P	1.88E-10	1.28E-09	1.58E-09
H4H25626P	1.59E-10	1.17E-09	1.09E-09
H4H25708N	3.49E-10	无中和	无中和

[0356] 表8：

[0357]

Ab PID	MR766 IC50（M）
H2aM25703N	约 2.095e-011
H2aM25708N	1.07E-10
H2aM25710N	1.70E-11
H2aM25704N	2.21E-10

[0358] 实例6:Octet交叉竞争分析

[0359] 为了评估两种抗体是否彼此竞争结合到其在ZIKV(prM80E)-mmH(据此称为ZIKV.mmH(SEQ ID NO:354))上的表位,使用实时无标记生物层干涉分析,在Octet RED384生物传感器(Pall ForteBio公司)上确定抗ZIKV单克隆抗体之间的结合竞争。在25℃下,于0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、0.05％v/v表面活性剂吐温-20、0.1mg/mL BSA(HBS-P缓冲液)中,在以1000rpm速度振荡的盘情况下执行交叉竞争实验。所测试的所有抗ZIKV抗体和ZIKV-mmH溶液均在Octet HBS-P缓冲液中制备。为了评估两种抗体是否能够彼此竞争结合到其在ZIKV-mmH上的相应表位,首先在抗His涂布的Octet生物传感器尖端上,从含有10μg/mL ZIKV-mmH的孔捕捉大致约0.97-0.112nm ZIKV-mmH持续90秒。将捕捉到ZIKV-mmH的Octet生物传感器尖端通过在含有20ug/ml第一抗ZIKV单克隆抗体(据此称为mAb-1)的孔中浸没5分钟,接着浸没于含有第二抗ZIKV单克隆抗体(据此称为mAb-2)的孔中来饱和。各步骤之间,将Octet生物传感器尖端于HBS-P缓冲液中洗涤30秒。

[0360] 在实验过程期间监测实时结合反应,且记录每个步骤结束时的结合反应。将ZIKV-mmH结合到mAb-1且随后阻断mAb的反应针对背景结合来校正,比较,且确定不同抗ZIKV单克隆抗体的竞争性/非竞争性行为。

[0361] 表9在两个方向上明确地定义抗体竞争的关系,与结合次序无关。两种抗ZIKV单克隆抗体H4H25619P和H4H25703N不与本发明中所述的剩余抗体竞争。

[0362] 表9:抗ZIKV抗体交叉竞争结合到ZIKV-mmH。

[0363]

mAb-1	mAb-2
H4H25710N	H4H25633P
	H4H25602P
	H4H25598P
	H4H25630P
	H4H25587P
H4H25633P	H4H25710N
	H4H25602P
	H4H25598P
	H4H25630P
	H4H25587P
H4H25602P	H4H25710N
	H4H25633P
	H4H25598P
	H4H25630P
	H4H25587P
H4H25598P	H4H25710N
	H4H25633P
	H4H25602P
	H4H25630P
	H4H25587P
H4H25630P	H4H25710N
	H4H25633P
	H4H25602P

[0364]

	H4H25598P
	H4H25587P
H4H25587P	H4H25710N
	H4H25633P
	H4H25602P
	H4H25598P
	H4H25630P
H4H25634P	H4H25641P
	H4H25703N
	H4H25592P
	H4H25591P
	H4H25704N
	H4H25640P
	H4H25637P
	H4H25617P
H4H25641P	H4H25634P
	H4H25703N
	H4H25592P
	H4H25591P
	H4H25704N
	H4H25640P
	H4H25637P
	H4H25617P
H4H25703N	H4H25634P
	H4H25641P
	H4H25592P
	H4H25591P
	H4H25704N
	H4H25640P
	H4H25637P
	H4H25617P
H4H25592P	H4H25634P
	H4H25641P
	H4H25703N
	H4H25591P
	H4H25704N
	H4H25640P
	H4H25637P
	H4H25617P
H4H25591P	H4H25634P
	H4H25641P
	H4H25703N
	H4H25592P
	H4H25704N
	H4H25640P
	H4H25637P

[0365]

	H4H25617P
H4H25704N	H4H25634P
	H4H25641P
	H4H25703N
	H4H25592P
	H4H25591P
	H4H25640P
	H4H25637P
	H4H25617P
H4H25640P	H4H25634P
	H4H25641P
	H4H25703N
	H4H25592P
	H4H25591P
	H4H25704N
	H4H25637P
	H4H25617P
H4H25637P	H4H25634P
	H4H25641P
	H4H25703N
	H4H25592P
	H4H25591P
	H4H25704N
	H4H25640P
	H4H25617P
H4H25617P	H4H25634P
	H4H25641P
	H4H25703N
	H4H25592P
	H4H25591P
	H4H25704N
	H4H25640P
	H4H25637P
H4H25619P	H4H25622P
	H4H25626P
	H4H25566P
H4H25622P	H4H25619P
	H4H25626P
	H4H25566P
H4H25626P	H4H25619P
	H4H25622P
	H4H25566P
H4H25566P	H4H25619P
	H4H25622P
	H4H25526P

[0366] 实例7-使用免疫荧光分析测量抗体依赖性增强(ADE)

[0367] 使用免疫荧光分析(下文描述)进行实验以确定ZIKV抗体对抗体依赖性增强(ADE)的影响。

[0368] 在一个实施例中，使用GenBank登录号KJ438784(κ轻链)和KJ438785.1(重链)中所见的重链和轻链序列制备与所有黄病毒交叉反应的嵌合抗体。制备三种抗体，命名为REGN4203(hIgG1)、REGN4204(hIgG4s)，和REGN4206(hIgG4us)。REGN4203具有SEQ ID NO:359中所示的重链(HC)和SEQ ID NO:360中所示的轻链(LC)。REGN4204具有SEQ ID NO:361中所示的重链(HC)和SEQ ID NO:362中所示的轻链(LC)，且REGN4206具有SEQ ID NO:363中所示的重链(HC)和SEQ ID NO:364中所示的轻链(LC)。

[0369] 在另一实验中，使用相同的免疫荧光分析测试两种抗兹卡病毒抗体(命名为H4H25703N(HCVR/LCVR氨基酸序列对EQ ID NO:258/266)和H4H25619P(HCVR/LCVR氨基酸序列对SEQ ID NO:114/122))对ADE的影响。每种抗兹卡病毒(H4H25703N和H4H25619P)制备成具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:356的Fc的IgG1，或具有包含SEQ ID NO:357中所示的氨基酸序列的Fc的IgG4。H4H25703N重链(HC)的全长氨基酸序列显示为SEQ ID NO:367，且H4H25703N轻链(LC)的全长氨基酸序列显示为SEQ ID NO:368。H4H25619P重链(HC)的全长氨基酸序列显示为SEQ ID NO:370，且H4H25619P轻链(LC)的全长氨基酸序列显示为SEQ ID NO:371。

[0370] 将抗体在RPMI+10％FBS、1X青霉素/链霉素/谷酰胺中稀释至2X以达成50、10、2、0.4和0.08ug/mL的最终浓度。随后在37℃、5％CO_2下将100uL各抗体与含有2500ffu(荧光焦点单位)病毒的RPMI完全培养基1:1混合30分钟。随后将含80,000个K562细胞的300uL RPMI完全培养基添加至抗体/病毒混合物中，且在37℃、5％CO_2下培育3天。在注射后1及2天，去除100uL上清液，且冷冻至-80℃。第3天，收集剩余上清液并冷冻至-80℃。

[0371] 为了检测上清液的病毒负荷，按照10,000个细胞/孔将Vero细胞在含有10％FBS、1X青霉素/链霉素/谷酰胺的MEM-α中接种于黑色/透明底部96孔细胞培养盘中。在37℃、5％CO_2下培育细胞隔夜。在注射当天，将如上所得的上清液样品稀释于RPMI完全培养基中。将50uL各稀释液添加至Vero细胞中，且在37℃、5％CO_2下，在每15分钟轻轻地搅拌盘的情况下培育1小时。从细胞去除接种物，且用100uL DMEM+1％FBS、1X青霉素/链霉素/谷酰胺、1％甲基纤维素覆盖细胞，且在37℃、5％CO_2下培育隔夜。

[0372] 如上文在实例5中所述，通过免疫荧光分析定量感染细胞。

[0373] 结果

[0374] 如图1中所示，REGN4203显示当抗体浓度从10^{-10}M增加至10^{-7}M时，如根据病毒产量增加所示，ADE增加。REGN4204显示当抗体浓度从10^{-10}M增加至10^{-7}M时，病毒产量出现中等增加。然而，当抗体浓度从10^{-10}M增加至10^{-7}M时，REGN4206对ADE无作用，如根据其病毒产量未能增加所示。实际上，REGN4206显示相较于单独病毒对照无差异。

[0375] 如图6和7中所示，不同于其IgG1型，抗ZIKV抗体当制备成具有包含SEQ ID NO:357中所示的氨基酸序列的Fc的IgG4时，不诱导ADE活性。

[0376] 实例8.抗ZIKV抗体保护ZIKV感染小鼠的作用

[0377] 进行研究以确定抗ZIKV抗体在ZIKV感染小鼠模型中的作用。

[0378] 简言之，在感染前的一天，将两种抗ZIKV抗体(命名为H4H25703N和H4H25619P)稀释于PBS中以达成200、50或12.5μg/200μL剂量的最终浓度。一天之后，干扰素α/β受体1(IFNAR1)KO小鼠通过皮下注射至松散背颈区域中来给与抗体。在感染当天，将ZIKV株FSS13025稀释于含有2％热灭活胎牛血清与1X青霉素/链霉素/谷酰胺的DMEM培养基中达

10^5ffu/200μL剂量。小鼠通过腹膜内注射来给与病毒。在整个实验过程中监测小鼠的重量减轻，长达感染后21天。将体重减小低于80％临限值或经历极端病态(颤抖、虚弱，和无响应)的动物安乐死。安乐死的那些动物显示死亡日期为安乐死后一天(例如，感染后6天剔除的动物表示为存活直至第7天)。

[0379] 结果

[0380] 如图2-5中所示，结果表明接受同型对照抗体的所有小鼠截至感染之后第9天损失大于20％的体重，且根据IACUC准则必须处死。接受H4H25703抗ZIKV抗体(图2)或H4H25619P抗ZIKV抗体(图3)的小鼠能够较好地控制其体重损失长达感染后21天；200ug及50ug组中没有小鼠且12.5ug组中40％小鼠显示超过20％临限值的体重损失。用H4H25703N(图4)或H4H25619(图5)预治疗小鼠也提高其存活率；用200ug或50ug任一抗体治疗的100％小鼠或用12.5ug每种抗体治疗的60％小鼠幸免于ZIKV攻击。

[0381] 实例9.试管内产生ZIKV逃逸突变体以确定H4H25703N和H4H25619P的结合位点

[0382] 在每种抗体的IC50、IC75、IC85、IC99、IC99和IC99.99下，将$4x10^5$ffu MR766 ZIKV与递增浓度的H4H25703N或H4H25619P(或同型对照抗体)组合，如利用在GraphPad Prism中作图时根据IC50和中和曲线分析的希尔斜率所计算(log(抑制剂)相对于反应-可变斜率(四参数))。计算可如下完成，其中f＝所期望的分率(对于IC85，f＝85)且H＝希尔斜率：

[0383] $$IC_f = \left(\frac{F}{100-F}\right)^{1/H}$$

[0384] 将病毒与抗体一起在37℃下培育30分钟，之后添加至$2x10^5$个Vero细胞*中，所述细胞在感染前一天已接种于24孔盘中。将细胞在37℃、5％CO2下培育，且每天检查其细胞病变效应。一旦细胞病变效应在同型对照抗体处理孔中为明显的，则从H4H25703N和H4H25619P处理的细胞收集病毒上清液，且通过离心清除碎屑。随后将具有最高抗体浓度、其中发现细胞病变效应的病毒上清液与新鲜抗体一起培育，且传递至预接种的新鲜细胞上，且在37℃、5％CO2下再培育直至细胞病变效应明显。重复此循环直至在最高抗体浓度(IC99.99)下发现细胞病变效应。从IC99.99孔中收集病毒上清液，且传递至预接种有$6X10^6$个Vero细胞的T25瓶。一旦在这些细胞上可见细胞病变效应，则收集病毒，通过离心清除，且用于中和分析，以验证其逃逸，且还确定病毒是否仍能够被第二抗体中和。还将得自此病毒扩增的感染细胞收集至1mL Trizol中以供病毒的RNA单离和序列分析。

[0385] 中和分析＊＊

[0386] 为了确认在H4H25703N和H4H25619P的压力下所产生的逃逸突变体是否对中和具有抗性，在Vero细胞中执行中和分析。简言之，为了完成中和，将病毒与递减浓度的H4H25703N、H4H25619P或同型对照抗体在从10ug/mL按三倍稀释至200pg/mL的浓度下组合以实现11点曲线。将病毒和抗体一起在37℃下培育30分钟，之后添加至预接种于黑色透明底96孔细胞培养盘中的10,000个Vero细胞上。将细胞用病毒/抗体混合物培育1小时，其中在整个培育过程中定期轻轻搅拌。在培育之后，去除接种物，且用含有1％甲基纤维素的DMEM覆盖细胞，且在37℃、5％CO2下培育隔夜。从细胞吸去甲基纤维素覆盖物，随后用PBS洗涤两次，且在4C下用冰冷的1:1丙酮与甲醇混合物固定30分钟。将固定细胞用PBS洗涤两次，随后在室温下用含有5％FBS和0.1％Triton-X的PBS渗透15分钟。用PBS洗涤细胞，随后在室温下用含有5％FBS的PBS培育以阻断非特异性结合30分钟。随后将细胞与一级抗体(多株免

疫小鼠腹水)一起在PBS+5%FBS和0.1%吐温-20中按照1:10,000稀释度、在室温下培育1小时。使用Molecular Devices AquaMax 4000盘洗涤器,用PBS洗涤细胞6次,随后与1ug/mL的二级抗体(Alexa-488结合的山羊-抗小鼠IgG)一起在PBS+5%FBS和0.1%吐温-20中、在室温下、在黑暗中培育1小时。将细胞在盘洗涤器上洗涤6次,且留在100uL PBS中用于在具有MiniMax盘读取器的Spectramax上分析以对荧光焦点计数。如下计算中和百分比且在GraphPad Prism中按照非线性回归作图(log(抑制剂)相对于反应-可变斜率(四参数)):

