



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110234661 B

(45) 授权公告日 2024. 03. 29

(21) 申请号 201780085281.7

(22) 申请日 2017.12.01

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110234661 A

(43) 申请公布日 2019.09.13

(30) 优先权数据
62/428,672 2016.12.01 US
62/457,267 2017.02.10 US
62/569,773 2017.10.09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.07.31

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/064215 2017.12.01

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/102682 EN 2018.06.07

(73) 专利权人 瑞泽恩制药公司
地址 美国纽约州

(72) 发明人 M·凯利 D·马 W·奥尔森
G·瑟斯顿

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所
11517

专利代理师 吴瑜 顾云峰

(51) Int.Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 51/00 (2006.01)

(56) 对比文件
W0 2016162368 A1,2016.10.13
W0 2014133093 A1,2014.09.04
CN 106068275 A,2016.11.02
CN 101213297 A,2008.07.02
CN 101248089 A,2008.08.20
Anders Josefsson,et al.Imaging,
Biodistribution,and Dosimetry of
Radionuclide-labeled PD-L1 antibody in an
immunocompetent mouse model of breast
cancer.《Cancer Research》.2016,第76卷(第2
期),第472至479页.

审查员 杨卓一

权利要求书4页 说明书46页
序列表96页 附图12页

(54) 发明名称

用于免疫PET成像的放射性标记的抗-PD-L1
抗体

(57) 摘要

本申请提供了放射性标记的抗-PD-L1抗体
及其在免疫-PET成像中的用途。包括了检测患者
或样品中PD-L1蛋白存在情况的方法。

1. 一种放射性标记的抗体缀合物,所述缀合物包含结合单体人程序性死亡配体1 (PD-L1)的抗体或其抗原结合片段、螯合部分和正电子发射体,其中;

(i) 所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区HCVR,所述重链可变区HCVR包

含:氨基酸序列为SEQ ID NO:84的重链互补决定区HCDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:86的HCDR2,和氨基酸序列为SEQ ID NO:88的HCDR3;以及轻

链可变区LCVR,所述轻链可变区LCVR包含:氨基酸序列为SEQ ID NO:92的轻链互补决定区LCDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:94的LCDR2,和氨基酸序列为SEQ ID NO:96的LCDR3;

(ii) 所述螯合部分包含去铁胺;并且

(iii) 所述正电子发射体是 ^{89}Zr 。

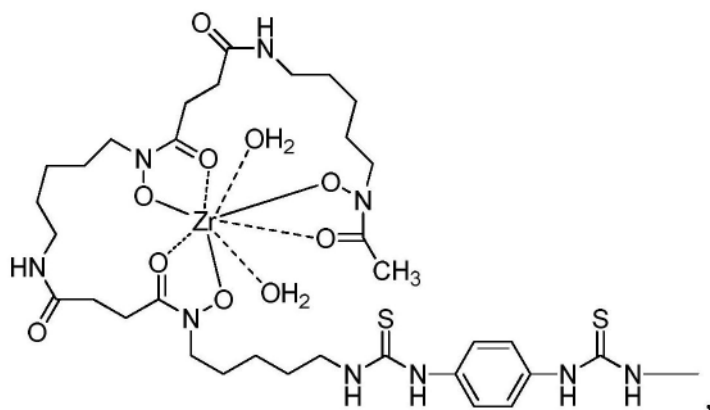
2. 根据权利要求1所述的缀合物,其中所述抗体或其抗原结合片段与如式(A)所示的一个或多个部分共价键合:



(A)

其中L是所述螯合部分;M是所述正电子发射体;以及z在每次出现时独立地为0或1;和其中至少一个z是1。

3. 根据权利要求2所述的缀合物,其中-L-M是



且Zr是正电子发射体 ^{89}Zr 。

4. 根据权利要求1-3中任意一项所述的缀合物,其中抗体或其抗原结合片段与式(A)的1个、2个或3个部分共价键合。

5. 根据权利要求1-4中任意一项所述的缀合物,其中所述抗体或其抗原结合片段具有选自下组的一种或多种性质:

(a) 如在37°C下在表面等离子体共振测定中所测量的,以小于310pM的结合解离平衡常数(K_D)结合单体PD-L1;

(b) 在25°C下在表面等离子共振测定中,以小于180pM的 K_D 结合单体人PD-L1;

(c) 如在37°C下在表面等离子共振测定中所测量的,以小于15pM的 K_D 结合二聚人PD-L1;和

(d) 在25°C下在表面等离子共振测定中,以小于8pM的 K_D 结合二聚人PD-L1。

6. 根据权利要求1-5中任意一项所述的缀合物,其中所述缀合物包含氨基酸序列为SEQ ID NO:82的HCVR。

7. 根据权利要求1-5中任意一项所述的缀合物,其中所述缀合物包含氨基酸序列为SEQ ID NO:90的LCVR。

8. 根据权利要求1-7中任意一项所述的缀合物,其中所述缀合物包含氨基酸序列对为 SEQ ID NO:82/90的HCVR/LCVR。

9. 一种对表达PD-L1的组织进行成像的方法,所述方法包括向所述组织施用权利要求1-8中任意一项所述的放射性标记的抗体缀合物;和通过正电子发射断层扫描(PET)成像来可视化PD-L1的表达情况。

10. 根据权利要求1-8中任一项所述的放射性标记的抗体缀合物在制备用于治疗肿瘤的方法的药物中的用途,所述方法包括:

(a) 选择具有实体瘤的对象;

(b) 通过向所述对象施用所述放射性标记的抗体缀合物而确定所述实体瘤为PD-L1阳性;

通过正电子发射断层扫描(PET)成像来对所述放射性标记的抗体缀合物在所述肿瘤中的定位成像,其中所述肿瘤中存在所述放射性标记的抗体缀合物指示所述肿瘤是PD-L1阳性;和

(c) 将一个或多个剂量的PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂施用于需要其的所述对象。

11. 根据权利要求10所述的用途,其中向所述对象施用0.1-10mg/kg的所述放射性标记的抗体缀合物。

12. 根据权利要求10或11所述的用途,其中所述放射性标记的抗体缀合物经皮下或静脉内向所述对象施用。

13. 根据权利要求10或11中任意一项所述的用途,其中在施用所述放射性标记的抗体缀合物后2-7天进行PET成像。

14. 根据权利要求10-13中任意一项所述的用途,其中在给予所述对象所述PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂之前进行步骤(b)。

15. 根据权利要求10-13中任意一项所述的用途,还包括:

(a) 在给予所述对象至少一个剂量的所述PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂之后施用所述放射性标记的抗体缀合物;和

(b) 通过PET成像在所述肿瘤中对所述放射性标记的抗体缀合物的定位进行成像,其中在所述肿瘤中所述放射性标记的抗体缀合物的定位面积与基线相比缩小则表明肿瘤消退。

16. 根据权利要求15所述的用途,其中在施用所述PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂后1-20周向所述对象施用所述放射性标记的抗体缀合物。

17. 根据权利要求10-16中任意一项所述的用途,其中所述肿瘤选自下组:脑癌、肾细胞癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、肝细胞癌、骨癌、结肠癌、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌、结直肠癌、间皮瘤和黑色素瘤。

18. 根据权利要求10-17中任意一项所述的用途,其中所述PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂是抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

19. 根据权利要求18所述的用途,其中所述抗PD-1抗体选自下组:纳武单抗、帕博利珠单抗和REGN2810。

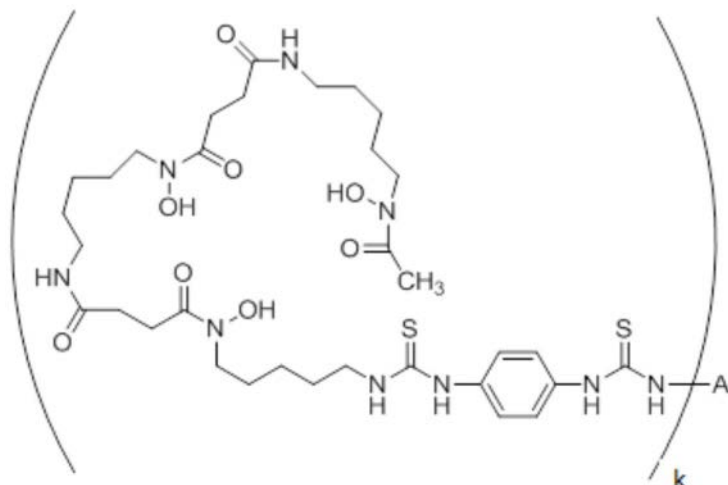
20. 根据权利要求10-17中任意一项所述的用途,其中所述PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

21. 根据权利要求20所述的用途,其中所述抗PD-L1抗体是阿特殊单抗。

22. 根据权利要求20所述的用途,其中所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:82所示的HCVR氨基酸序列,和SEQ ID NO:90所示的LCVR氨基酸序列。

23. 根据权利要求20所述的用途,其中所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含如SEQ ID NO:84所示的HCDR1氨基酸序列,如SEQ ID NO:86所示的HCDR2氨基酸序列,如SEQ ID NO:88所示的HCDR3氨基酸序列;如SEQ ID NO:92所示的LCDR1氨基酸序列,如SEQ ID NO:94所示的LCDR2氨基酸序列,和如SEQ ID NO:96所示的LCDR3氨基酸序列。

24. 一种式(III)所示的化合物:



其中A是结合PD-L1的抗体或其抗原结合片段,其包含

SEQ ID NO:84所示的HCDR1;

SEQ ID NO:86所示的HCDR2;

SEQ ID NO:88所示的HCDR3;

SEQ ID NO:92所示的LCDR1;

SEQ ID NO:94所示的LCDR2;和

SEQ ID NO:96所示的LCDR3;

并且,k是1-30的整数。

25. 根据权利要求1-8中任一项所述的放射性标记的抗体缀合物在制备用于监测抗肿瘤疗法的方法的药物中的用途,所述方法包括(a)将所述放射性标记的缀合物施用于有需要的对象,和(b)通过正电子发射断层扫描(PET)成像对PD-L1的定位进行成像。

26. 根据权利要求25所述的用途,其中所述的方法进一步包括(c)通过CT扫描对所述肿瘤成像。

27. 根据权利要求25所述的用途,其中所述抗肿瘤疗法包含PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂,LAG3的抑制剂,CTLA4的抑制剂。

28. 根据权利要求25所述的用途,其中所述放射性标记的抗体缀合物以0.1-10mg/kg施用于所述对象。

29. 根据权利要求28所述的用途,其中所述放射性标记的抗体缀合物皮下注射或静脉注射于所述对象。

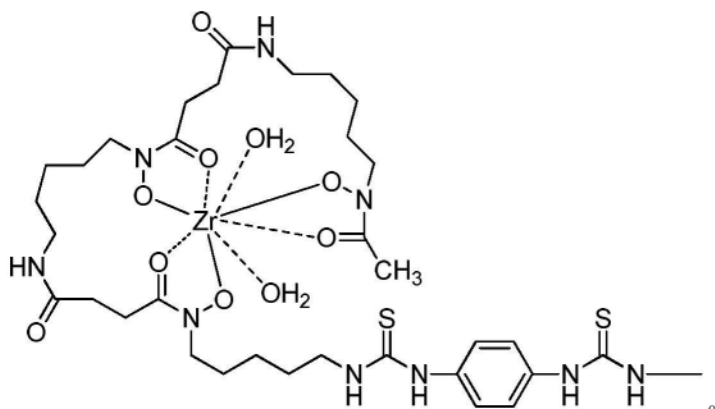
30. 根据权利要求25所述的用途,其中在施用所述放射性标记的缀合物后2-7天实施PET成像。

31. 根据权利要求25所述的用途,其中在用抗肿瘤疗法治疗所述对象之前,确定PD-L1定位的基线。

32. 根据权利要求25-31中任一项所述的用途,其中所述肿瘤选自:脑癌、肾细胞癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、肝细胞癌、骨癌、结肠癌、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌、结直肠癌、间皮瘤和黑色素瘤。

33. 根据权利要求25所述的用途,其中PD-L1表达下降表明肿瘤消退。

34. 一种放射性标记的抗体缀合物,所述缀合物包含结合人程序性死亡配体1 (PD-L1) 的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段包含氨基酸序列为SEQ ID NO:84的HCDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:86的HCDR2,氨基酸序列为SEQ ID NO:88的HCDR3;氨基酸序列为SEQ ID NO:92的LCDR1,氨基酸序列为SEQ ID NO:94的LCDR2,和氨基酸序列为SEQ ID NO:96的LCDR3;并且其中所述抗体或其抗原结合片段缀合至:



用于免疫PET成像的放射性标记的抗-PD-L1抗体

发明领域

[0001] 本公开内容涉及放射性标记的抗-PD-L1抗体及其在免疫-PET成像中的用途。

[0002] 序列表

[0003] 序列表的正式副本通过EFS-Web以电子形式与说明书同时提交,序列表为ASCII格式,文件名为“10305W001_SEQ_LIST_ST25.txt”,创建日期为2017年12月01日,大小约为117KB。该ASCII格式文档中包含的序列表为本说明书的一部分,并且其全部内容通过引用并入本申请。

背景技术

[0004] 程序性死亡配体(PD-L1)(也称为B7-H1或CD274)是在淋巴和非淋巴组织二者(例如CD4和CD8T细胞、巨噬细胞谱系细胞、外周组织)以及在肿瘤细胞和病毒感染的细胞上广泛表达的290个氨基酸的蛋白受体配体(Dong等,1999,Nature Med.)。PD-L1结合PD-1和B7-1受体,二者属于T细胞共抑制受体的CD28/CTLA-4(细胞毒性T淋巴细胞抗原)/ICOS(可诱导的共刺激物)家族(Chen等2013,Nature Rev.Immunol.13:227-242),并通过抑制T细胞活化来减弱免疫应答。PD-L1与PD-1或B7-1的结合导致T细胞增殖和细胞因子分泌降低,损害在疾病(例如癌症和病毒感染)中的体液和细胞免疫应答。肿瘤和慢性病毒感染利用肿瘤细胞和病毒感染的细胞上PD-L1的表达来逃避免疫应答。PD-L1在多种肿瘤上表达,并且对动物模型的研究已经表明,肿瘤上的PD-L1抑制T细胞活化和肿瘤细胞的裂解,并可能导致肿瘤特异性T细胞的死亡增加。在慢性病毒感染中,在病毒感染的细胞上表达的PD-L1与病毒特异性T细胞上的PD-1结合,这些T细胞随着效应物功能和增殖能力的丧失而变得“耗竭(exhausted)”(Freeman 2008,PNAS 105:10275-10276)。PD-1:PD-L1系统还在诱导性T调节(Treg)细胞发育和维持Treg功能方面起重要作用(Francisco等2010,Immunol.Rev.236:219-242)。已经在癌症和慢性病毒感染的治疗中研究了用拮抗剂(包括单克隆抗体)阻断PD-L1(Ribas 2012,NEJM 366:2517-2519;Freeman 2008,PNAS 105:10275-10276;Sheridan 2012,Nature Biotechnology30:729-730)。

[0005] 免疫正电子发射断层扫描(PET)是一种诊断成像工具,其利用正电子发射体标记的单克隆抗体,将抗体的靶向性质与正电子发射断层扫描照相机的灵敏度相结合。参见例如,The Oncologist,12:1379(2007);Journal of Nuclear Medicine,52(8):1171(2011)。免疫-PET能够在体内对抗原和抗体的积累进行可视化和定量,因此可以作为诊断和补充治疗的重要工具。例如,免疫-PET能够帮助选择针对特定疗法的潜在候选患者,以及帮助监测治疗。

[0006] 由于PD1和PD-L1均已成为了免疫疗法的靶点,因而需要针对抗-PD1和/或抗-PD-L1疗法的诊断工具,尤其是包括能够检测适用于所述疗法的候选患者的诊断工具。

发明内容

[0007] 在本公开内容中包括了用于免疫-PET成像的放射性标记的抗-PD-L1抗体缀合物。

[0008] 在一个方面中,所述缀合物包含抗-PD-L1抗体或其抗原结合片段、螯合部分和正电子发射体。

[0009] 本申请还提供了用于合成所述缀合物的方法以及用于其的合成中间体。

[0010] 本申请还提供了使表达PD-L1的组织成像的方法,所述方法包括向所述组织施用本申请所述的放射性标记的抗-PD-L1抗体缀合物;和通过正电子发射断层扫描(PET)成像可视化PD-L1的表达情况。

[0011] 本申请还提供了用于检测组织中PD-L1的方法,所述方法包括向所述组织施用本申请所述的放射性标记的抗-PD-L1抗体缀合物;和通过PET成像可视化PD-L1的表达情况。在一个实施方式中,所述组织存在于人类对象中。在某些实施方式中,所述对象是非人哺乳动物。在某些实施方式中,所述对象患有疾病或病症,如癌症、炎性疾病或感染。

[0012] 在一些方面中,向所述对象施用5mg、或10mg、或20mg剂量的放射性标记的抗-PD-L1抗体缀合物。

[0013] 本申请还提供了用于鉴定患者适用于包含PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法的方法,所述方法包括选择患有实体瘤的患者,施用本申请所述的放射性标记的抗体缀合物,和通过PET成像将在所述肿瘤中的所施用的放射性标记的抗体缀合物可视化,其中当在所述肿瘤中存在所述放射性标记的抗体缀合物时,将所述患者鉴定为适用于包含所述PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法。

[0014] 本申请还提供了治疗肿瘤的方法,所述方法包括选择患有实体瘤的对象;确定所述实体瘤是PD-L1-阳性的;以及向需要其的所述对象施用抗肿瘤疗法。在某些实施方式中,所述抗肿瘤疗法包含所述PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂(例如,抗-PD-1抗体或抗-PD-L1抗体)。在某些实施方式中,向所述对象施用本申请所述的放射性标记的抗体缀合物,以及通过正电子发射断层扫描(PET)成像对所述放射性标记的抗体缀合物进行定位成像,以确定所述肿瘤是否是PD-L1-阳性的。

[0015] 本申请还提供了用于监测抗肿瘤疗法在对象中的有效性的方法,其中所述方法包括选择患有实体瘤的对象,其中使用抗肿瘤疗法对所述对象进行治疗;向所述对象施用本申请所述的放射性标记的缀合物;通过PET成像对在所述肿瘤中所施用的放射性标记的缀合物的定位进行成像;以及确定肿瘤的生长情况,其中与基线相比所述缀合物的摄取减少或放射性标记的信号减弱表明肿瘤消退和所述抗肿瘤疗法的有效性。在某些实施方式中,所述抗肿瘤疗法包含所述PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂(例如,抗-PD-1抗体)。

[0016] 本申请还提供了用于预测患者对包含PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法的应答的方法,所述方法包括选择患有实体瘤的患者;以及确定所述肿瘤是否是PD-L1阳性的,其中如果所述肿瘤是PD-L1阳性的,则表明所述患者对包含PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法产生积极应答。在某些实施方式中,通过施用本公开内容的放射性标记的抗体缀合物并且通过PET成像,在肿瘤中对所述放射性标记的抗体缀合物进行定位确定所述肿瘤是阳性的,其中在所述肿瘤中存在所述放射性标记的抗体缀合物表明所述肿瘤是PD-L1阳性的。

附图说明

[0017] 图1描述了未经修饰的抗-PD-L1抗体和抗-PD-L1DF0修饰的抗体的SDS-PAGE和

SEC。

[0018] 图2A和2B描述了在研究1中⁸⁹Zr放射性标记后的放射性-SEC-HPLC。

[0019] 图3描述了在研究2中⁸⁹Zr放射性标记后DF0-缀合物(抗-PD-L1)的放射性-SEC-HPLC。

[0020] 图4描述了在研究3中⁸⁹Zr放射性标记后的放射性-SEC-HPLC。

[0021] 图5描述了在研究1中⁸⁹Zr放射性标记后的UV280-SEC-HPLC色谱图和放射性-iTLC示踪。

[0022] 图6A、6B、6C和6D显示了如本申请实施例5中所述的肿瘤细胞系MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1-/-hPD-L1^{Tg}(图6A), LOX-IMVI(图6B), MDA-MB-231(图6C)和SK-Br-3(图6D)中hPD-L1的体外表达情况。

[0023] 图7显示了如本申请实施例5中所述的在第二项实验中使用或不使用干扰素 γ 处理的MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1-/-hPD-L1^{Tg}和LOX-IMVI肿瘤细胞中hPD-L1的体外表达情况。

[0024] 图8描述了使用来自用于A、B、D和E中所示的研究⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的放射性免疫缀合物制备物,以及用于C和F中所示的研究的同种型对照的放射性免疫缀合物⁸⁹Zr-DF0-IgG4P的样品通过SEC-HPLC分析产生的色谱图。280nm处吸光度的色谱图如A-C中所示; γ -发射强度的放射性色谱图如D-F中所示。在A-C中,还检测到有缓冲液成分被洗脱。将样品缓冲液中的盐的这些峰(保留时间>25min,星号“*”)从峰面积的积分中排除。对峰进行标记以显示HMW(高分子量)的免疫缀合物(“1”),单体免疫缀合物(“2”),未掺入的⁸⁹Zr(“3”)和样品缓冲液中的盐(“*”)。缩写:mAU=毫吸收单位;cps=每秒计数。