[0387] 中和%=(1-((孔值-单独培养基对照)/(单独病毒对照-单独培养基对照)))*100

[0388] 一旦确认了中和,则根据制造商的方案,使用Trizol(Life Technologies),利用病毒扩增,从感染细胞中单离出RNA。使用Life Technologies SuperScript III第一股合成系统,将所得RNA用于cDNA合成。将此cDNA用作PCR的模板以使用以下参数扩增兹卡E序列:

[0389]

引物:MR766 PCR Fwd: TGGGTTGTGTACGGAACCTG(SEQ ID NO: 379) MR766 PCR Rev: GGCACTGGCAATCTTTGTGG(SEQ ID NO: 380)
1 uL cDNA
1 uL 每种引物(100 uM)
4 uL 10% DMSO
33 uL AccuPrime Pfx Supermix
循环:95C 持续 5 分钟
3 个循环: 95C 持续 15 秒 54C 持续 15 秒 72C 持续 2 分钟
35 个循环: 95C 持续 15 秒 56C 持续 15 秒 72C 持续 2 分钟
*Vero 细胞培养且接种于含有 10%热灭活 FBS 和青霉素/链霉素/L-谷酰胺的 DMEM 高葡萄糖培养基中
**中和反应和病毒生长是在含有 2%热灭活 FBS 和青霉素/链霉素/L-谷酰胺的 DMEM 高葡萄糖培养基中完成
***甲基纤维素覆盖物含有具有 1%热灭活 FBS、青霉素/链霉素/L-谷酰胺,和 1%甲基纤维素的 1X DMEM

[0390] 将所得PCR产物(预期大小:2113bp)在120V下、在含有1X Sybr Safe DNA株(Life Technologies)的1%琼脂糖TBE凝胶上电泳1小时。切去扩增子且使用Qiagen QiaQuick凝胶提取试剂盒(Qiagen QiaQuick Gel Extraction Kit)根据制造商说明书提纯。所得纯化产物使用Sanger方法使用以下引物定序:

[0391]

MR766 seq1:TGATACTGCTGATTGCCCCG(SEQ ID NO:381)
MR766 seq2:AACACAAGGTGAAGCCTAC(SEQ ID NO:382)
MR766 seq3:AAGAGGCAAACCGTCGTCGTTC(SEQ ID NO:383)
MR766 seq4:CCCGTGATTACTGAAAGCAC(SEQ ID NO:384)
MR766 seq5:GTTCAACTCACTGGGTAAGG(SEQ ID NO:385)

[0392] 对序列进行分析并组装以构成完全兹卡E序列。

[0393] 序列组件的转译揭露了逃逸突变。

[0394] 结果

[0395] 序列分析确认,H4H25703N的逃逸突变发现于兹卡病毒E蛋白质位置302(SEQ ID NO:376;S302E)。H4H25619P的逃逸突变发现于兹卡病毒E蛋白质氨基酸位置311和369(SEQ ID NO:376;分别是T311I和K369E)。显示H4H25703N的E蛋白逃逸突变(S302F)的氨基酸序列显示为SEQ ID NO:377。显示H4H25619P的E蛋白逃逸突变(T311I和K369E)的氨基酸序列显示为SEQ ID NO:378。得自这些研究的数据表明ZIKV E蛋白上的H4H25703N和H4H25619P结合位点可在病毒中和时起主要作用。此外,图8A和8B中所示的结果证明,尽管一种抗体可能由于E蛋白中的突变而不中和ZIKV,但第二抗体能够中和E蛋白中含有突变的所述病毒,从而为抗体混合物的使用提供支持。

[0396] 实例10.抗ZIKV抗体组合对ZIKV感染小鼠的保护作用

[0397] 进行研究以确定抗ZIKV抗体当单独或以组合形式使用时在ZIKV感染小鼠模型中的作用。

[0398] 接收6-8周龄的干扰素α/β受体1(IFNAR1)KO小鼠,且皮下注射含有阴性同型对照抗体或抗ZIKV抗体的200μL PBS,以实现每只小鼠200、50或12.5μg抗体的最终剂量。将两种抗体组合时,每种抗体按照100、25或6.25μg的剂量给与,使得两种抗体在组合时的总剂量为200、50或12.5μg。治疗后一天,将小鼠通过腹膜内注射稀释于DMEM+2%FBS、1X青霉素/链霉素/谷酰胺(PSG)中的105ffu兹卡病毒株FSS13025来感染。监测动物的体重损失或极端疾病长达3周。如果动物降至低于80%初始体重的体重临限值或展现极端疾病,则将其安乐死(根据震颤或无响应来认定,在实验中监测患有后肢麻痹动物的恢复)。

[0399] 结果

[0400] 结果表明,接受同型对照抗体的所有小鼠截至感染之后第9天出现大于20%的体重损失,且根据IACUC准则必须处死。以200ug或50ug剂量的H4H25703N或H4H25619预治疗小鼠引起100%存活。以12.5ug H4H25703治疗的小鼠中60%幸免于ZIKV攻击。以12.5ug H4H25619治疗的小鼠中75%幸免于ZIKV攻击。两种抗体按照200ug(每种抗体100ug)或50ug(每种抗体25ug)的总剂量预治疗小鼠引起100%存活。在12.5ug(每种抗体6.25ug)的总剂量下预治疗小鼠也引起100%存活。这些结果表明,较低剂量的各抗体可以组合使用以达成较大功效,如与每种抗体单独使用时所达到的功效相比。结果示于下表10中。

[0401] 表10

[0402]

抗体标识号	存活%		
	所用 Ab 的最终剂量(ug)		
	200	50	12.5
H4H25703	100%	100%	60%
H4H25619	100%	100%	75%
H4H25703 + H4H25619	100%	100%	100%

序 列 表

<110> 瑞泽恩制药公司（Regeneron Pharmaceuticals, Inc.）
<120> 抗兹卡病毒抗体和使用方法
<130> 10278W001
<150> 62/363,546
<151> 2016-07-18
<150> 62/474,753
<151> 2017-03-22
<160> 375
<170> FastSEQ for Windows 版本 4.0

1
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 1

[0001]

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120
cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcacctac 180
tacaacccgt ccctcaagag tcgaattacc atatcaatag acacgtctaa gaaccagttc 240
tccctgaagc tgacctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtactactg tgcgaggggg 300
caacagctgc tttcctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

2
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 2

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

Cys Ala Arg Gly Gln Gln Leu Leu Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

3
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 3
ggtggctcca tcagcagtgg tggttactac 30

4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 4
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr
[0002] 1 5 10

5
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 5
atctattaca gtgggagcac c 21

6
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 6
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

7
<211> 33

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 7
gcgaggggggc aacagctgct ttcctttgac tac 33

8
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 8
Ala Arg Gly Gln Gln Leu Leu Ser Phe Asp Tyr
1 5 10

9
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
[0003] <223> 合成
<400> 9
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacctgtc gggcgagtca gggaattagc aggtggttag cctggtatca gctgaaacca 120
gggaaacccc ctacgccccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggccccatca 180
aggttcagcg gcaggggggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Leu Lys Pro Gly Lys Pro Pro Thr Pro Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

11
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 11
cagggaatta gcaggtgg 18

12
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0004] <223> 合成
<400> 12
Gln Gly Ile Ser Arg Trp
1 5

13
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 13
gctgcatcc 9

14
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 14
Ala Ala Ser
1

15

<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 15
caacaggcta acagtttccc gtacact 27

16

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 16
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

17

<211> 363
<212> DNA
[0005] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 17
gaagtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgacactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgtca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtgatac cattgactat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagatagg 300
cgcagctggt acggagggta ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

18

<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 18
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

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

19

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 19
ggattcacct ttgatgatta tgtc 24

[0006]

20

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 20
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Val
1 5

21

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 21
attagttgga atagtgatac catt 24

22

<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 22
Ile Ser Trp Asn Ser Asp Thr Ile
1 5

23
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 23
gcaaaagata ggcgcagctg gtacggaggg tactttgact ac 42

24
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
[0007] <400> 24
Ala Lys Asp Arg Arg Ser Trp Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

25
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 25
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc agttatttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagttc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttctctctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

26
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成
<400> 26
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

27
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
[0008] <223> 合成
<400> 27
cagggcatta gcagttat 18

28
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 28
Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
1 5

29
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 29
gctgcatcc 9

30

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 30

Ala Ala Ser

1

31

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 31

caaaagtata acagtgcccc gctcact 27

32

<211> 9

<212> PRT

[0009] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 32

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Leu Thr

1 5

33

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 33

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt tattctggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaattaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag acctgaggac acggctgttt attactgtgc gaaagatagg 300

ggtggaaggt tcgacccctg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

34

<211> 117

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 34

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

[0010] 35
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 35

```
ggattcacct tcagttattc tggc                                          24
```

36
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 36

```
Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Gly
 1               5
```

37
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
<400> 37
atatcatatg atggaattaa taaa 24

38
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 38
Ile Ser Tyr Asp Gly Ile Asn Lys
1 5

39
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 39
[0011] gcgaaagata ggggtggaag gttcgacccc 30

40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 40
Ala Lys Asp Arg Gly Gly Arg Phe Asp Pro
1 5 10

41
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 41
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagttc ctaacctcct gatctatggt gcatccactt tgcattcagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gcagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccactcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

42
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 42

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

[0012]

```
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

43
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 43
cagggcatta gcaattat 18

44
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 44

```
Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 1               5
```

45

<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 45
ggtgcatcc 9

46
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 46
Gly Ala Ser
1

47
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
[0013] <220>
<223> 合成
<400> 47
caaaagtata acagtgcccc actcact 27

48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 48
Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Leu Thr
1 5

49
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 49
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt tactctggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaacaa cattctatat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagattgg 300
ggtggaaggt tcgacccctg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

50
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 50

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn Asn Ile Leu Tyr
[0014] 65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Trp Gly Gly Arg Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

51
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 51
ggattcacct tcagttactc tggc 24

52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 52
Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser Gly
1 5

53
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 53
atatcatatg atggaagtaa taaa 24

54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 54
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

[0015]

55
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 55
gcgaaagatt ggggtggaag gttcgacccc 30

56
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 56
Ala Lys Asp Trp Gly Gly Arg Phe Asp Pro
1 5 10

57
<211> 321
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 57
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc agttatttag cctggtatca gcagatacca 120
gggaaagttc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcattcagg agtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggctc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gcagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

58
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 58
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
[0016] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Ala Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

59
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 59
cagggcatta gcagttat 18

60
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 60
Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
1 5

61
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 61
gctgcatcc 9

62
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0017] <223> 合成
<400> 62
Ala Ala Ser
1

63
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 63
caaaagtata acagtgcccc gctcact 27

64
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 64
Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Leu Thr
1 5

65

<211> 369

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 65

gaggtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc cgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt agcaactaca tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggagcg ggctggagtg ggtctcagtc atatatagcg gtggtatcac acactatata 180

ggctccgtga agggccgatt caccatctcc agacacaatt ccaagaacac gctgtatctt 240

caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gccatgtact actgtgcgcg ggaacggtac 300

tccggtataa ctggaaaccc gtatggtttt gatttttggg gccaagggac aatggtcacc 360

gtctcttca 369

66

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 66

[0018]

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

67

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 67
gggttcaccg tcagtagcaa ctac 24

68
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 68
Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr
1 5

69
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 69
atatatagcg gtggtatcac a 21

[0019] 70
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 70
Ile Tyr Ser Gly Gly Ile Thr
1 5

71
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 71
gcgcgggaac ggtactccgg tataactgga aacccgtatg gttttgattt t 51

72
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
<400> 72
Ala Arg Glu Arg Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Asn Pro Tyr Gly Phe Asp
1 5 10 15
Phe

73
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 73
gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgct gggccagtca ggacattagc agttatttag cctggtatca gcaaaaacca 120
gggatagccc ctaaactcct gatctattct gcatccactt tgcaaagtgg agtcccatca 180
agtttcagcg gcagtggatc tgggaccgaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag cttaatattt acccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

[0020] 74
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 74
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ile Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Ser Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ile Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

75

<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 75
caggacatta gcagttat 18

76
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 76
Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
1 5

77
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
[0021] <220>
<223> 合成
<400> 77
tctgcatcc 9

78
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 78
Ser Ala Ser
1

79
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 79
caacagctta atatttaccc attcact 27

80

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 80
Gln Gln Leu Asn Ile Tyr Pro Phe Thr
1 5

81

<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 81

[0022]

gaggtgcagc tggtggagtc tggaggaggt ttggtccagc cgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt agcaactaca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggagcg ggctggagtg ggtctcagtt atttatagcg gtggtatcac acactatgta 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacacaatt ccaagaacac gctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gccatgtatt actgtgcgcg ggaacggtac 300
tccggtataa ctggaaaccc ttatggtttt gatatttggg gccaagggac aatggtcacc 360
gtctcttca 369

82

<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 82
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Ser Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ile Thr His Tyr Val Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Arg Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Asn Pro Tyr Gly Phe Asp Ile
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

83
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 83
gggttcaccg tcagtagcaa ctac 24

84
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 84
Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr
[0023] 1 5

85
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 85
atttatagcg gtggtatcac a 21

86
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 86
Ile Tyr Ser Gly Gly Ile Thr
1 5

87
<211> 51

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 87
gcgcgggaac ggtactccgg tataactgga aacccttatg gttttgatat t 51

88
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 88
Ala Arg Glu Arg Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Asn Pro Tyr Gly Phe Asp
1 5 10 15
Ile

89
<211> 321
<212> DNA
[0024] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 89
gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgct gggccagtca ggacattagc agttatttag cctggtatca gcaaaaacca 120
gggatagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag cttaatattt acccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

90
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
<400> 90
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

91
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 91
caggacatta gcagttat 18

92
<211> 6
[0025] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 92
Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
1 5

93
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 93
gctgcatcc 9

94
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 94
Ala Ala Ser
1

95
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 95
caacagctta atatttaccc attcact 27

96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 96
Gln Gln Leu Asn Ile Tyr Pro Phe Thr
1 5

[0026]

97
<211> 345
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 97
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgttcag cctctggatt cacctttacc acctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaggg ggctggagtg ggtctcatct attagtggta ctggtgttag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa tgcgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgac agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaggatagt 300
gggacctatc actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

98
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 98
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

99

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

[0027] <400> 99