[0025] 图9提供了在PD-1hu/hu-PD-L1hu/hu小鼠中⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的离体生物分布数据。在第0天单次IV给予16只小鼠(2组,每组8只动物)50 μ Ci(1mg/kg)⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物,并在给药后第6天(黑色柱)或第10天(灰色柱)处死小鼠。对通过心脏穿刺收集的血液和所示的收集的组织进行称重和确定其放射性。对在第6天或第10天收集的个体样品,计算相比于来自注射材料(⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物)剂量标准品的放射性和个体样品的重量的,每克注射剂量百分比(%ID/g)的值。数据以平均值 \pm SD作图。

具体实施方式

[0026] I. 定义

[0027] 除非在本申请中另有定义,否则本申请使用的所有技术和科学术语都具有与本发明所属领域普通技术人员通常所理解的相同的含义。

[0028] 术语“PD-L1”是指程序性死亡配体1,也称为CD274和B7H1。全长PD-L1的氨基酸序列在GenBank中以登录号NP_054862.1提供。术语“PD-L1”还包括PD-L1的蛋白变体。术语“PD-L1”包括重组PD-L1或其片段。该术语还涵盖偶联了例如组氨酸标签、小鼠或人Fc、或信号序列(如ROR1)的PD-L1或其片段。例如,该术语包括在C-末端包含小鼠Fc(mIgG2a)或人Fc(hIgG1)与全长PD-L1(NP_054862.1)的19-239位氨基酸残基偶联的序列。蛋白质变体包含在C-末端的组氨酸标签与NP_054862.1的19-239位氨基酸残基相偶联。除非指定来自非人物种,否则术语“PD-L1”意指人PD-L1。PD-L1是具有胞外IgV样和IgC样结构域(全长PD-L1的氨基酸19-239)、跨膜结构域和约30个氨基酸的胞内结构域的290个氨基酸的蛋白质。PD-L1在许多细胞例如抗原呈递细胞(例如,树突细胞、巨噬细胞和B细胞)上以及造血细胞和非造

血细胞(例如,血管内皮细胞、胰岛、和免疫赦免部位)上组成型表达。PD-L1也在多种肿瘤和病毒感染的细胞上表达,并且是免疫抑制环境(immunosuppressive milieu)的组成部分(Ribas 2012,NEJM 366:2517-2519)。PD-L1与两种T细胞共抑制剂PD-1和B7-1之一结合。

[0029] 术语“PD-1”是指程序性死亡-1蛋白、T细胞共抑制剂,也称为CD279。全长PD-1的氨基酸序列在GenBank中以登录号NP_005009.2提供。该术语还涵盖与例如组氨酸标签、小鼠或人Fc、或信号序列(如ROR1)偶联的PD-1或其片段。例如,该术语包括在其C-末端包含小鼠Fc(mIgG2a)或人Fc(hIgG1)与NP_005009.2的25-170位氨基酸残基(具有C93S变化)偶联的序列。PD-1是T细胞共抑制剂的CD28/CTLA-4/ICOS家族的成员。PD-1是具有IgV样的胞外N-末端结构域、跨膜结构域和胞内结构域的288个氨基酸的蛋白质,所述胞内结构域含有基于免疫受体酪氨酸的抑制(ITIM)基序和基于免疫受体酪氨酸的开关(ITSM)基序(Chattopadhyay等2009,Immunol.Rev.)。PD-1受体具有两个配体PD-L1和PD-L2。

[0030] 术语“B7-1”是指T淋巴细胞活化抗原,也称为共刺激因子CD80。B7-1是具有包含IgV样(氨基酸37-138)和IgC样(氨基酸154-232)区的胞外N-末端结构域、跨膜结构域(氨基酸243-263)和C末端胞内区(氨基酸263-288)的288个氨基酸的膜受体。全长B7-1的氨基酸序列在GenBank中以登录号NP_005182.1提供。

[0031] 如本申请所使用的,术语“T细胞共抑制剂”是指通过T细胞活化或抑制调节免疫应答的配体和/或受体。术语“T细胞共抑制剂”也称为T细胞共信号传导分子,其包括但不限于:PD-1、淋巴细胞活化基因3蛋白(LAG-3,也称为CD223)、细胞毒性T淋巴细胞抗原-4(CTLA-4)、B和T淋巴细胞弱化子(B and T lymphocyte attenuator,BTLA)、CD-28、2B4、LY108、T细胞免疫球蛋白和粘蛋白-3(TIM3)、具有免疫球蛋白和ITIM的T细胞免疫受体(TIGIT;也称为VSIG9)、白细胞相关的免疫球蛋白样受体1(LAIR1;也称为CD305)、诱导性T细胞共刺激因子(ICOS;也称为CD278)、B7-1(CD80)和CD160。

[0032] 如本申请中所使用,术语“抗体”意指由四条多肽链(通过二硫键连接的两条重链(H)和两条轻链(L))构成的免疫球蛋白分子(即“全抗体分子”)以及其多聚体(例如,IgM)或其抗原结合片段。每条重链由重链可变区(“HCVR”或“V_H”)和重链恒定区(由结构域C_H1、C_H2和C_H3构成)构成。每条轻链由轻链可变区(“LCVR”或“V_L”)和轻链恒定区(C_L)构成。V_H和V_L区可进一步细分成称为互补决定区(CDR)的高变区,其间隔有称为框架区(FR)的更保守的区域。每个V_H和V_L由三个CDR和四个FR构成,其以如下顺序从氨基端向羧基端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在某些实施方式中,抗体(或其抗原结合片段)的FR可以与人种序列相同,或者可以是天然的或经人工修饰的。氨基酸共有序列可以基于两个或更多个CDR的并列分析来确定。

[0033] 可以替换一个或更多个CDR残基或省去一个或更多个CDR。已有科学文献描述了一些抗体,其中的一个或两个CDR对于结合而言不是必须的。Padlan等(1995FASEB J.9:133-139)根据已经发表的晶体结构分析了抗体与其抗原之间的接触区,并得出结论,只有约五分之一到三分之一的CDR残基实际接触抗原。Padlan还发现许多抗体中有一个或两个CDR没有氨基酸与抗原接触(还参见,Vajdos等,2002J Mol Biol 320:415-428)。

[0034] 可以基于先前的研究(例如CDRH2中的残基H60-H65通常是不需要的),通过分子建模和/或经验,从位于Chothia CDR外侧的Kabat CDR区鉴定不接触抗原的CDR残基。如果CDR或其残基被省去,其通常被替换为在另一个人抗体序列或此类序列的共同序列中占据相应

位置的氨基酸。还可通过经验选择在CDR中的替换位置和替换后的氨基酸。经验的替换可以是保守替换或非保守替换。

[0035] 与对应的种系序列相比,本文公开的全人抗PD-L1单克隆抗体可在重链和轻链可变结构域的框架区和/或CDR区中包含一个或多个氨基酸替换、插入和/或缺失。这样的突变可通过将本文所公开的氨基酸序列与从例如公共抗体序列数据库获得的种系序列进行比较而容易地确定。本公开内容包括自本文所公开的任意氨基酸序列衍生的抗体和其抗原结合片段,其中一个或多个框架区和/或CDR区中的一个或多个氨基酸突变为抗体所来源之种系序列的对应残基或者另一人类种系序列的对应残基,或者对应种系残基的保守氨基酸替换(本申请中将这样的序列改变统称为“种系突变”)。本领域的普通技术人员从本申请所公开的重链和轻链可变区序列开始,可容易地产生许多抗体和抗原结合片段,其中包含一个或多个单独种系突变或其组合。在某些实施方式中, V_H 和/或 V_L 结构域中所有的框架和/或CDR残基被突变回所述抗体衍生自的原始种系序列中存在的残基。在另一些实施方式中,仅某些残基被突变回原始种系序列,例如,仅FR1的前8个氨基酸或FR4的最后8个氨基酸中存在的突变残基,或者仅CDR1、CDR2或CDR3中存在的突变残基。在其他实施方式中,一个或多个框架和/或CDR残基被突变为不同种系序列(即,种系序列不同于所述抗体最初衍生自的种系序列)的对应残基。另外,本发明的抗体可在框架区和/或CDR区中包含两个或更多个种系突变的任意组合,例如,其中某些单独残基被突变为特定种系序列的对应残基,而某些其他不同于原始种系序列的残基保持不变,或者被突变为另一种种系序列的对应残基。一旦得到,可容易地测试包含一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种期望特性,例如,改善的结合特异性、提高的结合亲和力、改善或增强的拮抗或激动生物学特性(视情况而定)、降低的免疫原性等。以这种一般的方式得到的抗体和抗原结合片段涵盖在本公开内容之内。

[0036] 本公开内容还包括全人抗PD-L1单克隆抗体,其包含本文所公开的任意HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的具有一个或多个保守替换的变体。例如,本公开内容包括相对于本申请所公开的任意HCVR、LCVR和/或CDR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个或更少等保守氨基酸替换的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗PD-L1抗体。

[0037] 如本申请所使用的,术语“人抗体”旨在包括具有衍生自人种系免疫球蛋白序列之可变区和恒定区的抗体。本公开内容的人mAb可包含,例如在CDR中,特别是在CDR3中不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内细胞突变引入的突变)。然而,如本申请所使用的,术语“人抗体”不希望包括其中衍生自另一哺乳动物物种(例如,小鼠)种系的CDR序列已被移植到人FR序列上的mAb。

[0038] 如本申请所使用的,术语“多特异性抗原结合分子”是指双特异性、三特异性或多特异性抗原结合分子及其抗原结合片段。多特异性抗原结合分子可以对一个靶多肽的不同表位有特异性,或者可包含对一个以上靶多肽的表位有特异性的抗原结合结构域。多特异性抗原结合分子可以是单个多功能多肽,或者它可以是彼此共价或非共价缔合的两个或更多个多肽的多聚体复合物。术语“多特异性抗原结合分子”包括可以与另一个功能性分子(例如,另一种肽或蛋白)连接或共表达的本公开内容的抗体。例如,抗体或其片段可与一个或更多个其他分子实体(如蛋白质或其片段)功能性地连接(例如,通过化学偶联、基因融合、非共价缔合或其他方式)以产生具有第二结合特异性的双特异性或多特异性抗原结合

分子。根据本公开内容,术语“多特异性抗原结合分子”还包括双特异性、三特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。在某些实施方式中,本公开内容的抗体与另一种抗体或其抗原结合片段功能性地连接以产生具有第二结合特异性的双特异性抗体。本公开内容的双特异性和多特异性抗体在本公开内容的其他地方进行了描述。

[0039] 术语“特异性结合”或“与……特异性结合”等意指抗体或其抗原结合片段与抗原形成复合物,其在生理条件下相对稳定。特异性结合可通过至少约 1×10^{-8} M或更小的平衡解离常数来表征(例如,更小的 K_D 表示更紧密的结合)。用于确定两个分子是否特异性结合的方法是本领域中公知的,并且包括例如平衡透析、表面等离子共振等。如本申请所述,已经通过表面等离子共振(例如,BIACORE™)鉴定了与PD-L1特异性结合的抗体。此外,与PD-L1中的一个结构域和一个或多个其他抗原结合的多特异性抗体,或与PD-L1的两个不同区域结合的双特异性抗体仍然认为是如本申请中所使用的“特异性结合”的抗体。

[0040] 抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等术语,如本申请中所使用,包括与抗原特异性结合形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或遗传工程化的多肽或糖蛋白。如本申请所使用的,术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指保留与PD-L1结合能力的抗体的一个或多个片段。

[0041] 如本申请所使用的,“分离的抗体”意在指一种抗体,其基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体(Ab)(例如,与PD-L1或其片段特异性结合的分离的抗体基本上不含与除PD-L1之外的其他抗原特异性结合的Ab)。

[0042] 如本申请中所使用的,术语“表面等离子共振”是指一种光学现象,其使得可以通过检测生物传感器基质内蛋白质浓度的改变(例如使用BIACORE™系统(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,N.J.))来分析实时生物分子相互作用。

[0043] 如本申请所使用的,术语“ K_D ”意在指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0044] 术语“表位”指与抗体分子可变区中的特异性抗原结合位点(称为互补位)相互作用的抗原决定簇。单个抗原可具有多于一个表位。因此,不同的抗体可结合抗原上不同的区域,并且可具有不同的生物学效应。术语“表位”还指抗原上引起B和/或T细胞应答的位点。其还指抗原上被抗体结合的区域。表位可按结构或功能进行定义。功能表位通常是结构表位的子集并且具有的那些残基直接有助于相互作用的亲和力。表位还可以是构象的,即,由非线性氨基酸构成。在某些实施方式中,表位可包含为分子的化学活性表面基团(如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基等)的决定簇,并且在某些实施方式中,表位可以具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特性。

[0045] 当提及核酸或其片段时,术语“基本同一性”或“基本相同”表示当在适宜地插入或缺失核苷酸的情况下与另一核酸(或其互补链)进行最佳比对时,如通过任何公知的序列同一性的算法(如FASTA、BLAST或GAP)所测量的,在至少约90%,更优选至少约95%、96%、97%、98%或99%的核苷酸碱基中存在核苷酸序列同一性。

[0046] 当应用于多肽时,术语“基本相似性”或“基本上相似”意指当例如通过程序GAP或BESTFIT使用默认空位权重进行最佳比对时,两条肽序列共有至少90%的序列同一性,甚至更优选至少95%、98%或99%的序列同一性。优选地,残基位置上的不相同是因保守氨基酸替换而不同。“保守氨基酸替换”是这样的替换,其中氨基酸残基被具有相似化学特性(例如,电荷或疏水性)的侧链(R基)的另一氨基酸残基替换。一般而言,保守氨基酸置换不会实

质上改变蛋白质的功能特性。在两个或更多个氨基酸序列彼此间的不同在于保守替换的情况下,可以向上调整相似性的百分比或程度,以对该替换的保守性质进行校正。用于进行这种调节的手段是本领域技术人员公知的。参见例如,Pearson(1994)Methods Mol Biol.24:307-331,其通过引用并入本申请。含有具有类似化学特性之侧链的氨基酸组的实例包括1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2)脂肪族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4)芳香族侧链: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:天冬氨酸和谷氨酸,以及7)含硫侧链:半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸替换组是: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-天冬氨酸以及天冬酰胺-谷氨酰胺。或者,保守替换是在Gonnet等(1992)Science 256:1443-45(其通过引用并入本申请)中公开的PAM250对数似然矩阵(log-likelihood matrix)中具有正值的任何变化。“适度保守”替换是在PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何变化。通常使用序列分析软件来测量多肽的序列相似性。蛋白质分析软件对相似序列进行匹配,使用指定给多种替换、缺失和其他修饰(包括保守氨基酸替换)的相似性的测量标准。例如,GCG软件包含例如GAP和BESTFIT的程序,其可与默认参数一起使用来确定密切相关的多肽之间(如来自不同生物体物种的同源多肽之间或野生型蛋白质和其突变蛋白之间)的序列同源性或序列同一性。参见例如,GCG 6.1版。也可利用FASTA以及默认或推荐参数(GCG6.1版中的一个程序)比较多肽序列。FASTA(例如,FASTA2和FASTA3)提供查询和检索序列之间最佳重叠区的比对和序列同一性百分比(Pearson(2000)同上)。当将本公开内容的序列与包含大量来自不同生物体的序列的数据库进行比较时,另一个优选的算法是使用缺省参数的计算机程序BLAST,尤其是BLASTP或TBLASTN。参见例如,Altschul等(1990)J.Mol.Biol.215:403-410和(1997)Nucleic Acids Res.25:3389-3402,其各自通过引用并入本申请。

[0047] 短语“治疗有效量”意指将其施用产生所需作用的量。确切的量将取决于治疗的目的并且将可由本领域技术人员使用已知的技术确定(参见例如,Lloyd(1999)The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding)。

[0048] 如本申请所使用的,术语“对象”是指需要改善、预防和/或治疗疾病或病症(如慢性病毒感染、癌症或自身免疫性疾病)的动物,优选哺乳动物。

[0049] II. 用于免疫-PET成像的放射性标记的PD-L1抗体的免疫缀合物

[0050] 本申请提供了与程序性死亡配体1(PD-L1)结合的放射性标记的抗原结合蛋白。在一些实施方式中,放射性标记的抗原结合蛋白包含与一个或多个螯合部分共价连接的抗原结合蛋白,所述螯合部分是能够螯合正电子发射体的化学部分。

[0051] 在一些实施方式中,本申请提供了结合PD-L1的抗原结合蛋白(例如,抗体),其中结合PD-L1的抗原结合蛋白与具有下述结构的一个或多个部分共价结合:

[0052] $-L-M_z$

[0053] 其中L是螯合部分;M是正电子发射体;和z在每次出现时独立地是0或1;以及其中至少一个z是1。

[0054] 在一些实施方式中,放射性标记的抗原结合蛋白是式(I)所示的化合物:

[0055] $M-L-A-[L-M_z]_k$

[0056] (I)

[0057] A是结合PD-L1的蛋白;L是螯合部分;M是正电子发射体;z是0或1;和k是从0-30的整数。在一些实施方式中,k是1。

[0058] 在某些实施方式中,放射性标记的抗原结合蛋白是式(II)所示的化合物:

[0059] $A-[L-M]_k$

[0060] (II)

[0061] 其中A是结合PD-L1的蛋白;L是螯合部分;M是正电子发射体;和k是从1-30的整数。

[0062] 在一些实施方式中,本申请提供了组合物,所述组合物包含具有下述结构的缀合物:

[0063] $A-L_k$

[0064] 其中A是结合PD-L1的蛋白;L是螯合部分;和k是从1-30的整数;其中用足量的正电子发射体螯合缀合物,以提供适于临床PET成像的比活度(specific activity)。

[0065] 适宜的结合蛋白、螯合部分和正电子发射体如下所示。

[0066] A.PD-L1结合蛋白

[0067] 适宜的PD-L1结合蛋白是与PD-L1特异性结合的蛋白,包括在美国专利公开号US2015-0203580A1中所描述的那些,其全部内容通过引用并入本申请。本公开内容的示例性抗-PD-L1抗体列出美国专利公开号US 2015-0203580 A1的表1中,也如下所示。

[0068] 表1:氨基酸序列标识符

抗体名称	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H2M8306N	2	4	6	8	10	12	14	16
H2M8307N	18	20	22	24	26	28	30	32
H2M8309N	34	36	38	40	42	44	46	48
H2M8310N	50	52	54	56	58	60	62	64
H2M8312N	66	68	70	72	74	76	78	80
H2M8314N	82	84	86	88	90	92	94	96
H2M8316N	98	100	102	104	106	108	110	112
H2M8317N	114	116	118	120	122	124	126	128
H2M8321N	130	132	134	136	138	140	142	144
H2M8323N	146	148	150	152	154	156	158	160
H2M8718N	162	164	166	168	170	172	174	176
H2M8718N2	178	180	182	184	170	172	174	176
H2M8719N	186	188	190	192	194	196	198	200
H1H9323P	202	204	206	208	210	212	214	216
H1H9327P	218	220	222	224	226	228	230	232
H1H9329P	234	236	238	240	242	244	246	248
H1H9336P	250	252	254	256	258	260	262	264
H1H9344P2	266	268	270	272	274	276	278	280
H1H9345P2	282	284	286	288	274	276	278	280
H1H9351P2	290	292	294	296	274	276	278	280
H1H9354P2	298	300	302	304	274	276	278	280
H1H9364P2	306	308	310	312	274	276	278	280
H1H9373P2	314	316	318	320	274	276	278	280
H1H9382P2	322	324	326	328	274	276	278	280
H1H9387P2	330	332	334	336	274	276	278	280
H1H9396P2	338	340	342	344	274	276	278	280

[0071] 表1列出了示例性抗PD-L1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

标识符。

[0072] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含HCVR的抗体或其抗原结合片段,所述HCVR包含选自表1中列出的任意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%序列同一性的基本上相似的序列。

[0073] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含LCVR的抗体或其抗原结合片段,所述LCVR包含选自表1中列出的任意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%序列同一性的基本上相似的序列。

[0074] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含HCVR和LCVR氨基酸序列对 (HCVR/LCVR) 的抗体或抗原结合片段,所述HCVR/LCVR包含与表1中列出的任意LCVR氨基酸序列组成一对的表1中列出的任意HCVR氨基酸序列。根据某些实施方式,本公开内容提供了抗体或其抗原结合片段,其包含在表1中所列任意示例性抗PD-L1抗体中含有的HCVR/LCVR氨基酸序列对中。在某些实施方式中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自下组: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、178/170、186/194、202/210、218/226、234/242、250/258、266/274、282/274、290/274、298/274、306/274、314/274、322/274、330/274和338/274。在某些实施方式中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自下述之一:82/90(例如,H2M8314N)、162/170(例如,H2M8718N)、306/274(例如,H1H9364P2)和314/274(例如,H1H9373P2)。在某些其他实施方式中,HCVR/LCVR氨基酸序列对选自下述之一:SEQ ID NO:98/106(例如,H2M8316N)、146/154(例如,H2M8323N)、290/274(例如,H1H9351P2)和330/274(例如,H1H9387P2)。

[0075] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含重链CDR1 (HCDR1) 的抗体或抗原结合片段,所述HCDR1包含选自表1中列出的任意HCDR1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%序列同一性的基本上相似的序列。

[0076] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含重链CDR2 (HCDR2) 的抗体或抗原结合片段,所述HCDR2包含选自表1中列出的任意HCDR2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%序列同一性的基本上相似的序列。

[0077] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含重链CDR3 (HCDR3) 的抗体或抗原结合片段,所述HCDR3包含选自表1中列出的任意HCDR3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%序列同一性的基本上相似的序列。

[0078] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含轻链CDR1 (LCDR1) 的抗体或抗原结合片段,所述LCDR1包含选自表1中列出的任意LCDR1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%序列同一性的基本上相似的序列。