```
ggattcacct ttaccaccta tgcc                                          24
```

100

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 100

```
Gly Phe Thr Phe Thr Thr Tyr Ala
 1               5
```

101

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 101

```
attagtggta ctggtgttag caca                                          24
```

102

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 102
Ile Ser Gly Thr Gly Val Ser Thr
1 5

103
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 103
gcgaaggata gtgggaccta tcac 24

104
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
[0028] <220>
<223> 合成
<400> 104
Ala Lys Asp Ser Gly Thr Tyr His
1 5

105
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 105
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttgac agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccagactcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtcgcaact ggccgcagtt cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaa 324

106
<211> 108
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 106

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

107
<211> 18
<212> DNA
[0029] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 107

```
cagagtgttg acagctac                                              18
```

108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 108

```
Gln Ser Val Asp Ser Tyr
 1               5
```

109
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 109

gatgcatcc 9

110
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 110
Asp Ala Ser
1

111
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 111
cagcagcgtc gcaactggcc gcagttcact 30

[0030]

112
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 112
Gln Gln Arg Arg Asn Trp Pro Gln Phe Thr
1 5 10

113
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 113
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cgtctggatt caccttcagt acctatggca tgcactgggt ccgccacgtt 120
ccaggcaagg gactggagtg ggtggcaatt gtttggtatg atggaagtga taaatcctat 180
gcagcctccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
ctgcaaatga acagtttgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gcgacagggg 300
acctactact actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

114

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 114

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg His Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ile Val Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Ser Tyr Ala Ala Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Gly Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

[0031]

115

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 115

ggattcacct tcagtaccta tggc 24

116

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 116

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly
1 5

117

<211> 24

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 117
gtttggtatg atggaagtga taaa 24

118
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 118
Val Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys
1 5

119
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
[0032] <223> 合成
<400> 119
gcgcgacagg ggacctacta ctactacggt atggacgtc 39

120
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 120
Ala Arg Gln Gly Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

121
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 121
gacatccaga tgacccagtc tccttcctct ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggtcaagtca gaccattact aactatttaa attggtatca gcagagaccg 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacca agctggagat caaa 324

122
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 122

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

[0033]

123
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 123
cagaccatta ctaactat 18

124
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 124

Gln	Thr	Ile	Thr	Asn	Tyr
1				5	

125
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 125
gctgcgtcc 9

126
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 126
Ala Ala Ser
1

127
<211> 30
<212> DNA
[0034] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 127
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

128
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 128
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

129
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 129
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg gttggcaatt atatggtatg atggaactaa taaacagtat 180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gcgacaggac 300
ttctactact actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

130
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 130

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

131
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 131
ggattcacct tcagtagtta tggc 24

132
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

[0035]

<220>
<223> 合成
<400> 132
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

133
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 133
atatggtatg atggaactaa taaa 24

134
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 134
[0036] Ile Trp Tyr Asp Gly Thr Asn Lys
1 5

135
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 135
gcgcgacagg acttctacta ctactacggt atggacgtc 39

136
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 136
Ala Arg Gln Asp Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

137

<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 137
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa actggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaggtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacca agctggagat caaa 324

138
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 138
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
[0037] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

139
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 139
cagagcatta gcagctat 18

140

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 140
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

141
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 141
gctgcatcc 9

142
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
[0038] <220>
<223> 合成
<400> 142
Ala Ala Ser
1

143
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 143
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

144
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 144
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

145

<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 145

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatggtatg atggaagtga taaacactat 180
gtagactcca tgaagggccg attcaccatc tccagagaca actccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgatgac acggctgtgt attactgtgc gagacaagct 300
tactacttct actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

146

<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

[0039] <400> 146

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

147

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成
<400> 147
ggattcacct tcagtagcta tggc 24

148
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 148
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

149
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 149
atatggtatg atggaagtga taaa 24

[0040]

150
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 150
Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys
1 5

151
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 151
gcgagacaag cttactactt ctactacggt atggacgtc 39

152
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 152
Ala Arg Gln Ala Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

153
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 153
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggtcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacca agctggagat caaa 324

154
[0041] <211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 154
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

155
<211> 18

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 155
cagagcatta gcagctat 18

156
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 156
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

157
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
[0042] <223> 合成
<400> 157
gctgcatcc 9

158
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 158
Ala Ala Ser
1

159
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 159
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

160

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 160
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

161

<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 161
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgaa gtgaagaggc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgtaagg cttctgatta cacctttacc gactatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag gacttgagtg gatgggatgg ttcaatactt acaatggtaa cacaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag aatcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggaactga ggagcctaag atctgacgac acggccatat attactgtgc gagagattgg 300
[0043] ggcctccact actttgaaaa ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

162

<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 162
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Phe Asn Thr Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ile Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Trp Gly Leu His Tyr Phe Glu Asn Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

163
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 163
gattacacct ttaccgacta tggt 24

164
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 164
Asp Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Gly
1 5

[0044]

165
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 165
ttcaatactt acaatggtaa caca 24

166
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 166
Phe Asn Thr Tyr Asn Gly Asn Thr
1 5

167
<211> 33
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 167
gcgagagatt ggggcctcca ctactttgaa aac 33

168
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 168
Ala Arg Asp Trp Gly Leu His Tyr Phe Glu Asn
1 5 10

169
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

[0045] <400> 169
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttcgc aacagctact tagcctggta ccaacagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggacac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggtc gctcaccttg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaa 324

170
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 170
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asn Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Asp Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

171
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 171
cagagtgttc gcaacagcta c 21

172
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
[0046]
<400> 172
Gln Ser Val Arg Asn Ser Tyr
1 5

173
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 173
ggtgcatcc 9

174
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 174
Gly Ala Ser
1

175

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 175

cagcagtatg gtcgctcacc ttggacg 27

176

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 176

Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Trp Thr
1 5

177

<211> 366

<212> DNA

[0047] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 177

gaagtgcagc tggtggagtc gggggggaggc ttggttcagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tacactgggt ccgtcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtta cctaggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttct attactgtgc aaaagatgtg 300
gcctggggct cggtgcgcca tgtctttgaa atctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360
tcttca 366

178

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 178

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Tyr Leu Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Val Ala Trp Gly Ser Val Arg His Val Phe Glu Ile Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

179
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 179
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

[0048] 180
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 180
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

181
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 181
attagttgga atagtggtta ccta 24

182
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
<400> 182
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Tyr Leu
1 5

183
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 183
gcaaaagatg tggcctgggg ctcggtgcgc catgtctttg aaatc 45

184
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 184
[0049] Ala Lys Asp Val Ala Trp Gly Ser Val Arg His Val Phe Glu Ile
1 5 10 15

185
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 185
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccaggaga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca aactattacc ggcaaccagt tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat tttacatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttctctc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta tttctgtcag cagtttggtt actcaccttg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaa 324

186
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 186

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

187

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

[0050] <400> 187

caaactatta ccggcaacca g 21

188

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 188

Gln Thr Ile Thr Gly Asn Gln
1 5

189

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 189

tttacatcc 9

190

<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 190
Phe Thr Ser
1

191
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 191
cagcagtttg gttactcacc ttggacg 27

192
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
[0051] <220>
<223> 合成
<400> 192
Gln Gln Phe Gly Tyr Ser Pro Trp Thr
1 5

193
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 193
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgcagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcacc agtggtggtt acttctggac ctggatccgc 120
cagcacccag ggaggggcct ggagtggctt gggaacatct ttaacagcgg ggacacctac 180
tactacccgt ccctcaagag tcaaattgcc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tccctgaagc tgacctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagaggg 300
gtcctttact acgatttttg gagtggttat attgactact ggggcctggg aaccctggtc 360
accgtctcct ca 372

194
<211> 124

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 194

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

[0052] 195
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 195

```
ggtggctcca tcaccagtgg tggttacttc                                    30
```

196
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 196

```
Gly Gly Ser Ile Thr Ser Gly Gly Tyr Phe
 1               5                  10
```

197
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
<400> 197
atctttaaca gcggggacac c 21

198
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 198
Ile Phe Asn Ser Gly Asp Thr
1 5

199
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 199
[0053] gcgagagggg tcctttacta cgatttttgg agtggttata ttgactac 48

200
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 200
Ala Arg Gly Val Leu Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Ile Asp Tyr
1 5 10 15

201
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 201
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcatctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcgtcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcataatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gttcaccttg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaa 324

202
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 202

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

[0054] Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

203
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 203
cagagtgtta gcagcatcta c 21

204
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 204

Gln Ser Val Ser Ser Ile Tyr
1 5

205

<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 205
ggtgcgtcc 9

206
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 206
Gly Ala Ser
1

207
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
[0055] <220>
<223> 合成
<400> 207
cagcagtatg gtagttcacc ttggacg 27

208
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 208
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

209
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 209
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtga ctccatcagc agtagtaatt acttctgggg ctggatccgc 120
cagcccccag ggaagggcct ggagtggatt gggaatatct attatagtgg agacacctac 180
tacaacccgt ccctcaagag tcgagtcacc atgtccgttg acacgtccaa gaaacagttc 240
tccctgaagc tgaggtctgt gaccgccgca gacacggctg tatattactg tgcgagaggg 300
aggccttatt acgatttttg gagtggttat tttgactact ggggccaggg aaccctggtc 360
accgtctcct ca 372

210
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 210

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

[0056]

211
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 211
ggtgactcca tcagcagtag taattacttc 30

212
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成
<400> 212
Gly Asp Ser Ile Ser Ser Ser Asn Tyr Phe
1 5 10

213
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 213
atctattata gtggagacac c 21

214
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 214
Ile Tyr Tyr Ser Gly Asp Thr
[0057] 1 5

215
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 215
gcgagaggga ggccttatta cgatttttgg agtggttatt ttgactac 48

216
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 216
Ala Arg Gly Arg Pro Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10 15

217
<211> 324

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 217
gaaattgtgt tgacacagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctcccctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatatat ggtgcatcta gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gaggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag tagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggaa ccgcaccttg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaa 324

218
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 218
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Pro Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
[0058] 20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Arg
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ala Pro
85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

219
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 219
cagagtgtta gcagcagcta c 21

220
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 220
Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1 5

221
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 221
ggtgcatct 9

222
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0059] <223> 合成
<400> 222
Gly Ala Ser
1

223
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 223
cagcagtatg gaaccgcacc ttggacg 27

224
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 224
Gln Gln Tyr Gly Thr Ala Pro Trp Thr
1 5

225

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 225

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt tactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt atattatatg atggaagtaa taaattctat 180

tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaggaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag acttgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagactac 300

ggtggccgct ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

226

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 226

[0060]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ser Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Tyr Gly Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

227

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 227
ggattcacct tcagttacta tggc 24

228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 228
Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Gly
1 5

229
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 229
atattatatg atggaagtaa taaa 24

[0061] 230
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 230
Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

231
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 231
gcgaaagact acggtggccg ctttgactac 30

232
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 232
Ala Lys Asp Tyr Gly Gly Arg Phe Asp Tyr
1 5 10

233
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 233
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt cttcagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc aacaaatact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ttcccaggct cctcatctat ggtgcatcca acagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcaa cagactggag 240
cctgaagatt ttgctgtgtt ctactgtcag caatatggta gtacaccttc gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaa 324

234
[0062] <211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 234
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Ser Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Lys
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Val Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Thr Pro
85 90 95
Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

235
<211> 21

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 235
cagagtgtta gcaacaaata c 21

236
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 236
Gln Ser Val Ser Asn Lys Tyr
1 5

237
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
[0063]
<223> 合成
<400> 237
ggtgcatcc 9

238
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 238
Gly Ala Ser
1

239
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 239
cagcaatatg gtagtacacc ttcgacg 27

240

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 240

Gln Gln Tyr Gly Ser Thr Pro Ser Thr
1 5

241

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 241

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt tactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atgccagtaa taactattat 180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaggattac 300
[0064] ggtggccgct ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

242

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 242

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

Val Thr Val Ser Ser
115

243
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 243
ggattcacct tcagttacta tggc 24

244
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 244
Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Gly
1 5

[0065] 245
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 245
atatcatatg atgccagtaa taac 24

246
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 246
Ile Ser Tyr Asp Ala Ser Asn Asn
1 5

247
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
<400> 247
gcgaaggatt acggtggccg ctttgactac 30

248
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 248
Ala Lys Asp Tyr Gly Gly Arg Phe Asp Tyr
1 5 10

249
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 249
[0066] gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgcg gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccagactc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catcccagac 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggactgac ttcactctca ccattagcag actggagcct 240
gaagattttg cagtgtatta ttgtcagcag tatggtagct caccttggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

250
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 250
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Thr Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro

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

251
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 251
cagagtgtta gcagctac 18

252
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 252
[0067] Gln Ser Val Ser Ser Tyr
1 5

253
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 253
ggtgcatcc 9

254
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 254
Gly Ala Ser
1

255

<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 255
cagcagtatg gtagctcacc ttggacg 27

256
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 256
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

257
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列
[0068] <220>
<223> 合成
<400> 257
caggtgcagc tggtggagtc gggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcaat tactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtc atatcatatg atggaactaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccacc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agctgaggac acggctctgt attactgtgc gagagatcgc 300
ggtggccgct ttgactactg gggccaggga atccaggtca ccgtctcctc a 351

258
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 258
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Gly Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ile Gln
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

259
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 259
ggattcacct tcaattacta tggc 24

260
<211> 8
[0069] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 260
Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr Gly
1 5

261
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 261
atatcatatg atggaactaa taaa 24

262
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 262
Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Lys
1 5

263
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 263
gcgagagatc gcggtggccg ctttgactac 30

264
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 264
Ala Arg Asp Arg Gly Gly Arg Phe Asp Tyr
1 5 10

[0070]

265
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 265
gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cggtatggta cctcaccgct cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaa 324

266
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 266
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

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

267
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 267
cagagtgtta gcagcaacta c 21

[0071]

268
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 268
Gln Ser Val Ser Ser Asn Tyr
1 5

269
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 269
ggtgcatcc 9

270
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 270
Gly Ala Ser
1

271
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 271
cagcggtatg gtacctcacc gctcact 27

272
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
[0072] <400> 272
Gln Arg Tyr Gly Thr Ser Pro Leu Thr
1 5

273
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 273
caggtgcagc tggtggagtc agggggaggc gtggtccagt ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcatt tactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctagagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtga tagatactat 180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagacg attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag acctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagaccgc 300
ggtggccgtt ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

274
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成
<400> 274
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ile Tyr Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Arg Gly Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

275
<211> 24
<212> DNA
[0073] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 275
ggattcacct tcatttacta tggc 24

276
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 276
Gly Phe Thr Phe Ile Tyr Tyr Gly
1 5

277
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 277

atatcatatg atggaagtga taga 24

278
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 278
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Arg
1 5

279
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 279
gcgaaagacc gcggtggccg ttttgactac 30

[0074]

280
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 280
Ala Lys Asp Arg Gly Gly Arg Phe Asp Tyr
1 5 10

281
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 281
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttaac aacaactact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttcg gtggcggtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cggtatggta actctccgct cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaa 324

282
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 282

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

[0075] 283
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 283