[0079] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含轻链CDR2 (LCDR2) 的抗体或抗原结合片段,所述LCDR2包含选自表1中列出的任意LCDR2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%序列同一性的基本上相似的序列。

[0080] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含轻链CDR3 (LCDR3) 的抗体或抗原结合片段,所述LCDR3包含选自表1中列出的任意LCDR3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%序列同一性的基本上相似的序列。

[0081] 在一些实施方式中,结合蛋白是包含HCDR3和LCDR3氨基酸序列对 (HCDR3/LCDR3) 的抗体或抗原结合片段,所述HCDR3/LCDR3包含与表1中列出的任意LCDR3氨基酸序列组成

一对的表1中列出的任意HCDR3氨基酸序列。根据某些实施方式,本公开内容提供了抗体或其抗原结合片段,其包含在表1中所列任意示例性抗PD-L1抗体中含有的HCDR3/LCDR3氨基酸序列对中。在某些实施方式中,HCDR3/LCDR3氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:88/96 (例如,H2M8314N)、168/176 (例如,H2M8718N)、312/280 (例如,H1H9364P2)和320/280 (例如,H1H9373P2)。在某些其他实施方式中,HCDR3/LCDR3氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:104/112 (例如,H2M8316N)、152/160 (例如,H2M8323N)、296/280 (例如,H1H9351P2)和336/280 (例如,H1H9387P2)。

[0082] 在一些实施方式中,结合蛋白是抗体或抗原结合片段,其含有包含在表1中列出的任意示例性抗-PD-L1抗体中的一组6个CDR(即,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。在某些实施方式中,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3的氨基酸序列组选自下组:SEQ ID NO:84-86-88-92-94-96 (例如,H2M8314N);164-166-168-172-174-176 (例如,H2M8718N);308-310-312-276-278-280 (例如,H1H9364P2)和316-318-320-276-278-280 (例如,H1H9373P2)。在某些其他实施方式中,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3的氨基酸序列组选自下组:SEQ ID NO:100-102-104-108-110-112 (例如,H2M8316N);148-150-152-156-158-160 (例如,H2M8323N);292-294-296-276-278-280 (例如,H1H9351P2)和332-334-336-276-278-280 (例如,H1H9387P2)。

[0083] 在一些实施方式中,结合蛋白是抗体或抗原结合片段,其含有包含在如通过表1中所列任意示例性抗PD-L1抗体所定义的HCVR/LCVR氨基酸序列对中的一组6个CDR(即,HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。例如,在一些实施方式中,结合蛋白是抗体或抗原结合片段,其含有包含在选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对中的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组:SEQ ID NO:82/90 (例如,H2M8314N)、98/106 (例如,H2M8316N)、146/154 (例如,H2M8323N)、162/170 (例如,H2M8718N)、290/274 (例如,H1H9351P2)、306/274 (例如,H1H9364P2)、314/274 (例如,H1H9373P2)和330/274 (例如,H1H9387P2)。用于鉴定HCVR和LCVR氨基酸序列中的CDR的方法和技术在本领域中是公知的并且可用于鉴定本申请公开的特定HCVR和/或LCVR氨基酸序列中的CDR。可用于鉴定CDR边界的示例性常规方式包括,例如Kabat定义、Chothia定义和AbM定义。一般来说,Kabat定义基于序列变异性,Chothia定义基于结构环区的位置,而AbM定义是Kabat与Chothia方法的折衷。参见例如,Kabat,"Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani等, J.Mol.Biol.273:927-948(1997);和Martin等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:9268-9272 (1989)。公共数据库也可用于鉴定抗体中的CDR序列。

[0084] 在一些实施方式中,结合蛋白是抗体及其抗原结合片段,其与包含HCVR中的CDR和LCVR中的CDR的抗体或其抗原结合片段竞争同PD-L1的特异性结合,其中HCVR和LCVR均具有选自表1中列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。

[0085] 在一些实施方式中,结合蛋白是阻断PD-L1与PD-1或B7-1结合的分离的抗体和其抗原结合片段。在一些实施方式中,阻断PD-L1与PD-1或B7-1结合的抗体或其抗原结合片段可以结合在PD-L1上与PD-1/B7-1相同的表位或可以结合在PD-L1上与PD-1/B7-1不同的表位。在某些实施方式中,阻断PD-L1与PD-1或B7-1结合的本公开内容的抗体包含具有选自表1中所列HCVR序列的氨基酸序列之HCVR中的CDR和具有选自表1中所列LCVR序列的氨基酸序

列之LCVR中的CDR。

[0086] 在替代的实施方式中,本公开内容提供了不阻断PD-L1与PD-1或B7-1结合的抗体及其抗原结合片段。在某些实施方式中,本公开内容提供了结合PD-L1的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段增强PD-L1与PD-1或B7-1的结合。在一些实施方式中,增强PD-L1与PD-1/B7-1结合的分离的抗体或其抗原结合片段包含HCVR中的CDR,其中HCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:18、66、114、130、202、218、266、282、298、322和338;以及LCVR中的CDR,其中LCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:26、74、122、138、210、226和274。在一些实施方式中,分离的抗体或其抗原结合片段包含HCVR/LCVR氨基酸序列对,所述HCVR/LCVR氨基酸序列对选自下组:SEQ ID NO:18/26(例如,H2M8307N)、66/74(例如,H2M8312N)、114/122(例如,H2M8317N)、130/138(例如,H2M8321N)、202/210(例如,H1H9323P)、218/226(例如,H1H9327P)、266/274(例如,H1H9344P2)、282/274(例如,H1H9345P2)、298/274(例如,H1H9354P2)、322/274(例如,H1H9382P2)和338/274(例如,H1H9396P2)。

[0087] 在一些实施方式中,结合蛋白是与来自人或其他物种的PD-L1特异性结合的抗体及其抗原结合片段。在某些实施方式中,抗体可以与人PD-L1和/或食蟹猴PD-L1结合。

[0088] 在一些实施方式中,结合蛋白是抗体及其抗原结合片段,其与包含HCVR中的CDR和LCVR中的CDR的参照抗体或其抗原结合片段交叉竞争同PD-L1的结合,其中HCVR和LCVR均具有选自表1中列出的HCVR和LCVR序列的氨基酸序列。

[0089] 在一个实施方式中,结合蛋白是具有一种或多种下述特征的分离的抗体或其抗原结合片段:(a)阻断PD-L1与PD-1或B7-1的结合;(b)与人PD-L1和/或食蟹猴PD-L1特异性结合;(c)在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中抑制T-细胞增殖;和(d)在MLR测定中增加IL-2和/或干扰素- γ 分泌。

[0090] 在一些实施方式中,结合蛋白是可以以激动方式与PD-L1特异性结合的抗体或其抗原结合片段,即其增强或刺激PD-L1结合和/或活性;在其他实施方式中,抗体能够以拮抗方式与PD-L1特异性结合,即其阻断PD-L1与其受体结合。

[0091] 在某些实施方式中,抗体或抗原结合片段是双特异性的,其包括针对PD-L1的第一特异性和针对第二靶表位的第二结合特异性。第二靶表位可以是在PD-L1上的或在不同蛋白(如T细胞共抑制剂)上的另一个表位。在某些实施方式中,靶表位可以是在其他细胞上,包括例如其他的T细胞、B细胞、肿瘤细胞、自身免疫组织细胞或病毒感染的细胞。

[0092] 在一些实施方式中,如在表面等离子体共振测定中所测量的(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例3中定义的测定形式,或基本上相似的测定),抗体和抗体的抗原结合片段以小于约318pM的 K_D 结合单体PD-L1(例如,在25°C或37°C下)。在某些实施方式中,如在表面等离子体共振测定中所测量的(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例3中定义的测定形式,或基本上相似的测定),抗体或其抗原结合片段以小于约300pM、小于约250pM、小于约150pM、小于约100pM或小于约50pM的 K_D 结合单体PD-L1。

[0093] 在一些实施方式中,如在表面等离子体共振测定中所测量的(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例3中定义的测定形式,或基本上相似的测定),抗体及其抗原结合片段以小于约15pM的 K_D 结合二聚体PD-L1(例如,在25°C或37°C下)。在某些实施方

式中,如在表面等离子体共振测定中所测量的(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例3中定义的测定形式,或基本上相似的测定),抗体或其抗原结合片段以小于约12pM、小于约10pM、小于约8pM或小于约5pM的 K_D 结合二聚体PD-L1。

[0094] 在一些实施方式中,如在表面等离子体共振测定中所测量的(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例3中定义的测定形式),抗体或其抗原结合片段以小于约28pM的 K_D 结合食蟹猴(*Macaca fascicularis*)PD-L1(例如,在25°C或37°C下)。在某些实施方式中,如在表面等离子体共振测定中所测量的(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例3中定义的测定形式,或基本上相似的测定),抗体或其抗原结合片段以小于约25pM、小于约20nM、小于约15nM、小于约10nM或小于约5nM的 K_D 结合食蟹猴PD-L1。

[0095] 在一些实施方式中,如在25°C或37°C下在表面等离子体共振测定中所测量的(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例3中定义的测定形式,或基本上相似的测定),抗体及其抗原结合片段以大于约1分钟的解离半衰期($t_{1/2}$)结合PD-L1。在某些实施方式中,如在25°C或37°C下在表面等离子体共振测定中所测量的(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例3中定义的测定形式(例如,mAb捕获或抗原捕获形式),或基本上相似的测定),抗体或抗原结合片段以大于约5分钟、大于约10分钟、大于约30分钟、大于约50分钟、大于约60分钟、大于约70分钟、大于约80分钟、大于约90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分钟或大于约800分钟的 $t_{1/2}$ 结合PD-L1。

[0096] 在一些实施方式中,如使用基于ELISA的免疫测定(例如,使用US专利公开号US2015-0203580 A1的实施例4中所示的,或基本上相似的测定)所确定的,抗体或其抗原结合片段以小于约770pM的 IC_{50} 阻断PD-L1与PD-1结合。在一些实施方式中,如使用基于ELISA的免疫测定(例如,使用US专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例4中所示的,或基本上相似的测定)所确定的,抗体或其抗原结合片段以小于约10pM的 IC_{50} 阻断PD-L1与B7-1结合。在一些实施方式中,抗体及其抗原结合片段与PD-L1结合并增强PD-L1与PD-1或B7-1结合。

[0097] 在一些实施方式中,抗体与PD-L1的胞外域或该结构域的片段结合。在一些实施方式中,抗体与一个以上结构域结合(交叉反应性抗体)。在某些实施方式中,抗体与位于包含NP_054862.1的氨基酸残基19-239的胞外域中的表位结合。

[0098] 在某些实施方式中,抗体与全长蛋白的任何其他区域或片段结合,阻断或抑制与PD-L1相关的PD-1结合或B7-1结合活性,由此发挥作用。在某些实施方式中,抗体减弱或调节PD-L1与PD-1/B7-1之间的相互作用。

[0099] 在某些实施方式中,抗体是双特异性抗体。双特异性抗体能够结合在一个结构域中的一个表位,并且还能够结合在PD-L1的另一个结构域中的第二个表位。在某些实施方式中,双特异性抗体结合同一结构域中的两个不同表位。在一个实施方式中,多特异性抗原结合分子包含第一抗原结合特异性,其中所述第一结合特异性包括PD-1的胞外域或其片段;以及针对PD-L1的另一表位的第二抗原结合特异性。在另一个实施方式中,多特异性抗原结合分子包含第一抗原结合特异性,其中所述第一结合特异性包括B7-1的胞外域或其片段;以及针对PD-L1的另一表位的第二抗原结合特异性。

[0100] 在一个实施方式中,抗体或其片段是与PD-L1结合的全人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段显示出一种或多种下述特征:(i)包含HCVR,其具有选自下

组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、186、202、218、234、250、258、266、274、282、290、298、306、314、322、330和338,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;(ii)包含LCVR,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、194、210、226、242、258和274,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;(iii)包含HCDR3结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、192、208、224、240、256、272、280、288、296、304、312、320、328、336和344,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;和LCDR3结构域,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;和LCDR3结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、200、216、232、248、264和280,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;(iv)包含HCDR1结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、188、204、220、236、252、268、284、292、300、308、316、324、332和340,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;HCDR2结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、190、206、222、238、254、270、286、294、302、310、318、326、334和342,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;LCDR1结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、196、212、228、244、260和276,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;和LCDR2结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、198、214、230、246、262和278,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;(v)是多特异性抗原结合分子,其包含针对PD-L1的第一结合特异性和针对选自下组的抗原的第二结合特异性:PD-L1、肿瘤特异性抗原、病毒感染细胞的抗原和T细胞共抑制剂;(vi)以约4pM至约645nM的 K_D 与人PD-L1结合;(vii)以约70pM至约400nM的 K_D 与食蟹猴PD-L1结合;(viii)以 $IC_{50} \leq 770pM$ 阻断或增强PD-L1与PD-1结合;(ix)以 $IC_{50} \leq 10nM$ 阻断或增强PD-L1与B7-1结合;(x)在T细胞/APC荧光素酶报告测定中阻断PD-1诱导的T细胞下调和/或挽救T细胞信号传导;(xi)在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中刺激T细胞增殖和活性;(xii)在MLR测定中诱导IL-2和/或IFN γ 产生;以及(xiii)在患有癌症的对象中抑制肿瘤生长和增加存活。

[0101] 在一个实施方式中,抗体或其片段是阻断PD-L1与PD-1或B7-1结合的全人源单克隆抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其片段显示出一种或多种下述特征:(i)包含HCVR,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:82、98、146、162、290、306、314和330,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;(ii)包含LCVR,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:90、106、154、170和274,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;(iii)包含HCDR3结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:88、104、152、168、296、312、320和336,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的

序列;和LCDR3结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:96、112、160、176和280,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;(iv)包含HCDR1结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:84、100、148、164、292、308、316和332,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;HCDR2结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:86、102、150、166、294、310、318和334,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;LCDR1结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:92、108、156、172和276,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;和LCDR2结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:94、110、158、174和278,或者与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列;(v)是多特异性抗原结合分子,其包含针对PD-L1的第一结合特异性和针对选自下组的抗原的第二结合特异性:PD-L1的不同的表位、肿瘤特异性抗原、病毒感染细胞的抗原和T细胞共抑制剂;(vi)以 $K_D \leq 10^{-10}$ M与人PD-L1结合;(vii)以 $K_D \leq 10^{-7}$ M与食蟹猴PD-L1结合;(viii)阻断PD-L1与PD-1或B7-1结合;(ix)在T细胞/APC荧光素酶报告测定中阻断PD-1诱导的T细胞下调和/或挽救T细胞信号传导;(xi)在混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定中刺激T细胞增殖和活性;(xii)在MLR测定中诱导IL-2和/或IFN γ 产生;以及(xiii)在患有癌症的对象中抑制肿瘤生长和增加存活。

[0102] 在某些实施方式中,抗-PD-L1抗体或其抗原结合片段结合PD-L1中所示例的任意一个或多个区域(无论是天然形式的,还是重组生产的,或其片段)内的表位。在一些实施方式中,本公开内容的抗体结合到胞外区域,其包含一个或多个氨基酸选自由PD-L1的氨基酸残基19-239组成的组。在一些实施方式中,本公开内容的抗体结合的区域包含一个或多个氨基酸,选自由食蟹猴PD-L1的氨基酸残基1-221组成的组。

[0103] 在某些实施方式中,如表1中所示的本公开内容的抗体与选自下组的至少一条氨基酸序列相互作用:PD-L1的范围从约位置19至约位置130的氨基酸残基;或PD-L1的范围从约位置130至约位置153的氨基酸残基;或PD-L1的范围从约位置153至约位置210的氨基酸残基;或PD-L1的范围从约位置210至约位置239的氨基酸残基。

[0104] 在一些实施方式中,抗-PD-L1抗体与本申请在表1中所述的任意特定示例性抗体或具有表1中所述任意示例性抗体CDR序列的抗体结合相同的表位,或该表位的一部分。同样地,适宜的抗体还包括与本申请在表1中所述的任意特定示例性抗体或具有表1中所述任意示例性抗体CDR序列的抗体竞争结合PD-L1的抗-PD-L1抗体。例如,适宜的抗体包括与如本申请实施例6中定义的一种或多种抗体(例如,H2aM8309N、H1H9329P、H1H9336P、H2aM8314N、H2aM8316N、H2aM8718N、H1H9387P2、H1H9351P2、H1H9364P2、H1H9373P2和H2aM8306N)交叉竞争与PD-L1结合的抗-PD-L1抗体。本公开内容还包括与美国专利公开号US 2015-0203580A1实施例6中定义的一种或多种抗体(例如,H1H9396P2、H2aM8317N、H2aM8321N、H1H9323P、H1H9382P2、H1H9344P2、H1H9345P2和H1H9354P2)交叉竞争与PD-L1结合的抗-PD-L1抗体。

[0105] 本申请所述的抗体和抗原结合片段与PD-L1特异性结合并调节PD-L1与PD-1或与B7-1的相互作用。抗-PD-L1抗体可以以较高的亲和力或以较低的亲和力与PD-L1结合。在某些实施方式中,抗体是阻断抗体,其中所述抗体与PD-L1结合并阻断PD-L1与PD-1或与B7-1

的相互作用。在一些实施方式中,本公开内容的阻断抗体阻断PD-L1与PD-1或B7-1结合和/或刺激或增强T细胞活化。在一些实施方式中,阻断抗体用于刺激或增强免疫应答和/或用于治疗患有癌症或慢性病毒感染的对象。当向需要其的对象施用,抗体可以减轻受试者中病毒(如HIV、LCMV或HBV)的慢性感染。可以将其用于抑制对象中肿瘤细胞的生长。其可以单独使用或作为本领域公知的用于治疗癌症或病毒感染的其他治疗部分或方式的辅助疗法。在某些实施方式中,将以较低亲和性与PD-L1结合的抗-PD-L1抗体用作多特异性抗原结合分子,其中第一结合特异性以较低亲和性与PD-L1结合和第二结合亲和性与选自下组的抗原结合:PD-L1的不同表位、T细胞共抑制剂(如PD-1)、肿瘤特异性抗原和感染细胞特异性抗原。

[0106] 在某些实施方式中,本公开内容的抗体是激动剂抗体,其中抗体与PD-L1结合并增强PD-L1与PD-1/B7-1的相互作用。在一些实施方式中,活化抗体增强PD-L1与PD-1或与B7-1结合和/或抑制(inhibit)或遏制(suppress)T细胞活化。本公开内容的活化抗体可以用于抑制对象中的免疫应答和/或用于治疗自身免疫性疾病。

[0107] 在某些实施方式中,抗-PD-L1抗体是多特异性抗原结合分子,其中其包括针对PD-L1的第一结合特异性和针对选自下组的抗原的第二结合特异性:PD-L1的不同表位、T细胞共抑制剂(如PD-1)、肿瘤特异性抗原和感染细胞特异性抗原。在某些实施方式中,第一结合特异性以较低亲和性与PD-L1结合,例如以 10^{-8} M、 10^{-7} M或更高的 K_D 。

[0108] 本公开内容的某些抗-PD-L1抗体能够与PD-L1结合并中和其活性,如通过体外或体内测定所确定的。可以使用本领域技术人员公知的标准方法测量本公开内容的抗体与PD-L1结合并中和其活性的能力,包括如本申请所述的结合测定或活性测定。

[0109] 用于测量结合活性的非限制性、示例性体外测定如美国专利公开号US 2015-0203580A1的实施例3中所述。在实施例3中,通过表面等离子体共振确定人抗-PD-L1抗体对人PD-L1和食蟹猴PD-L1的结合亲和性和动力学常数,并且通过T200Biacore仪器进行测量。在美国专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例4和5中,用阻断测定确定抗-PD-L1抗体在体外阻断PD-1或B7-1的PD-L1结合能力的能力。在美国专利公开号US 2015-0203580A1的实施例6中,用阻断测定确定不同抗-PD-L1抗体之间的交叉竞争。美国专利公开号US 2015-0203580 A1的实施例7描述了抗体与过表达PD-L1的细胞的结合。在US2015-0203580 A1的实施例8中,用荧光素酶测定确定抗-PD-L1抗体在T细胞中拮抗PD-1/PD-L1信号传导的能力。

[0110] 除非另有特别指明,否则如本申请中所使用的术语“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,“全抗体分子”)以及其抗原结合片段。如本文中所使用,术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括与抗原特异性结合形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或经基因工程改造的多肽或糖蛋白。如本申请所使用的,术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指保留与PD-L1特异性结合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,包含CDR的片段或分离的CDR。在某些实施方式中,术语“抗原结合片段”是指多特异性抗原结合分子的多肽或其片段。在这样的实施方式中,术语“抗原结合片段”包括例如与PD-L1特异性结合的PD-1的胞外域。抗体的抗原结合片段可使用任何适当的标准技术由例如全抗体分子获得,所述技术例如蛋白水解消化,或涉及编码抗体可变结构域和(任选

地) 恒定结构域的DNA的操作和表达的重组基因工程技术。这样的DNA是已知的和/或很容易从例如商业来源、DNA文库(包括,例如噬菌体-抗体文库)获得或可以被合成。可对DNA进行测序并以化学方式或通过使用分子生物学技术进行操作,例如以使一个或多个可变和/或恒定结构域排列成合适的构型或者引入密码子、产生半胱氨酸残基,修饰、增加或缺失氨基酸等。