```
cagagtgtta acaacaacta c                                              21
```

284
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 284

```
Gln Ser Val Asn Asn Asn Tyr
 1               5
```

285
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
<400> 285
ggtgcatcc 9

286
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 286
Gly Ala Ser
1

287
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 287
[0076] cagcggtatg gtaactctcc gctcact 27

288
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 288
Gln Arg Tyr Gly Asn Ser Pro Leu Thr
1 5

289
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 289
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggagac ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcagct attagtgtta gtggtgatag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcgc 300
gggtatacct ggaactacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct ca 372

290
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 290

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Val Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0077] 85 90 95
Ala Lys Asp Arg Gly Tyr Thr Trp Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

291
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 291
ggattcacct ttagtagcta tgcc 24

292
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 292
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

293
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 293
attagtgtta gtggtgatag caca 24

294
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 294
Ile Ser Val Ser Gly Asp Ser Thr
1 5

295
[0078] <211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 295
gcgaaagatc gcgggtatac ctggaactac tactactacg gtatggacgt c 51

296
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 296
Ala Lys Asp Arg Gly Tyr Thr Trp Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15
Val

297
<211> 336
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 297
gatattgtga tgacccagac tccactctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta cacagtgatg gaaacaccta cttgagttgg 120
cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctcctaattt ataagatttc taaccgattc 180
tctggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
agcagggtgg aagctgagga tgtcggggtt tattactgca tgcaagctac acaatttccg 300
tacacttttg gccaggggac caaactggag atcaaa 336

298
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 298
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30
[0079] Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Thr Gln Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

299
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 299
caaagcctcg tacacagtga tggaaacacc tac 33

300
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 300
Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

301
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 301
aagatttct 9

302
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0080] <223> 合成
<400> 302
Lys Ile Ser
1

303
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 303
atgcaagcta cacaatttcc gtacact 27

304
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 304
Met Gln Ala Thr Gln Phe Pro Tyr Thr
1 5

305

<211> 369

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 305

gaggtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt agcaactaca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt atttatagcg gtggtagaac aaactacgga 180

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctt 240

caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agagaattac 300

gatttttgga gtggtgaccc ctacggttgg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360

gtctcctca 369

306

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 306

[0081]

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

307

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 307
gggttcaccg tcagtagcaa ctac 24

308
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 308
Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr
1 5

309
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 309
atttatagcg gtggtagaac a 21

[0082] 310
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 310
Ile Tyr Ser Gly Gly Arg Thr
1 5

311
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 311
gcgagagaga attacgattt ttggagtggt gacccctacg gttgggacgt c 51

312
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成
<400> 312
Ala Arg Glu Asn Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Asp Pro Tyr Gly Trp Asp
1 5 10 15
Val

313
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 313
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattagc aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtccct gatatatggt gcatccagtt tgcaaagagg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccatacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

[0083] 314
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 314
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

315

<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 315
caggacatta gcaattat 18

316
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 316
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

317
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
[0084] <220>
<223> 合成
<400> 317
ggtgcatcc 9

318
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 318
Gly Ala Ser
1

319
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 319
caacagtata atagttaccc atacact 27

320

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 320
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

321

<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 321

[0085]

gaggtgcagc tgctggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt aataactaca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg gactggagtg ggtctcagtt atttatagcg gtggtagaac aaactacgga 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctt 240
caaatgaaca gcctaagagc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agagaattac 300
gatttttgga gtggtgaccc ctacggttgg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

322

<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 322
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Asn Asn
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Gly Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Asn Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Asp Pro Tyr Gly Trp Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

323
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 323
gggttcaccg tcagtaataa ctac 24

324
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 324
Gly Phe Thr Val Ser Asn Asn Tyr
[0086] 1 5

325
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 325
atttatagcg gtggtagaac a 21

326
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 326
Ile Tyr Ser Gly Gly Arg Thr
1 5

327
<211> 51

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 327
gcgagagaga attacgattt ttggagtggt gacccctacg gttgggacgt c 51

328
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 328
Ala Arg Glu Asn Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Asp Pro Tyr Gly Trp Asp
1 5 10 15
Val

329
<211> 321
<212> DNA
[0087] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 329
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattagc aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtccct gatatatggt gcatccagtt tgcaaagagg ggtcccatca 180
aagttcagag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caagttatta ctgccaacag tataatagtt acccatacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

330
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 330
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Lys Phe Arg Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

331
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 331
caggacatta gcaattat 18

332
<211> 6
<212> PRT
[0088] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 332
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

333
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 333
ggtgcatcc 9

334
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 334

Gly Ala Ser
1

335
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 335
caacagtata atagttaccc atacact 27

336
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 336
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

[0089] 337
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 337
gaggtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcagt agcaactaca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt atttatagcg gtggtagaac aaactacgga 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agagaattac 300
gatttttgga gtggtgaccc ctacggttgg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

338
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 338
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

339
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

[0090] <400> 339

```
gggttcaccg tcagtagcaa ctac                                          24
```

340
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 340

```
Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr
 1               5
```

341
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 341

```
atttatagcg gtggtagaac a                                             21
```

342

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 342
Ile Tyr Ser Gly Gly Arg Thr
1 5

343
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 343
gcgagagaga attacgattt ttggagtggt gacccctacg gttgggacgt c 51

344
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
[0091] <220>
<223> 合成
<400> 344
Ala Arg Glu Asn Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Asp Pro Tyr Gly Trp Asp
1 5 10 15
Val

345
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 345
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattagc aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtccct gatatatggt gcatccagtt tgcaaagagg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccatacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

346

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 346

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

347

[0092] <211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 347

```
caggacatta gcaattat                                              18
```

348
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 348

```
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1               5
```

349
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成
<400> 349
ggtgcatcc 9

350
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 350
Gly Ala Ser
1

351
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 351
caacagtata atagttaccc atacact 27

[0093]

352
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 352
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

353
<211> 3423
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 兹卡病毒聚蛋白（GenBank 第 ALU33341.1 号）
<400> 353
Met Lys Asn Pro Lys Lys Lys Ser Gly Gly Phe Arg Ile Val Asn Met
1 5 10 15
Leu Lys Arg Gly Val Ala Arg Val Ser Pro Phe Gly Gly Leu Lys Arg
20 25 30
Leu Pro Ala Gly Leu Leu Leu Gly His Gly Pro Ile Arg Met Val Leu

35 40 45

Ala Ile Leu Ala Phe Leu Arg Phe Thr Ala Ile Lys Pro Ser Leu Gly
50 55 60

Leu Ile Asn Arg Trp Gly Ser Val Gly Lys Lys Glu Ala Met Glu Ile
65 70 75 80

Ile Lys Lys Phe Lys Lys Asp Leu Ala Ala Met Leu Arg Ile Ile Asn
85 90 95

Ala Arg Lys Glu Lys Lys Arg Arg Gly Ala Asp Thr Ser Val Gly Ile
100 105 110

Val Gly Leu Leu Leu Thr Thr Ala Met Ala Ala Glu Val Thr Arg Arg
115 120 125

Gly Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala Gly Glu Ala
130 135 140

Ile Ser Phe Pro Thr Thr Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr Ile Gln Ile
145 150 155 160

Met Asp Leu Gly His Met Cys Asp Ala Thr Met Ser Tyr Glu Cys Pro
165 170 175

Met Leu Asp Glu Gly Val Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys Trp Cys Asn
180 185 190

Thr Thr Ser Thr Trp Val Val Tyr Gly Thr Cys His His Lys Lys Gly
195 200 205

Glu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser His Ser Thr
[0094] 210 215 220

Arg Lys Leu Gln Thr Arg Ser Gln Thr Trp Leu Glu Ser Arg Glu Tyr
225 230 235 240

Thr Lys His Leu Ile Arg Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg Asn Pro Gly
245 250 255

Phe Ala Leu Ala Ala Ala Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly Ser Ser Thr
260 265 270

Ser Gln Lys Val Ile Tyr Leu Val Met Ile Leu Leu Ile Ala Pro Ala
275 280 285

Tyr Ser Ile Arg Cys Ile Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly
290 295 300

Met Ser Gly Gly Thr Trp Val Asp Ile Val Leu Glu His Gly Gly Cys
305 310 315 320

Val Thr Val Met Ala Gln Asp Lys Pro Thr Val Asp Ile Glu Leu Val
325 330 335

Thr Thr Thr Val Ser Asn Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr Cys Tyr Glu
340 345 350

Ala Ser Ile Ser Asp Met Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro Thr Gln Gly
355 360 365

Glu Ala Tyr Leu Asp Lys Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val Cys Lys Arg
370 375 380

Thr Leu Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys
385 390 395 400

Gly Ser Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys Lys Met Thr
405 410 415
Gly Lys Ser Ile Gln Pro Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile Met Leu Ser
420 425 430
Val His Gly Ser Gln His Ser Gly Met Ile Val Asn Asp Thr Gly His
435 440 445
Glu Thr Asp Glu Asn Arg Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro Asn Ser Pro
450 455 460
Arg Ala Glu Ala Thr Leu Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly Leu Asp Cys
465 470 475 480
Glu Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Ser Asp Leu Tyr Tyr Leu Thr Met
485 490 495
Asn Asn Lys His Trp Leu Val His Lys Glu Trp Phe His Asp Ile Pro
500 505 510
Leu Pro Trp His Ala Gly Ala Asp Thr Gly Thr Pro His Trp Asn Asn
515 520 525
Lys Glu Ala Leu Val Glu Phe Lys Asp Ala His Ala Lys Arg Gln Thr
530 535 540
Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Val His Thr Ala Leu Ala
545 550 555 560
Gly Ala Leu Glu Ala Glu Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg Leu Ser Ser
565 570 575

[0095] Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg Leu Lys Gly
580 585 590
Val Ser Tyr Ser Leu Cys Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr Lys Ile Pro
595 600 605
Ala Glu Thr Leu His Gly Thr Val Thr Val Glu Val Gln Tyr Ala Gly
610 615 620
Thr Asp Gly Pro Cys Lys Val Pro Ala Gln Met Ala Val Asp Met Gln
625 630 635 640
Thr Leu Thr Pro Val Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Val Ile Thr
645 650 655
Glu Ser Thr Glu Asn Ser Lys Met Met Leu Glu Leu Asp Pro Pro Phe
660 665 670
Gly Asp Ser Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys Ile Thr His
675 680 685
His Trp His Arg Ser Gly Ser Thr Ile Gly Lys Ala Phe Glu Ala Thr
690 695 700
Val Arg Gly Ala Lys Arg Met Ala Val Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp
705 710 715 720
Phe Gly Ser Val Gly Gly Ala Leu Asn Ser Leu Gly Lys Gly Ile His
725 730 735
Gln Ile Phe Gly Ala Ala Phe Lys Ser Leu Phe Gly Gly Met Ser Trp
740 745 750
Phe Ser Gln Ile Leu Ile Gly Thr Leu Leu Met Trp Leu Gly Leu Asn

```
          755                 760                 765
Thr Lys Asn Gly Ser Ile Ser Leu Met Cys Leu Ala Leu Gly Gly Val
      770                 775                 780
Leu Ile Phe Leu Ser Thr Ala Val Ser Ala Asp Val Gly Cys Ser Val
785                 790                 795                 800
Asp Phe Ser Lys Lys Glu Thr Arg Cys Gly Thr Gly Val Phe Val Tyr
                  805                 810                 815
Asn Asp Val Glu Ala Trp Arg Asp Arg Tyr Lys Tyr His Pro Asp Ser
              820                 825                 830
Pro Arg Arg Leu Ala Ala Ala Val Lys Gln Ala Trp Glu Asp Gly Ile
          835                 840                 845
Cys Gly Ile Ser Ser Val Ser Arg Met Glu Asn Ile Met Trp Arg Ser
      850                 855                 860
Val Glu Gly Glu Leu Asn Ala Ile Leu Glu Glu Asn Gly Val Gln Leu
865                 870                 875                 880
Thr Val Val Val Gly Ser Val Lys Asn Pro Met Trp Arg Gly Pro Gln
                  885                 890                 895
Arg Leu Pro Val Pro Val Asn Glu Leu Pro His Gly Trp Lys Ala Trp
              900                 905                 910
Gly Lys Ser His Phe Val Arg Ala Ala Lys Thr Asn Asn Ser Phe Val
          915                 920                 925
Val Asp Gly Asp Thr Leu Lys Glu Cys Pro Leu Lys His Arg Ala Trp
      930                 935                 940
Asn Ser Phe Leu Val Glu Asp His Gly Phe Gly Val Phe His Thr Ser
945                 950                 955                 960
Val Trp Leu Lys Val Arg Glu Asp Tyr Ser Leu Glu Cys Asp Pro Ala
                  965                 970                 975
Val Ile Gly Thr Ala Val Lys Gly Lys Glu Ala Val His Ser Asp Leu
              980                 985                 990
Gly Tyr Trp Ile Glu Ser Glu Lys Asn Asp Thr Trp Arg Leu Lys Arg
          995                 1000                1005
Ala His Leu Ile Glu Met Lys Thr Cys Glu Trp Pro Lys Ser His Thr
      1010                1015                1020
Leu Trp Thr Asp Gly Ile Glu Glu Ser Asp Leu Ile Ile Pro Lys Ser
1025                1030                1035                1040
Leu Ala Gly Pro Leu Ser His His Asn Thr Arg Glu Gly Tyr Arg Thr
                  1045                1050                1055
Gln Met Lys Gly Pro Trp His Ser Glu Glu Leu Glu Ile Arg Phe Glu
              1060                1065                1070
Glu Cys Pro Gly Thr Lys Val His Val Glu Glu Thr Cys Gly Thr Arg
          1075                1080                1085
Gly Pro Ser Leu Arg Ser Thr Thr Ala Ser Gly Arg Val Ile Glu Glu
      1090                1095                1100
Trp Cys Cys Arg Glu Cys Thr Met Pro Pro Leu Ser Phe Arg Ala Lys
1105                1110                1115                1120
```

[0096]

Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro Arg Lys Glu Pro Glu
1125 1130 1135
Ser Asn Leu Val Arg Ser Met Val Thr Ala Gly Ser Thr Asp His Met
1140 1145 1150
Asp His Phe Ser Leu Gly Val Leu Val Ile Leu Leu Met Val Gln Glu
1155 1160 1165
Gly Leu Lys Lys Arg Met Thr Thr Lys Ile Ile Ile Ser Thr Ser Met
1170 1175 1180
Ala Val Leu Val Ala Met Ile Leu Gly Gly Phe Ser Met Ser Asp Leu
1185 1190 1195 1200
Ala Lys Leu Ala Ile Leu Met Gly Ala Thr Phe Ala Glu Met Asn Thr
1205 1210 1215
Gly Gly Asp Val Ala His Leu Ala Leu Ile Ala Ala Phe Lys Val Arg
1220 1225 1230
Pro Ala Leu Leu Val Ser Phe Ile Phe Arg Ala Asn Trp Thr Pro Arg
1235 1240 1245
Glu Ser Met Leu Leu Ala Leu Ala Ser Cys Leu Leu Gln Thr Ala Ile
1250 1255 1260
Ser Ala Leu Glu Gly Asp Leu Met Val Leu Ile Asn Gly Phe Ala Leu
1265 1270 1275 1280
Ala Trp Leu Ala Ile Arg Ala Met Val Val Pro Arg Thr Asp Asn Ile
1285 1290 1295

[0097]
Thr Leu Ala Ile Leu Ala Ala Leu Thr Pro Leu Ala Arg Gly Thr Leu
1300 1305 1310
Leu Val Ala Trp Arg Ala Gly Leu Ala Thr Cys Gly Gly Phe Met Leu
1315 1320 1325
Leu Ser Leu Lys Gly Lys Gly Ser Val Lys Lys Asn Leu Pro Phe Val
1330 1335 1340
Met Ala Leu Gly Leu Thr Ala Val Arg Leu Val Asp Pro Ile Asn Val
1345 1350 1355 1360
Val Gly Leu Leu Leu Leu Thr Arg Ser Gly Lys Arg Ser Trp Pro Pro
1365 1370 1375
Ser Glu Val Leu Thr Ala Val Gly Leu Ile Cys Ala Leu Ala Gly Gly
1380 1385 1390
Phe Ala Lys Ala Asp Ile Glu Met Ala Gly Pro Met Ala Ala Val Gly
1395 1400 1405
Leu Leu Ile Val Ser Tyr Val Val Ser Gly Lys Ser Val Asp Met Tyr
1410 1415 1420
Ile Glu Arg Ala Gly Asp Ile Thr Trp Glu Lys Asp Ala Glu Val Thr
1425 1430 1435 1440
Gly Asn Ser Pro Arg Leu Asp Val Ala Leu Asp Glu Ser Gly Asp Phe
1445 1450 1455
Ser Leu Val Glu Asp Asp Gly Pro Pro Met Arg Glu Ile Ile Leu Lys
1460 1465 1470
Val Val Leu Met Thr Ile Cys Gly Met Asn Pro Ile Ala Ile Pro Phe

1475 1480 1485

Ala Ala Gly Ala Trp Tyr Val Tyr Val Lys Thr Gly Lys Arg Ser Gly

1490 1495 1500

Ala Leu Trp Asp Val Pro Ala Pro Lys Glu Val Lys Lys Gly Glu Thr

1505 1510 1515 1520

Thr Asp Gly Val Tyr Arg Val Met Thr Arg Arg Leu Leu Gly Ser Thr

1525 1530 1535

Gln Val Gly Val Gly Val Met Gln Glu Gly Val Phe His Thr Met Trp

1540 1545 1550

His Val Thr Lys Gly Ser Ala Leu Arg Ser Gly Glu Gly Arg Leu Asp

1555 1560 1565

Pro Tyr Trp Gly Asp Val Lys Gln Asp Leu Val Ser Tyr Cys Gly Pro

1570 1575 1580

Trp Lys Leu Asp Ala Ala Trp Asp Gly His Ser Glu Val Gln Leu Leu

1585 1590 1595 1600

Ala Val Pro Pro Gly Glu Arg Ala Arg Asn Ile Gln Thr Leu Pro Gly

1605 1610 1615

Ile Phe Lys Thr Lys Asp Gly Asp Ile Gly Ala Val Ala Leu Asp Tyr

1620 1625 1630

Pro Ala Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ile Leu Asp Lys Cys Gly Arg Val

1635 1640 1645

Ile Gly Leu Tyr Gly Asn Gly Val Val Ile Lys Asn Gly Ser Tyr Val

[0098] 1650 1655 1660

Ser Ala Ile Thr Gln Gly Arg Arg Glu Glu Glu Thr Pro Val Glu Cys

1665 1670 1675 1680

Phe Glu Pro Ser Met Leu Lys Lys Lys Gln Leu Thr Val Leu Asp Leu

1685 1690 1695

His Pro Gly Ala Gly Lys Thr Arg Arg Val Leu Pro Glu Ile Val Arg

1700 1705 1710

Glu Ala Ile Lys Thr Arg Leu Arg Thr Val Ile Leu Ala Pro Thr Arg

1715 1720 1725

Val Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu Pro Val Arg

1730 1735 1740

Tyr Met Thr Thr Ala Val Asn Val Thr His Ser Gly Thr Glu Ile Val

1745 1750 1755 1760

Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Ser Arg Leu Leu Gln Pro Ile

1765 1770 1775

Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Tyr Ile Met Asp Glu Ala His Phe Thr

1780 1785 1790

Asp Pro Ser Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser Thr Arg Val Glu

1795 1800 1805

Met Gly Glu Ala Ala Ala Ile Phe Met Thr Ala Thr Pro Pro Gly Thr

1810 1815 1820

Arg Asp Ala Phe Pro Asp Ser Asn Ser Pro Ile Met Asp Thr Glu Val

1825 1830 1835 1840

Glu Val Pro Glu Arg Ala Trp Ser Ser Gly Phe Asp Trp Val Thr Asp
1845 1850 1855
Tyr Ser Gly Lys Thr Val Trp Phe Val Pro Ser Val Arg Asn Gly Asn
1860 1865 1870
Glu Ile Ala Ala Cys Leu Thr Lys Ala Gly Lys Arg Val Ile Gln Leu
1875 1880 1885
Ser Arg Lys Thr Phe Glu Thr Glu Phe Gln Lys Thr Lys His Gln Glu
1890 1895 1900
Trp Asp Phe Val Val Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe
1905 1910 1915 1920
Lys Ala Asp Arg Val Ile Asp Ser Arg Arg Cys Leu Lys Pro Val Ile
1925 1930 1935
Leu Asp Gly Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met Pro Val Thr His
1940 1945 1950
Ala Ser Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg Asn Pro Asn Lys
1955 1960 1965
Pro Gly Asp Glu Tyr Leu Tyr Gly Gly Gly Cys Ala Glu Thr Asp Glu
1970 1975 1980
Asp His Ala His Trp Leu Glu Ala Arg Met Leu Leu Asp Asn Ile Tyr
1985 1990 1995 2000
Leu Gln Asp Gly Leu Ile Ala Ser Leu Tyr Arg Pro Glu Ala Asp Lys
2005 2010 2015

[0099] Val Ala Ala Ile Glu Gly Glu Phe Lys Leu Arg Thr Glu Gln Arg Lys
2020 2025 2030
Thr Phe Val Glu Leu Met Lys Arg Gly Asp Leu Pro Val Trp Leu Ala
2035 2040 2045
Tyr Gln Val Ala Ser Ala Gly Ile Thr Tyr Thr Asp Arg Arg Trp Cys
2050 2055 2060
Phe Asp Gly Thr Thr Asn Asn Thr Ile Met Glu Asp Ser Val Pro Ala
2065 2070 2075 2080
Glu Val Trp Thr Arg His Gly Glu Lys Arg Val Leu Lys Pro Arg Trp
2085 2090 2095
Met Asp Ala Arg Val Cys Ser Asp His Ala Ala Leu Lys Ser Phe Lys
2100 2105 2110
Glu Phe Ala Ala Gly Lys Arg Gly Ala Ala Phe Gly Val Met Glu Ala
2115 2120 2125
Leu Gly Thr Leu Pro Gly His Met Thr Glu Arg Phe Gln Glu Ala Ile
2130 2135 2140
Asp Asn Leu Ala Val Leu Met Arg Ala Glu Thr Gly Ser Arg Pro Tyr
2145 2150 2155 2160
Lys Ala Ala Ala Ala Gln Leu Pro Glu Thr Leu Glu Thr Ile Met Leu
2165 2170 2175
Leu Gly Leu Leu Gly Thr Val Ser Leu Gly Ile Phe Phe Val Leu Met
2180 2185 2190
Arg Asn Lys Gly Ile Gly Lys Met Gly Phe Gly Met Val Thr Leu Gly

2195 2200 2205

Ala Ser Ala Trp Leu Met Trp Leu Ser Glu Ile Glu Pro Ala Arg Ile
2210 2215 2220

Ala Cys Val Leu Ile Val Val Phe Leu Leu Leu Val Val Leu Ile Pro
2225 2230 2235 2240

Glu Pro Glu Lys Gln Arg Ser Pro Gln Asp Asn Gln Met Ala Ile Ile
2245 2250 2255

Ile Met Val Ala Val Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Ala Asn Glu Leu
2260 2265 2270

Gly Trp Leu Glu Arg Thr Lys Ser Asp Leu Ser His Leu Met Gly Arg
2275 2280 2285

Arg Glu Glu Gly Ala Thr Met Gly Phe Ser Met Asp Ile Asp Leu Arg
2290 2295 2300

Pro Ala Ser Ala Trp Ala Ile Tyr Ala Ala Leu Thr Thr Phe Ile Thr
2305 2310 2315 2320

Pro Ala Val Gln His Ala Val Thr Thr Ser Tyr Asn Asn Tyr Ser Leu
2325 2330 2335

Met Ala Met Ala Thr Gln Ala Gly Val Leu Phe Gly Met Gly Lys Gly
2340 2345 2350

Met Pro Phe Tyr Ala Trp Asp Phe Gly Val Pro Leu Leu Met Ile Gly
2355 2360 2365

Cys Tyr Ser Gln Leu Thr Pro Leu Thr Leu Ile Val Ala Ile Ile Leu
[0100] 2370 2375 2380

Leu Val Ala His Tyr Met Tyr Leu Ile Pro Gly Leu Gln Ala Ala Ala
2385 2390 2395 2400

Ala Arg Ala Ala Gln Lys Arg Thr Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro
2405 2410 2415

Val Val Asp Gly Ile Val Val Thr Asp Ile Asp Thr Met Thr Ile Asp
2420 2425 2430

Pro Gln Val Glu Lys Lys Met Gly Gln Val Leu Leu Met Ala Val Ala
2435 2440 2445

Val Ser Ser Ala Ile Leu Ser Arg Thr Ala Trp Gly Trp Gly Glu Ala
2450 2455 2460

Gly Ala Leu Ile Thr Ala Ala Thr Ser Thr Leu Trp Glu Gly Ser Pro
2465 2470 2475 2480

Asn Lys Tyr Trp Asn Ser Ser Thr Ala Thr Ser Leu Cys Asn Ile Phe
2485 2490 2495

Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Ser Leu Ile Tyr Thr Val Thr Arg
2500 2505 2510

Asn Ala Gly Leu Val Lys Arg Arg Gly Gly Gly Thr Gly Glu Thr Leu
2515 2520 2525

Gly Glu Lys Trp Lys Ala Arg Leu Asn Gln Met Ser Ala Leu Glu Phe
2530 2535 2540

Tyr Ser Tyr Lys Lys Ser Gly Ile Thr Glu Val Cys Arg Glu Glu Ala
2545 2550 2555 2560

Arg Arg Ala Leu Lys Asp Gly Val Ala Thr Gly Gly His Ala Val Ser
2565 2570 2575
Arg Gly Ser Ala Lys Leu Arg Trp Leu Val Glu Arg Gly Tyr Leu Gln
2580 2585 2590
Pro Tyr Gly Lys Val Ile Asp Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser
2595 2600 2605
Tyr Tyr Ala Ala Thr Ile Arg Lys Val Gln Glu Val Lys Gly Tyr Thr
2610 2615 2620
Lys Gly Gly Pro Gly His Glu Glu Pro Val Leu Val Gln Ser Tyr Gly
2625 2630 2635 2640
Trp Asn Ile Val Arg Leu Lys Ser Gly Val Asp Val Phe His Met Ala
2645 2650 2655
Ala Glu Pro Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Ser
2660 2665 2670
Ser Pro Glu Val Glu Glu Ala Arg Thr Leu Arg Val Leu Ser Met Val
2675 2680 2685
Gly Asp Trp Leu Glu Lys Arg Pro Gly Ala Phe Cys Ile Lys Val Leu
2690 2695 2700
Cys Pro Tyr Thr Ser Thr Met Met Glu Thr Leu Glu Arg Leu Gln Arg
2705 2710 2715 2720
Arg Tyr Gly Gly Gly Leu Val Arg Val Pro Leu Ser Arg Asn Ser Thr
2725 2730 2735

[0101] His Glu Met Tyr Trp Val Ser Gly Ala Lys Ser Asn Thr Ile Lys Ser
2740 2745 2750
Val Ser Thr Thr Ser Gln Leu Leu Leu Gly Arg Met Asp Gly Pro Arg
2755 2760 2765
Arg Pro Val Lys Tyr Glu Glu Asp Val Asn Leu Gly Ser Gly Thr Arg
2770 2775 2780
Ala Val Val Ser Cys Ala Glu Ala Pro Asn Met Lys Ile Ile Gly Asn
2785 2790 2795 2800
Arg Ile Glu Arg Ile Arg Ser Glu His Ala Glu Thr Trp Phe Phe Asp
2805 2810 2815
Glu Asn His Pro Tyr Arg Thr Trp Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Ala
2820 2825 2830
Pro Thr Gln Gly Ser Ala Ser Ser Leu Ile Asn Gly Val Val Arg Leu
2835 2840 2845
Leu Ser Lys Pro Trp Asp Val Val Thr Gly Val Thr Gly Ile Ala Met
2850 2855 2860
Thr Asp Thr Thr Pro Tyr Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val
2865 2870 2875 2880
Asp Thr Arg Val Pro Asp Pro Gln Glu Gly Thr Arg Gln Val Met Ser
2885 2890 2895
Met Val Ser Ser Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys His Lys Arg Pro
2900 2905 2910
Arg Val Cys Thr Lys Glu Glu Phe Ile Asn Lys Val Arg Ser Asn Ala

2915 2920 2925
Ala Leu Gly Ala Ile Phe Glu Glu Glu Lys Glu Trp Lys Thr Ala Val
2930 2935 2940
Glu Ala Val Asn Asp Pro Arg Phe Trp Ala Leu Val Asp Lys Glu Arg
2945 2950 2955 2960
Glu His His Leu Arg Gly Glu Cys Gln Ser Cys Val Tyr Asn Met Met
2965 2970 2975
Gly Lys Arg Glu Lys Lys Gln Gly Glu Phe Gly Lys Ala Lys Gly Ser
2980 2985 2990
Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe Leu Glu Phe Glu
2995 3000 3005
Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Met Gly Arg Glu Asn Ser
3010 3015 3020
Gly Gly Gly Val Glu Gly Leu Gly Leu Gln Arg Leu Gly Tyr Val Leu
3025 3030 3035 3040
Glu Glu Met Ser Arg Ile Pro Gly Gly Arg Met Tyr Ala Asp Asp Thr
3045 3050 3055
Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Ser Arg Phe Asp Leu Glu Asn Glu Ala
3060 3065 3070
Leu Ile Thr Asn Gln Met Glu Lys Gly His Arg Ala Leu Ala Leu Ala
3075 3080 3085
Ile Ile Lys Tyr Thr Tyr Gln Asn Lys Val Val Lys Val Leu Arg Pro
[0102] 3090 3095 3100
Ala Glu Lys Gly Lys Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Gln Asp Gln
3105 3110 3115 3120
Arg Gly Ser Gly Gln Val Val Thr Tyr Ala Leu Asn Thr Phe Thr Asn
3125 3130 3135
Leu Val Val Gln Leu Ile Arg Asn Met Glu Ala Glu Glu Val Leu Glu
3140 3145 3150
Met Gln Asp Leu Trp Leu Leu Arg Arg Ser Glu Lys Val Thr Asn Trp