[0111] 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) 由模拟抗体的高变区的氨基酸残基组成的最小识别单元(例如,分离的互补决定区(CDR),如CDR3肽),或约束性FR3-CDR3-FR4肽。本申请中使用的表述“抗原结合片段”还涵盖其他工程化分子,如结构域特异性抗体、单域抗体、结构域缺失抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微抗体、纳米抗体(例如,单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫药物(small modular immune pharmaceutical, SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域。

[0112] 抗体的抗原结合片段通常将包含至少一个可变结构域。可变结构域可具有任何大小或氨基酸组成,并且一般将包含至少一个CDR,其邻近一个或多个框架序列,或者其一个或多个框架序列在框内。在具有与V_L结构域缔合的V_H结构域的抗原结合片段中,V_H和V_L结构域可以以任何合适的排列彼此相对定位。例如,可变区可以是二聚的并且包含V_H-V_H-V_L或V_L-V_L二聚体。或者,抗体的抗原结合片段可以包含单体V_H或V_L结构域。

[0113] 在某些实施方式中,抗体的抗原结合片段可包含至少一个可变结构域与至少一个恒定结构域共价连接。可见于本公开内容之抗体的抗原结合片段中的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例构型包括:(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。在可变结构域和恒定结构域的任意构型(包括上文列出的任意示例性构型)中,可变结构域和恒定结构域可以彼此直接连接或者可通过全部或部分铰链区或接头区连接。铰链区可由至少2个(例如,5、10、15、20、40、60个或更多)氨基酸组成,其在单个多肽分子中的邻近可变结构域和/或恒定结构域之间产生柔性或半柔性连接。另外,本公开内容之抗体的抗原结合片段可包含上文列出的任何可变结构域和恒定结构域构型的同源二聚体或异源二聚体(或其他多聚体),其彼此和/或与一个或多个单体V_H或V_L结构域非共价缔合(例如,通过二硫键)。

[0114] 对于全抗体分子,抗原结合片段可以是单特异性的或多特异性的(例如,双特异性的)。抗体的多特异性抗原结合片段通常将包含至少两个不同的可变结构域,其中每个可变结构域能够与单独抗原或与同一抗原上的不同表位特异性结合。可使用本领域中可利用的常规技术将任何多特异性抗体形式(包括本申请公开的示例性双特异性抗体形式)改造用于本公开内容之抗体的抗原结合片段的情形。

[0115] 本公开内容的抗-PD-L1抗体和抗体片段包括具有与所述抗体的氨基酸序列不同,但保留结合PD-L1能力的蛋白。此类变体抗体和抗体片段当与母体序列比较时包括一个或多个氨基酸添加、缺失或取代,但显示出与所述抗体基本上相等的生物活性。同样地,本公开内容的编码抗体的DNA序列包括当与所公开的序列进行比较时包含一个或多个核苷酸添加、缺失或取代的序列,但是其编码与本公开内容的抗体或抗体片段基本上生物等效的抗体或抗体片段。

[0116] 如果例如两种抗原结合蛋白或抗体是药物等效物或药物替代物,在相似的实验条件下以相同摩尔剂量(单个剂量或多个剂量)施用,它们的吸收速率和程度未显示显著差异,则认为它们是生物等效的。如果一些抗体在其吸收程度上等效但其吸收速率不等效,但由于吸收速率中这样的差异是有意的并且反映在标签上,而且在例如长期使用时对达到有效机体药物浓度不是必需的,并且认为对于所研究的特定药物产品是医学不显著的,因此也可以被认为是生物等效的,这些抗体会被认为是等效物或药物替代物。

[0117] 在一个实施方式中,如果两种抗原结合蛋白在其安全性、纯度或效力方面没有临床上有意义的差异,那么它们就是生物等效的。

[0118] 在一个实施方式中,如果患者可以在参照产品和生物产品之间切换一次或多次且与没有这样切换的持续治疗相比,没有预计的不良作用风险增加(包括免疫原性的临床显著变化)或效力降低,那么认为两种抗原结合蛋白是生物等效的。

[0119] 在一个实施方式中,如果两种抗原结合蛋白通过共同的作用机理对使用病症起作用,当这样的机理已知时,则认为它们是生物等效的。

[0120] 可通过体内和/或体外方法证明生物等效性。生物等效性指标包括,例如(a)人或其他哺乳动物中的体内测试,其中测量作为时间之函数的血液、血浆、血清或其他生物流体中抗体或其代谢物的浓度;(b)已经与人体内生物利用度数据相关联并且对其有合理预测的体外测定;(c)人类或其他哺乳动物中的体内测试,其中测量作为时间之函数的抗体(或其靶点)的适当急性药理作用;和(d)建立抗体的安全性、有效性或生物利用度或生物等效性的良好对照的临床试验。

[0121] 可通过例如对生物活性不需要的末端或内部残基或序列进行残基或序列的多种替换或缺失,以构建本公开内容抗体的生物等效变体。例如,可缺失或用其他氨基酸来替换对生物活性非必需的半胱氨酸残基以防止在复性后形成不必要的或不正确的分子内二硫键。在另一些情况下,生物等效抗体可包括抗体变体,其包含改变抗体糖基化特征的氨基酸改变,例如消除或除去糖基化的突变。

[0122] 根据本公开内容的某些实施方式,抗-PD-L1抗体包含含有一个或多个突变的Fc结构域,其增强或减弱抗体与FcRn受体的结合(例如,在酸性pH下与中性pH下相比)。例如,本公开内容包括在Fc结构域的C_H2或C_H3区中包含突变的抗PD-L1抗体,其中在酸性环境中(例如,pH为约5.5至约6.0的核内体中)所述突变提高Fc结构域对FcRn的亲合性。当向动物施用,这样的突变可导致抗体的血清半衰期延长。此类Fc修饰的非限制性实例包括,例如在位置250(例如,E或Q);250和428(例如,L或F);252(例如,L/Y/F/W或T),254(例如,S或T)和256(例如,S/R/Q/E/D或T)的修饰;或者在位置428和/或433(例如,H/L/R/S/P/Q或K)和/或434(例如,A、W、H、F或Y[N434A、N434W、N434H、N434F或N434Y])的修饰;或者在位置250和/或428的修饰;或者在位置307或308(例如,308F、V308F)和434的修饰。在一个实施方式中,修饰包括428L(例如,M428L)和434S(例如,N434S)修饰;428L、259I(例如,V259I)和308F(例如,V308F)修饰;433K(例如,H433K)和434(例如,434Y)修饰;252、254和256(例如,252Y、254T和256E)修饰;250Q和428L修饰(例如,T250Q和M428L);和307和/或308修饰(例如,308F或308P)。在又一个实施方式中,修饰包括265A(例如,D265A)和/或297A(例如,N297A)修饰。

[0123] 例如,本公开内容包括包含Fc结构域的抗-PD-L1抗体,所述Fc结构域包含选自以下的一个或多个突变对或突变组:250Q和248L(例如,T250Q和M248L);252Y、254T和256E(例

如,M252Y、S254T和T256E);428L和434S(例如,M428L和N434S);257I和311I(例如,P257I和Q311I);257I和434H(例如,P257I和N434H);376V和434H(例如,D376V和N434H);307A、380A和434A(例如,T307A、E380A和N434A);以及433K和434F(例如,H433K和N434F)。在一个实施方式中,本公开内容包括包含Fc结构域的抗-PD-L1抗体,所述Fc结构域在IgG4的铰链区包含促进二聚体稳定化的S108P突变。前述Fc结构域突变以及在本申请所公开的抗体可变结构域之内的其他突变之所有可能的组合均在本发明范围的考虑之内。

[0124] 本公开内容还包括包含嵌合重链恒定(C_H)区的抗-PD-L1抗体,其中所述嵌合C_H区包含来源于一种以上免疫球蛋白同种型之C_H区的区段。例如,本公开内容的抗体可包含嵌合C_H区,其包含与来源于人IgG1、人IgG2或人IgG4分子之C_H3结构域的一部分或全部组合的来源于人IgG1、人IgG2或人IgG4分子之C_H2结构域的一部分或全部。根据某些实施方式,本公开内容的抗体包含具有嵌合铰链区的嵌合C_H区。例如,嵌合铰链可包含与来源于人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的“下铰链”序列(根据EU编号来自228至236位的氨基酸残基)组合的来源于人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的“上铰链”氨基酸序列(根据EU编号来自216至227位的氨基酸残基)。根据某些实施方式,所述嵌合铰链区包含来源于人IgG1或人IgG4上铰链的氨基酸残基和来源于人IgG2下铰链的氨基酸残基。在某些实施方式中,本申请所述的含有嵌合C_H区的抗体可表现出经修饰的Fc效应物功能,并且对抗体的治疗或药代动力学特性不会产生不良影响(参见例如,2014年1月31日提交的USSN.14/170,166,其公开内容通过引用以其整体并入本申请)。

[0125] B. 正电子发射体和螯合部分

[0126] 适宜的正电子发射体包括但不限于与螯合部分形成稳定的复合物且具有适于免疫-PET成像目的的物理半衰期的那些。示例性正电子发射体包括但不限于⁸⁹Zr、⁶⁸Ga、⁶⁴Cu、⁴⁴Sc和⁸⁶Y。适宜的正电子发射体还包括直接与PD-L1结合蛋白键合的那些,包括但不限于⁷⁶Br和¹²⁴I,以及通过修复基团引入的那些,例如¹⁸F。

[0127] 本申请所述的螯合部分是是与PD-L1结合蛋白(例如,抗-PD-L1抗体)共价连接的化学部分,并且包含能够螯合正电子发射体的部分(即,能够与正电子发射体反应以形成配位螯合复合物)。适宜的部分包括能够有效负载特定金属并形成金属-螯合剂复合物的那些,所述复合物在体内足够稳定以用于诊断用途(例如,免疫-PET成像)。示例性的螯合部分包括使正电子发射体的解离以及在矿物质骨、血浆蛋白和/或骨髓中的累积最小化至适于诊断用途程度的那些。

[0128] 螯合部分的实例包括但不限于与正电子发射体⁸⁹Zr、⁶⁸Ga、⁶⁴Cu、⁴⁴Sc和/或⁸⁶Y形成稳定复合物的那些。说明性的螯合部分包括但不限于在Nature Protocols,5(4):739,2010;Bioconjugate Chem.,26(12):2579(2015);Chem Commun(Camb),51(12):2301(2015);Mol.Pharmaceutics,12:2142(2015);Mol.Imaging Biol.,18:344(2015);Eur.J.Nucl.Med.Mol.Imaging,37:250(2010);Eur.J.Nucl.Med.Mol.Imaging(2016).doi:10.1007/s00259-016-3499-x;Bioconjugate Chem.,26(12):2579(2015);WO2015/140212A1;和US 5,639,879中描述的那些,其通过引用整体并入。

[0129] 说明性的螯合部分还包括但不限于包含去铁胺(DFO)、1,4,7,10-四乙酸(DOTA)、二乙烯三胺五乙酸(DTPA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(亚甲基膦)酸(DOTP)、1R,4R,7R,10R)-''''-四甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,