3155 3160 3165
Leu Gln Ser Asn Gly Trp Asp Arg Leu Lys Arg Met Ala Val Ser Gly
3170 3175 3180
Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Ile Asp Asp Arg Phe Ala His Ala Leu
3185 3190 3195 3200
Arg Phe Leu Asn Asp Met Gly Lys Val Arg Lys Asp Thr Gln Glu Trp
3205 3210 3215
Lys Pro Ser Thr Gly Trp Asp Asn Trp Glu Glu Val Pro Phe Cys Ser
3220 3225 3230
His His Phe Asn Lys Leu His Leu Lys Asp Gly Arg Ser Ile Val Val
3235 3240 3245
Pro Cys Arg His Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg Ala Arg Val Ser Pro
3250 3255 3260
Gly Ala Gly Trp Ser Ile Arg Glu Thr Ala Cys Leu Ala Lys Ser Tyr
3265 3270 3275 3280

Ala Gln Met Trp Gln Leu Leu Tyr Phe His Arg Arg Asp Leu Arg Leu
3285 3290 3295
Met Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ser Val Pro Val Asp Trp Val Pro Thr
3300 3305 3310
Gly Arg Thr Thr Trp Ser Ile His Gly Lys Gly Glu Trp Met Thr Thr
3315 3320 3325
Glu Asp Met Leu Val Val Trp Asn Arg Val Trp Ile Glu Glu Asn Asp
3330 3335 3340
His Met Glu Asp Lys Thr Pro Val Thr Lys Trp Thr Asp Ile Pro Tyr
3345 3350 3355 3360
Leu Gly Lys Arg Glu Asp Leu Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly His Arg
3365 3370 3375
Pro Arg Thr Thr Trp Ala Glu Asn Ile Lys Asn Thr Val Asn Met Val
3380 3385 3390
Arg Arg Ile Ile Gly Asp Glu Glu Lys Tyr Met Asp Tyr Leu Ser Thr
3395 3400 3405
Gln Val Arg Tyr Leu Gly Glu Glu Gly Ser Thr Pro Gly Val Leu
3410 3415 3420

354
<211> 629
<212> PRT
[0103] <213> 人工序列
<220>
<223> ZIka prM80E.mmH
<400> 354
Met His Arg Pro Arg Arg Arg Gly Thr Arg Pro Pro Pro Leu Ala Leu
1 5 10 15
Leu Ala Ala Leu Leu Leu Ala Ala Arg Gly Ala Asp Ala Ala Glu Val
20 25 30
Thr Arg Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala
35 40 45
Gly Glu Ala Ile Ser Phe Pro Thr Thr Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr
50 55 60
Ile Gln Ile Met Asp Leu Gly His Met Cys Asp Ala Thr Met Ser Tyr
65 70 75 80
Glu Cys Pro Met Leu Asp Glu Gly Val Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys
85 90 95
Trp Cys Asn Thr Thr Ser Thr Trp Val Val Tyr Gly Thr Cys His His
100 105 110
Lys Lys Gly Glu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser
115 120 125
His Ser Thr Arg Lys Leu Gln Thr Arg Ser Gln Thr Trp Leu Glu Ser
130 135 140
Arg Glu Tyr Thr Lys His Leu Ile Arg Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg

145 150 155 160
Asn Pro Gly Phe Ala Leu Ala Ala Ala Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly
165 170 175
Ser Ser Thr Ser Gln Lys Val Ile Tyr Leu Val Met Ile Leu Leu Ile
180 185 190
Ala Pro Ala Tyr Ser Ile Arg Cys Ile Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe
195 200 205
Val Glu Gly Met Ser Gly Gly Thr Trp Val Asp Ile Val Leu Glu His
210 215 220
Gly Gly Cys Val Thr Val Met Ala Gln Asp Lys Pro Thr Val Asp Ile
225 230 235 240
Glu Leu Val Thr Thr Thr Val Ser Asn Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr
245 250 255
Cys Tyr Glu Ala Ser Ile Ser Asp Met Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro
260 265 270
Thr Gln Gly Glu Ala Tyr Leu Asp Lys Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val
275 280 285
Cys Lys Arg Thr Leu Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu
290 295 300
Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys
305 310 315 320
Lys Met Thr Gly Lys Ser Ile Gln Pro Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile
[0104] 325 330 335
Met Leu Ser Val His Gly Ser Gln His Ser Gly Met Ile Val Asn Asp
340 345 350
Thr Gly His Glu Thr Asp Glu Asn Arg Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro
355 360 365
Asn Ser Pro Arg Ala Glu Ala Thr Leu Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly
370 375 380
Leu Asp Cys Glu Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Ser Asp Leu Tyr Tyr
385 390 395 400
Leu Thr Met Asn Asn Lys His Trp Leu Val His Lys Glu Trp Phe His
405 410 415
Asp Ile Pro Leu Pro Trp His Ala Gly Ala Asp Thr Gly Thr Pro His
420 425 430
Trp Asn Asn Lys Glu Ala Leu Val Glu Phe Lys Asp Ala His Ala Lys
435 440 445
Arg Gln Thr Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Val His Thr
450 455 460
Ala Leu Ala Gly Ala Leu Glu Ala Glu Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg
465 470 475 480
Leu Ser Ser Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg
485 490 495
Leu Lys Gly Val Ser Tyr Ser Leu Cys Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr
500 505 510

Lys Ile Pro Ala Glu Thr Leu His Gly Thr Val Thr Val Glu Val Gln
515 520 525
Tyr Ala Gly Thr Asp Gly Pro Cys Lys Val Pro Ala Gln Met Ala Val
530 535 540
Asp Met Gln Thr Leu Thr Pro Val Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro
545 550 555 560
Val Ile Thr Glu Ser Thr Glu Asn Ser Lys Met Met Leu Glu Leu Asp
565 570 575
Pro Pro Phe Gly Asp Ser Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys
580 585 590
Ile Thr His His Trp His Arg Ser Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
595 600 605
Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His
610 615 620
His His His His His
625

355
<211> 624
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0105] <223> ZIka prM80E.BirA.6xHis
<400> 355
Met His Arg Pro Arg Arg Arg Gly Thr Arg Pro Pro Pro Leu Ala Leu
1 5 10 15
Leu Ala Ala Leu Leu Leu Ala Ala Arg Gly Ala Asp Ala Ala Glu Val
20 25 30
Thr Arg Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala
35 40 45
Gly Glu Ala Ile Ser Phe Pro Thr Thr Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr
50 55 60
Ile Gln Ile Met Asp Leu Gly His Met Cys Asp Ala Thr Met Ser Tyr
65 70 75 80
Glu Cys Pro Met Leu Asp Glu Gly Val Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys
85 90 95
Trp Cys Asn Thr Thr Ser Thr Trp Val Val Tyr Gly Thr Cys His His
100 105 110
Lys Lys Gly Glu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser
115 120 125
His Ser Thr Arg Lys Leu Gln Thr Arg Ser Gln Thr Trp Leu Glu Ser
130 135 140
Arg Glu Tyr Thr Lys His Leu Ile Arg Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg
145 150 155 160
Asn Pro Gly Phe Ala Leu Ala Ala Ala Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly

165 170 175
Ser Ser Thr Ser Gln Lys Val Ile Tyr Leu Val Met Ile Leu Leu Ile
180 185 190
Ala Pro Ala Tyr Ser Ile Arg Cys Ile Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe
195 200 205
Val Glu Gly Met Ser Gly Gly Thr Trp Val Asp Ile Val Leu Glu His
210 215 220
Gly Gly Cys Val Thr Val Met Ala Gln Asp Lys Pro Thr Val Asp Ile
225 230 235 240
Glu Leu Val Thr Thr Thr Val Ser Asn Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr
245 250 255
Cys Tyr Glu Ala Ser Ile Ser Asp Met Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro
260 265 270
Thr Gln Gly Glu Ala Tyr Leu Asp Lys Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val
275 280 285
Cys Lys Arg Thr Leu Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu
290 295 300
Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys
305 310 315 320
Lys Met Thr Gly Lys Ser Ile Gln Pro Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile
325 330 335
Met Leu Ser Val His Gly Ser Gln His Ser Gly Met Ile Val Asn Asp
[0106] 340 345 350
Thr Gly His Glu Thr Asp Glu Asn Arg Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro
355 360 365
Asn Ser Pro Arg Ala Glu Ala Thr Leu Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly
370 375 380
Leu Asp Cys Glu Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Ser Asp Leu Tyr Tyr
385 390 395 400
Leu Thr Met Asn Asn Lys His Trp Leu Val His Lys Glu Trp Phe His
405 410 415
Asp Ile Pro Leu Pro Trp His Ala Gly Ala Asp Thr Gly Thr Pro His
420 425 430
Trp Asn Asn Lys Glu Ala Leu Val Glu Phe Lys Asp Ala His Ala Lys
435 440 445
Arg Gln Thr Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Val His Thr
450 455 460
Ala Leu Ala Gly Ala Leu Glu Ala Glu Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg
465 470 475 480
Leu Ser Ser Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg
485 490 495
Leu Lys Gly Val Ser Tyr Ser Leu Cys Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr
500 505 510
Lys Ile Pro Ala Glu Thr Leu His Gly Thr Val Thr Val Glu Val Gln
515 520 525

Tyr Ala Gly Thr Asp Gly Pro Cys Lys Val Pro Ala Gln Met Ala Val
530 535 540
Asp Met Gln Thr Leu Thr Pro Val Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro
545 550 555 560
Val Ile Thr Glu Ser Thr Glu Asn Ser Lys Met Met Leu Glu Leu Asp
565 570 575
Pro Pro Phe Gly Asp Ser Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys
580 585 590
Ile Thr His His Trp His Arg Ser Gly Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile
595 600 605
Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu His His His His His His
610 615 620

356
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> hIgG1 恒定区
<400> 356
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
[0107] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

357

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

[0108] <220>

<223> hIgG4 us

<400> 357

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

[0109]

358
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 具有 YTE 的 hIgG4 us
<400> 358
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125
Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
[0110] 290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

359
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> mAb1 IgG1 HC
<400> 359
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
20 25 30
Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Ala Trp Ile
35 40 45
Gly Gly Ile Asp Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ser Pro Asn Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Arg Ser Leu Ser Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ile Tyr His Tyr Asp Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly
100 105 110
Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

[0111] Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

Lys

360

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> mAb1 IgG1 LC

<400> 360

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30

Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Ile Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Asp Tyr
65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Pro
[0112] 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

361

<211> 445

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> mAb2 IgG4 s HC

<400> 361

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Ala Trp Ile
35 40 45

Gly Gly Ile Asp Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ser Pro Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Arg Ser Leu Ser Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Tyr His Tyr Asp Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly
100 105 110

Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

[0113] Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

340 345 350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

362
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> mAb2 IgG4 s LC
<400> 362
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
[0114] 1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30
Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Ile Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Asp Tyr
65 70 75 80
Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

363
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> mAb3 IgG4 us HC
<400> 363
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
20 25 30
Thr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Ala Trp Ile
35 40 45
Gly Gly Ile Asp Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ser Pro Asn Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
[0115] Met Asp Leu Arg Ser Leu Ser Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ile Tyr His Tyr Asp Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly
100 105 110
Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln

260 265 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[0116] 435 440 445

364
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> mAb3 IgG4 us LC
<400> 364
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30
Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Ile Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Asp Tyr
65 70 75 80
Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

365

<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 无 YTE 的 IgG4s Fc
<400> 365

[0117]
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

366
<211> 326
[0118] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> IgG4s Fc + YTE
<400> 366
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
[0119] Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

367
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> H4H25703N HC（无 YTE 的 IgG4us）
<400> 367
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Gly Gly Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ile Gln

100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
210 215 220
Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255
Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
[0120] 275 280 285
Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320
Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
325 330 335
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
340 345 350
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400
Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
405 410 415
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

368

<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> H4H25703N LC
<400> 368

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

[0121]

```
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

369
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> H4H25703N HC (IgG4us + YTE)
<400> 369

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr
```

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

[0122]

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

370
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> H4H25619P HC（无 YTE 的 IgG4us）
<400> 370
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg His Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
[0123] Ala Ile Val Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Ser Tyr Ala Ala Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Gly Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
[0124] 405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

371
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> H4H25619P LC
<400> 371
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Thr Ile Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

372
<211> 446
<212> PRT
[0125] <213> 人工序列
<220>
<223> H4H25619P HC (IgG4us + YTE)
<400> 372
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg His Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Val Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Ser Tyr Ala Ala Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Gly Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

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

[0126]

373
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> H4H25598P HC（无 YTE 的 IgG4us）
<400> 373

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

[0127]

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

374

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> H4H25598P LC

<400> 374

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
[0128] 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ile Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Ser Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ile Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

375

<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> H4H25598P HC (IgG4us + YTE)
<400> 375

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

[0129]

Arg Glu Arg Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Asn Pro Tyr Gly Phe Asp Phe
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg
245 250 255
Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

[0130]

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

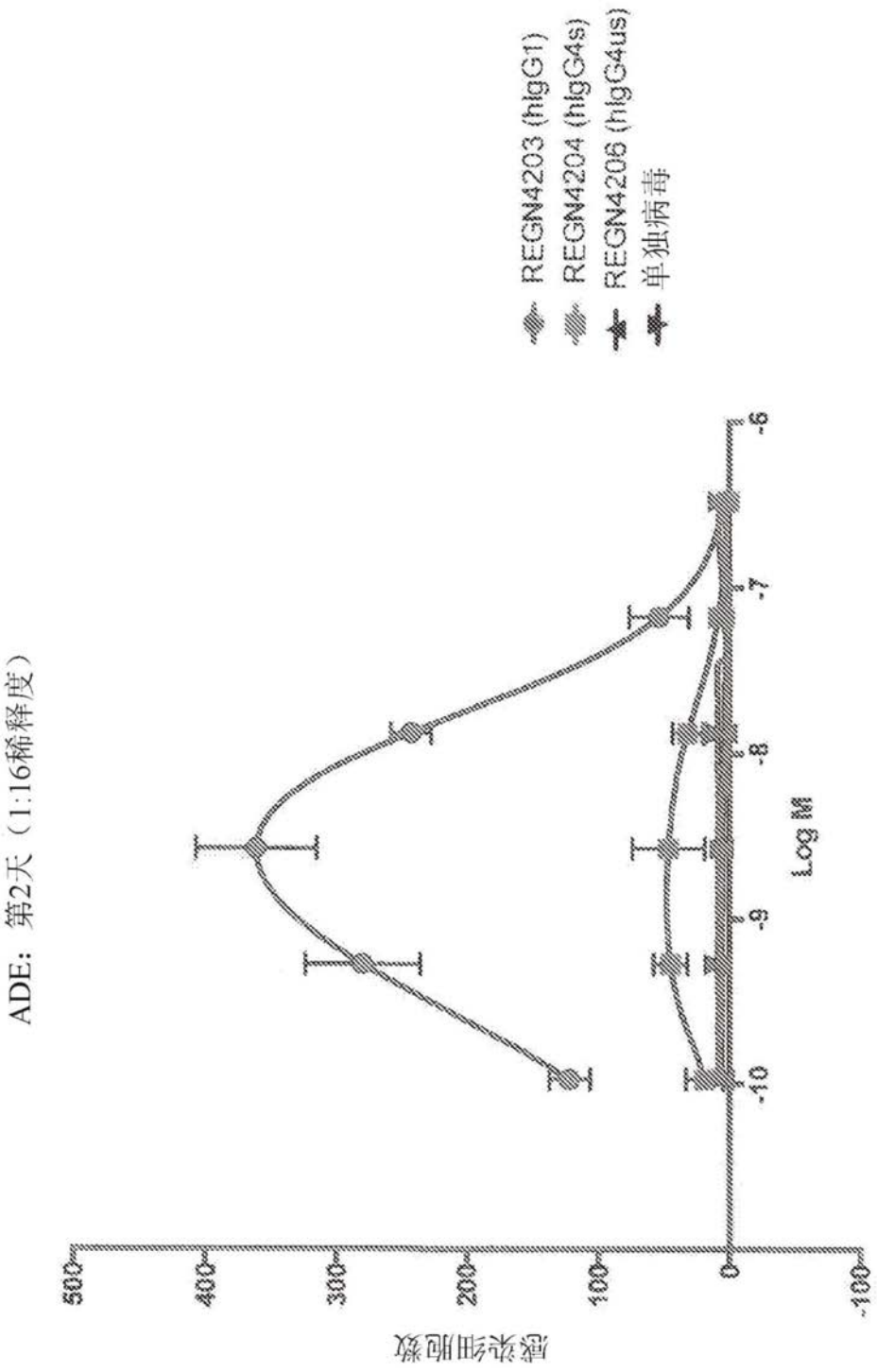

ADE：第2天（1:16稀释度）
REGN4203 (hIgG1)
REGN4204 (hIgG4s)
REGN4206 (hIgG4us)
单独病毒
感染细胞数
500
400
300
200
100
0
-100
-6
-7
-8
-9
-10
Log M

图1

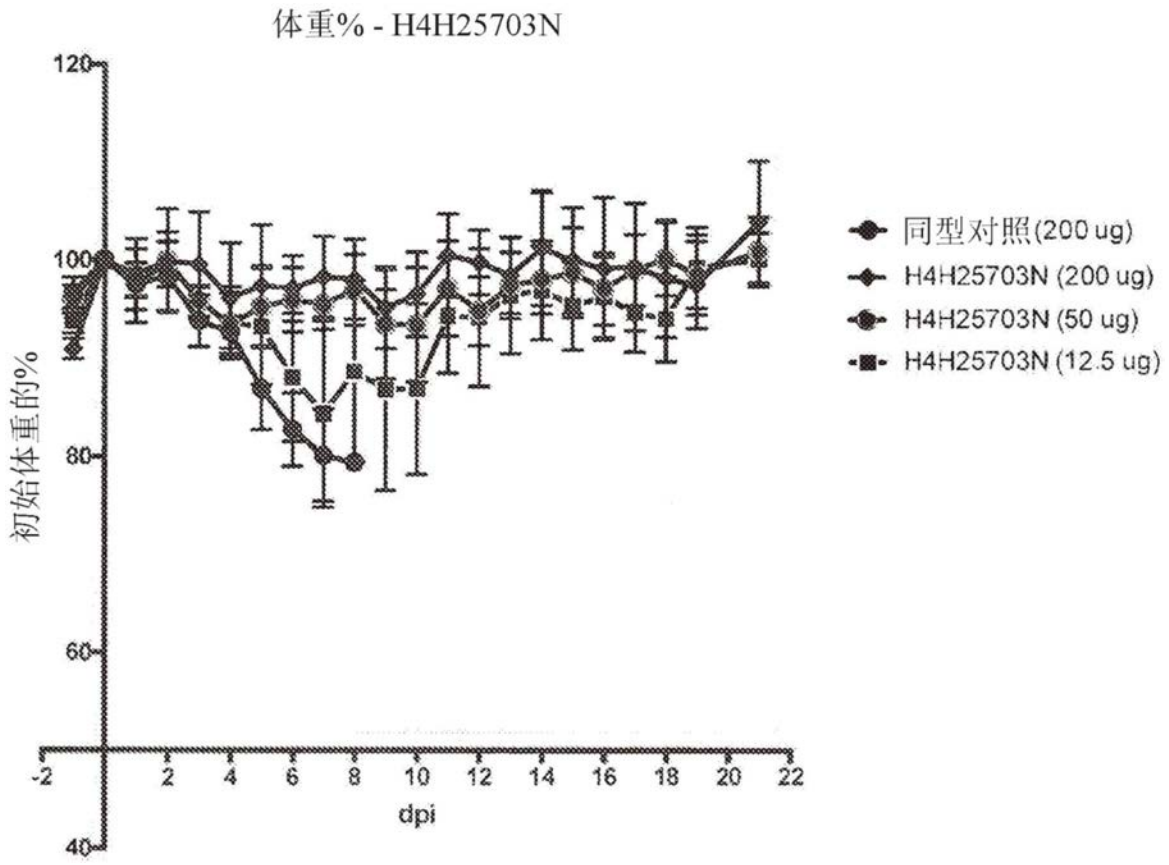

体重% - H4H25703N
120
100
80
60
40
初始体重的%
-2
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
dpi
同型对照(200 ug)
H4H25703N (200 ug)
H4H25703N (50 ug)
H4H25703N (12.5 ug)

图2

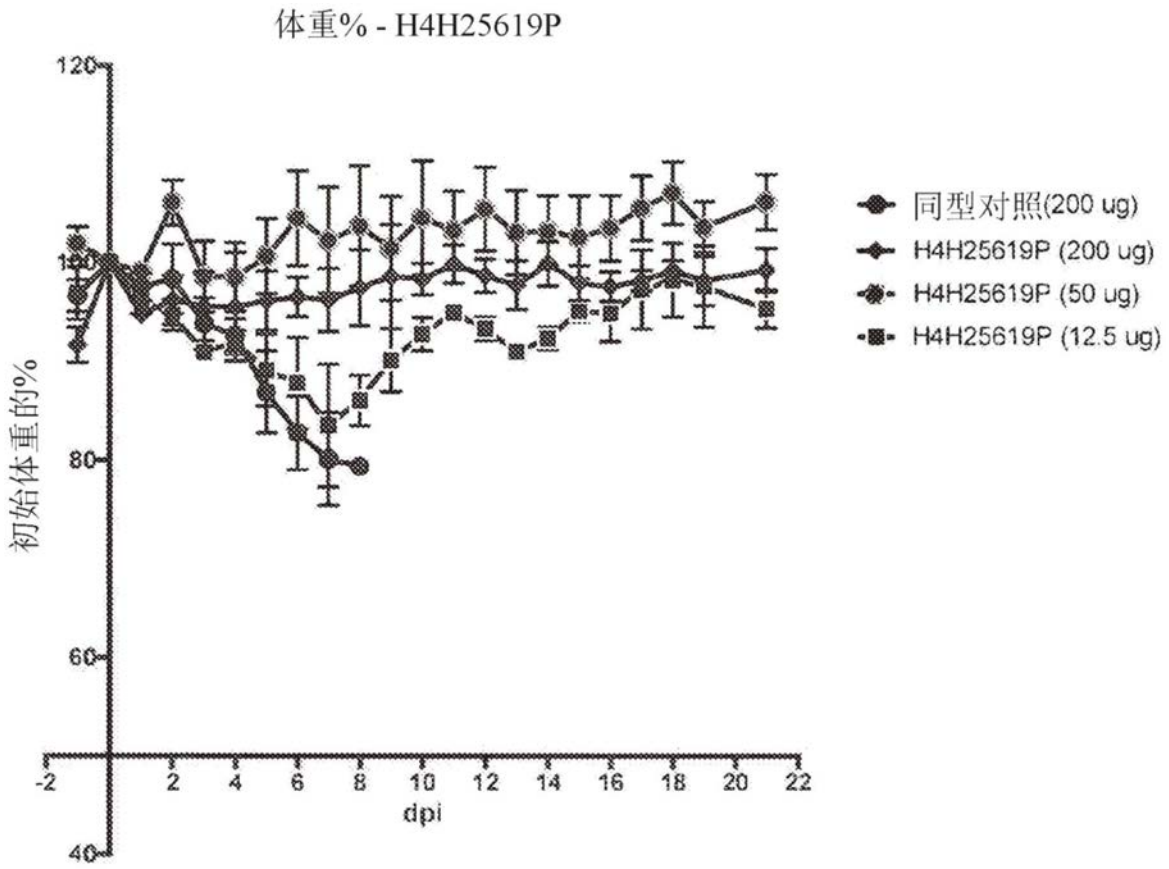

体重% - H4H25619P
120
100
80
60
40
初始体重的%
-2
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
dpi
同型对照(200 ug)
H4H25619P (200 ug)
H4H25619P (50 ug)
H4H25619P (12.5 ug)

图3

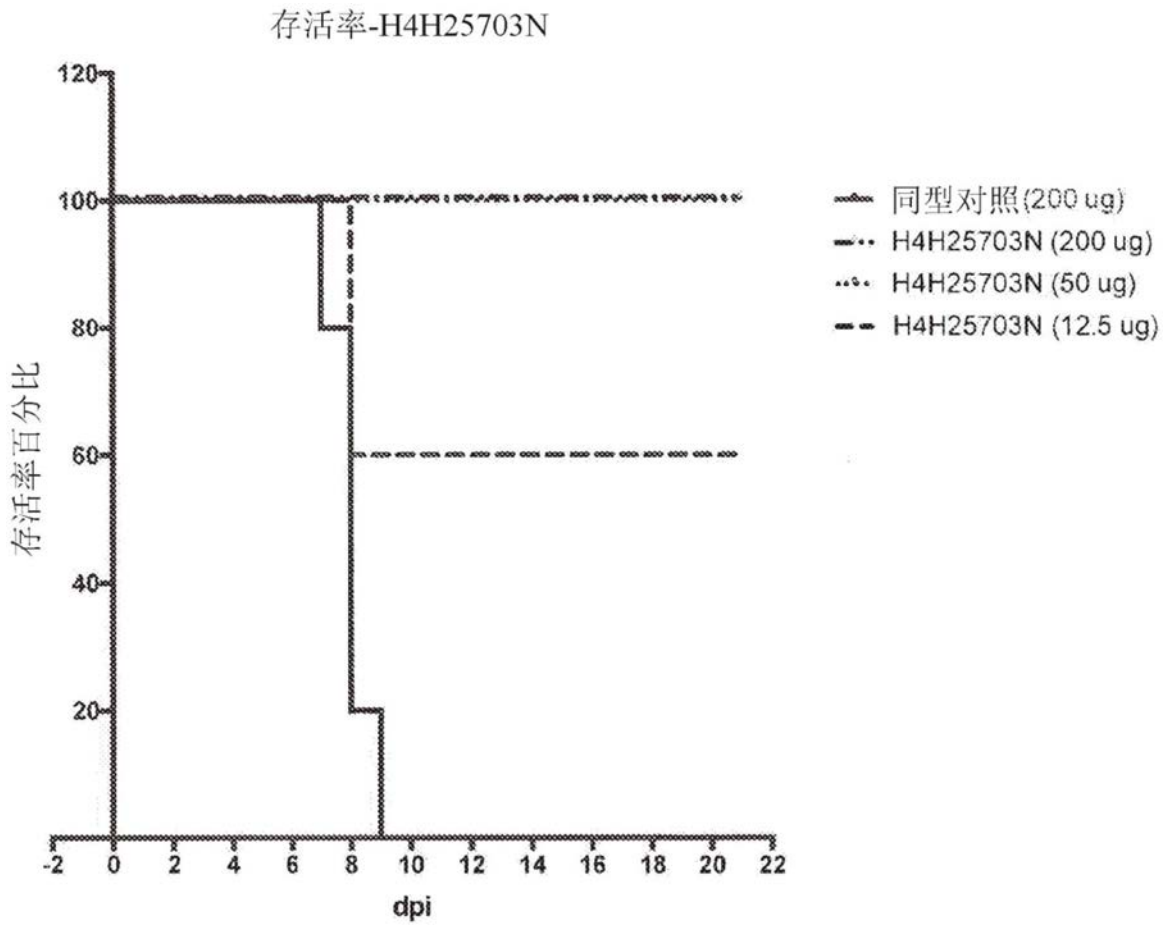

存活率-H4H25703N
120
100
80
60
40
20
存活率百分比
-2
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
dpi
同型对照(200 ug)
H4H25703N (200 ug)
H4H25703N (50 ug)
H4H25703N (12.5 ug)

图4

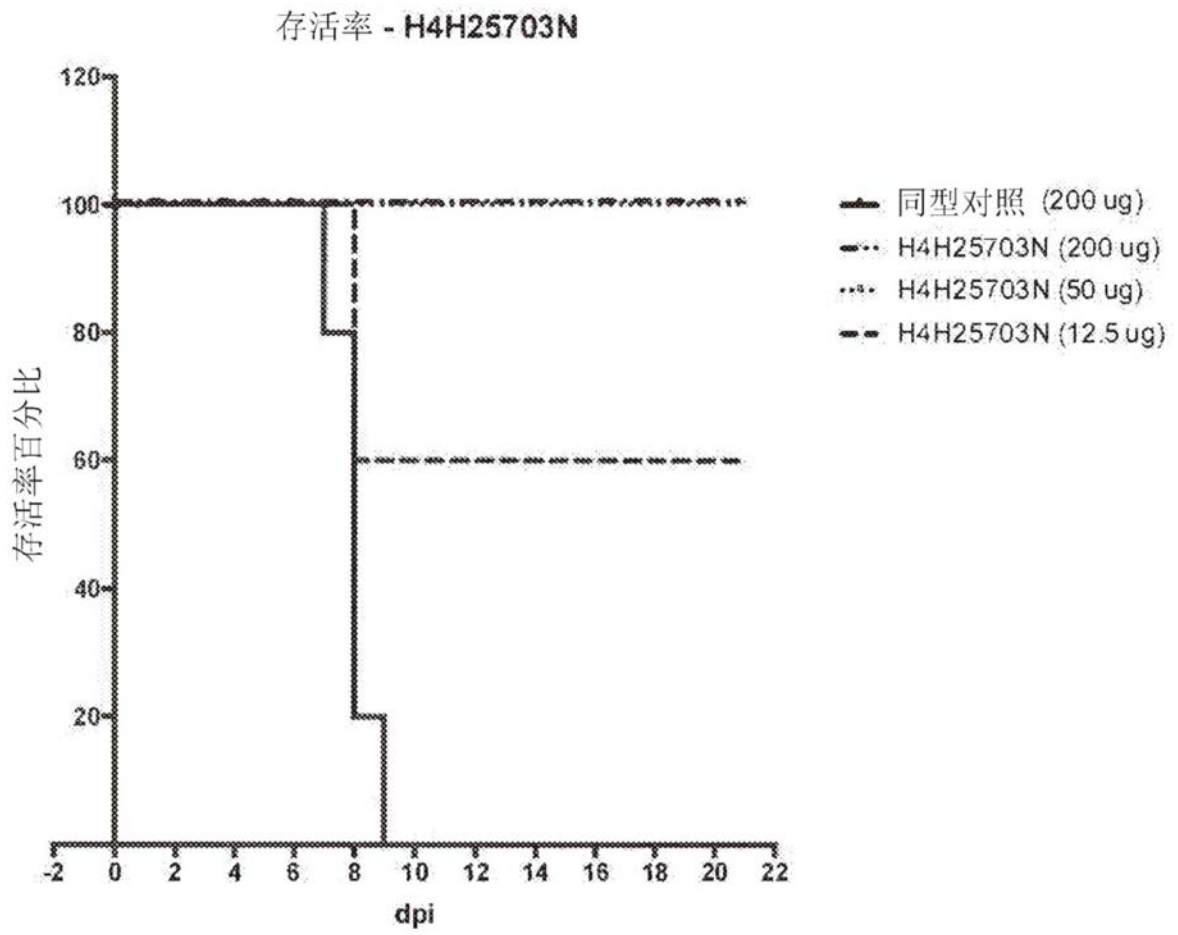

存活率 - H4H25703N
存活率百分比
dpi
同型对照 (200 ug)
H4H25703N (200 ug)
H4H25703N (50 ug)
H4H25703N (12.5 ug)

图5

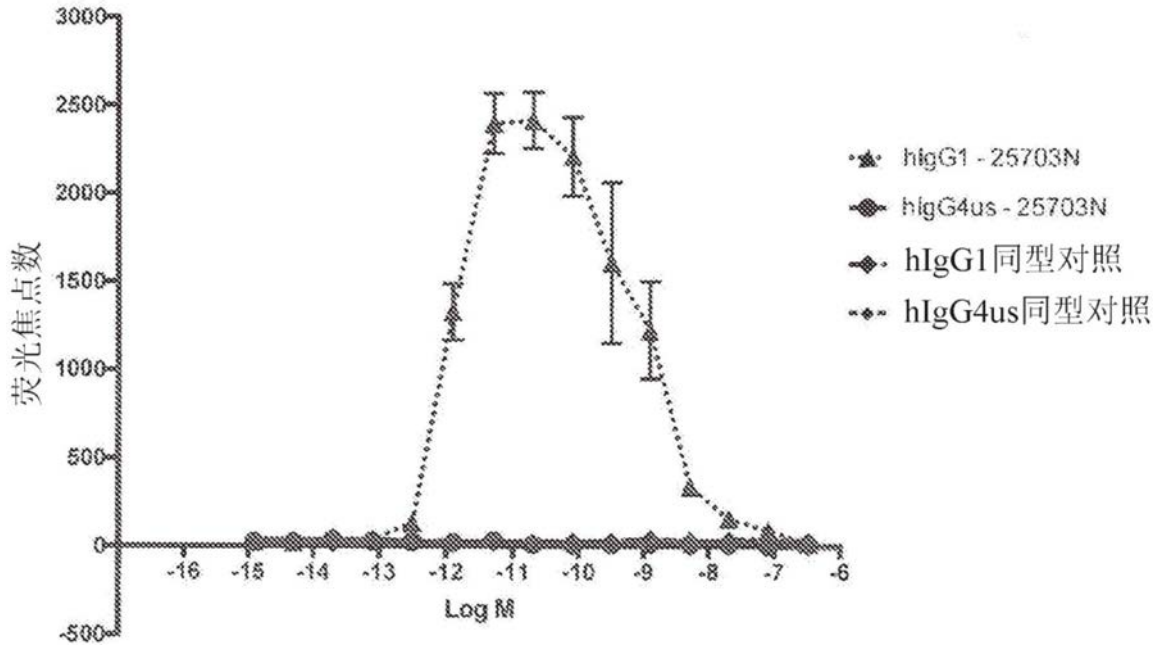

荧光焦点数
Log M
hIgG1 - 25703N
hIgG4us - 25703N
hIgG1同型对照
hIgG4us同型对照

图6

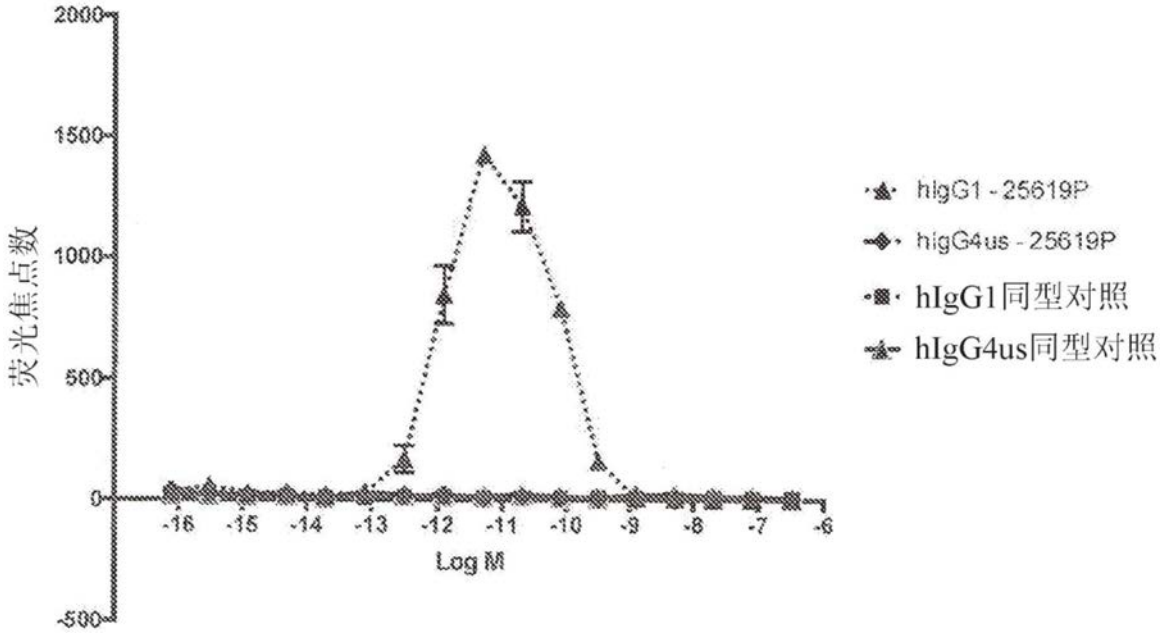

2000
1500
1000
500
0
-500
荧光焦点数
-16
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log M
higG1-25619P
higG4us-25619P
hIgG1同型对照
hIgG4us同型对照

图7

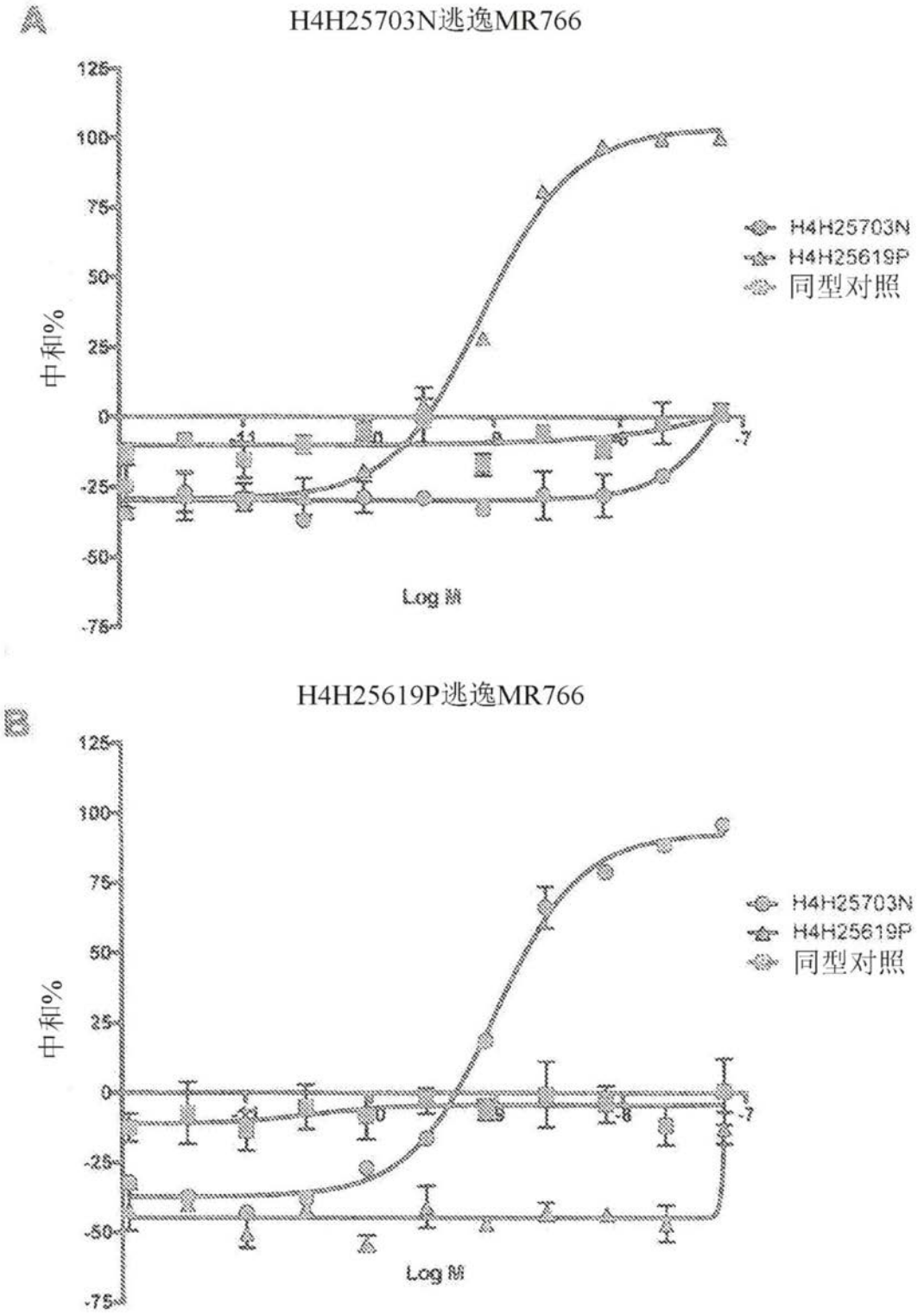

A
H4H25703N逃逸MR766
中和%
Log M
H4H25703N
H4H25619P
同型对照
B
H4H25619P逃逸MR766
中和%
Log M
H4H25703N
H4H25619P
同型对照

图8