10-四乙酸(DOTMA)、1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸(TETA)、H₄octapa、H₆phospa、H₂dedpa、H₅decapa、H₂azapa、HOPPO、DO2A、1,4,7,10-四(氨基甲酰基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷(DOTAM)、1,4,7-三氮杂环壬烷-N,N',N''-三乙酸(NOTA)、1,4,7,10-四(氨基甲酰基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷(DOTAM)、1,4,8,11-四氮杂双环[6.6.2]十六烷-4,11-二乙酸(CB-TE2A)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷(Cyclen)、1,4,8,11-四氮杂环十四烷(Cyclam)、八齿螯合剂、六齿螯合剂、膦酸盐基螯合剂、大环螯合剂、包含大环对苯二甲酰胺配体的螯合剂、双功能螯合剂、镧孢氨酸C和镧孢氨酸C衍生物螯合剂、三乙酰镧孢氨酸C(TAFC)、铁链霉素E(FOX E)、铁链霉素B(FOX B)、铁色素A(FCHA)等的那些。

[0130] 在一些实施方式中,螯合部分通过接头部分与PD-L1结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)共价键合,所述接头部分将螯合部分(moiety)的螯合部(portion)共价连接至结合蛋白。在一些实施方式中,这些接头部分由PD-L1结合蛋白的反应性部分(例如,抗体的半胱氨酸或赖氨酸)与连接至螯合剂(含有例如对异硫氰酸基苯基)的反应性部分和在下述缀合方法中提供的反应性部分之间的反应形成。此外,此类接头部分任选地包含用于调节极性、溶解度、空间相互作用、刚性和/或螯合部分与PD-L1结合蛋白之间长度的化学基团。

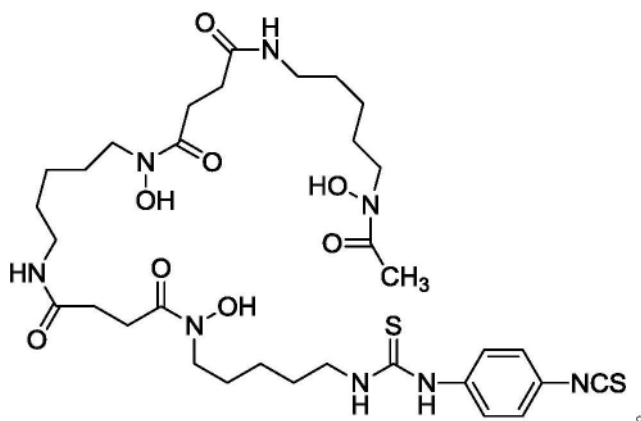
[0131] C.放射性标记的抗-PD-L1缀合物的制备

[0132] 放射性标记的抗-PD-L1蛋白缀合物可以通过(1)将PD-L1结合蛋白(例如,抗体)与一种分子进行反应,所述分子含有正电子发射体螯合剂和与PD-L1结合蛋白的所需缀合位点起反应的部分,以及(2)装载所需的正电子发射体。

[0133] 适宜的缀合位点包括但不限于赖氨酸和半胱氨酸,其均可以是例如天然的或合成的,并且例如可以存在于抗体的重链或轻链上。半胱氨酸缀合位点包括但不限于通过突变、插入或抗体二硫键还原获得的那些。用于制备半胱氨酸工程化改造抗体的方法包括但不限于W02011/056983中公开的那些。位点特异性缀合法还可以用于将缀合反应引导至抗体的特异性位点、实现所需的化学计量和/或实现所需的药物与抗体(DAR)的比例。此类缀合法是本领域普通技术人员所公知的,包括但不限于半胱氨酸工程化改造以及酶促和化学-酶促法,包括但不限于谷氨酰胺缀合、Q295缀合和转谷氨酰胺酶介导的缀合,以及在J.Clin.Immunol.,36:100(2016)中所描述的那些,其全部内容通过引用并入本申请。与所需缀合位点反应的适宜部分通常能够有效且容易地将PD-L1结合蛋白(例如,抗体)与正电子发射体螯合剂偶联。与赖氨酸和半胱氨酸位点反应的部分包括亲电子基团,这些基团是本领域的普通技术人员所公知的。在某些方面中,当所需缀合位点是赖氨酸时,反应性部分是异硫氰酸酯(例如,对异硫氰酸基苯基或反应性酯)。在某些方面中,当所需缀合位点是半胱氨酸时,反应性部分是马来酰亚胺。

[0134] 当螯合剂是去铁胺(DF0)时,适宜的反应性部分包括但不限于异硫氰酸基苯基、n-羟基琥珀酰亚胺酯、2,3,5,6四氟苯酚酯、n-琥珀酰亚胺基-S-乙酰硫代乙酸酯,以及在BioMed Research International,Vol 2014,文章ID 203601中描述的那些,其全部内容通过引用并入本申请。在某些实施方式中,PD-L1结合蛋白是抗体,并且包含正电子发射体螯合剂和与缀合位点反应的的部分的分子是对异硫氰酸基苯基-去铁胺(p-SCN-Bn-DF0):

[0135]



[0136] 通过将PD-L1结合蛋白螯合剂缀合物与正电子发射体孵育一段足够长的时间来实现正电子发射体装载,所述足够长的时间是能够使所述正电子发射体与螯合剂配位的一段时间,例如通过进行本申请提供的实施例中所述的方法,或基本上类似的方法。

[0137] D. 缀合物的说明性实施方式

[0138] 本公开内容包括放射性标记的抗体缀合物,其包含结合人程序性死亡配体1 (PD-L1) 的抗体或其抗原结合片段,螯合部分和正电子发射体。

[0139] 在一些实施方式中,螯合部分包含能够与⁸⁹Zr形成复合物的螯合剂。在某些实施方式中,螯合部分包含去铁胺。在某些实施方式中,螯合部分是对异硫氰酸基苯基-去铁胺。

[0140] 在一些实施方式中,正电子发射体是⁸⁹Zr。

[0141] 在一些实施方式中,缀合物中螯合部分与抗体之比为从1至2。

[0142] 在一个特定的实施方式中,螯合部分是对异硫氰酸基苯基-去铁胺并且正电子发射体是⁸⁹Zr。在另一个特定的实施方式中,螯合部分是对异硫氰酸基苯基-去铁胺并且正电子发射体是⁸⁹Zr,且缀合物中螯合部分与抗体之比为1至2。

[0143] 在一些实施方式中,本申请提供了结合PD-L1的抗原结合蛋白,其中结合PD-L1的所述抗原结合蛋白与具有下述结构的一个或多个部分共价键合:

[0144] $-L-M_z$

[0145] 其中L是螯合部分;M是正电子发射体;和z在每次出现时独立地为0或1;以及其中至少一个z是1。在某些实施方式中,放射性标记的抗原结合蛋白是式(I)所示的化合物:

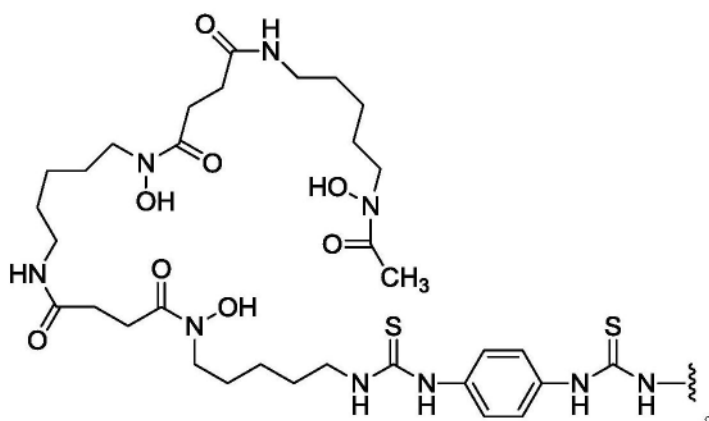
[0146] $M-L-A-[L-M_z]_k$

[0147] (I)

[0148] A是结合PD-L1的蛋白;L是螯合部分;M是正电子发射体;z是0或1;和k是从0-30的整数。在一些实施方式中,k是1。

[0149] 在一些实施方式中,L是:

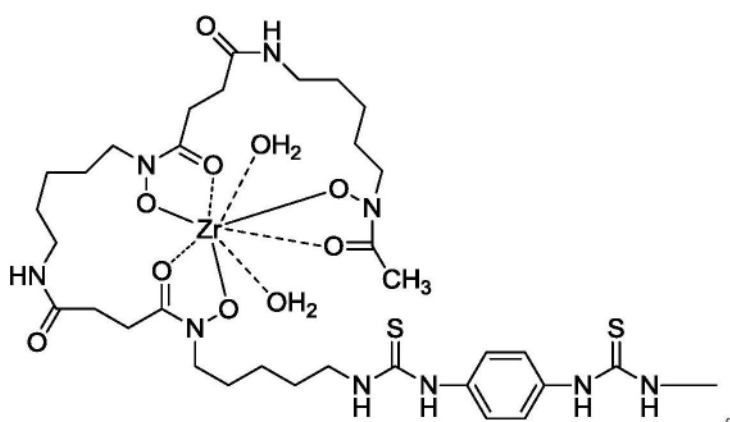
[0150]

[0151] 在一些实施方式中,M是⁸⁹Zr。

[0152] 在一些实施方式中,k是从1至2的整数。在一些实施方式中,k是1。

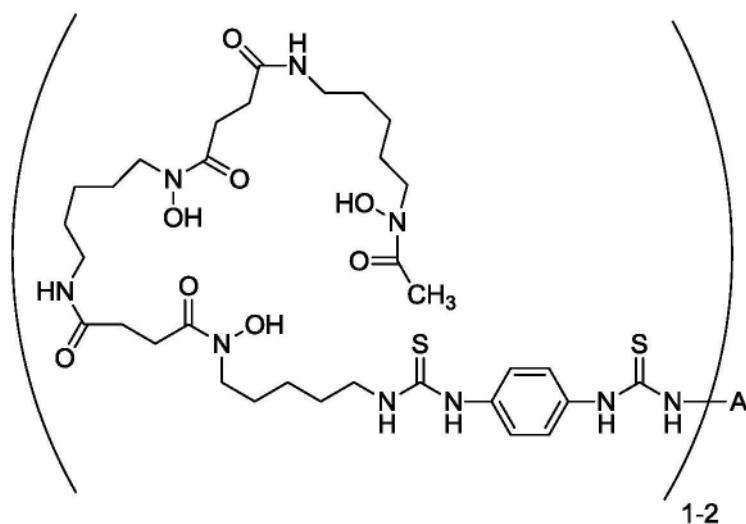
[0153] 在一些实施方式中,-L-M是

[0154]



[0155] 在本公开内容中还包括合成放射性标记的抗体缀合物的方法,所述方法包括将式(III)所示的化合物:

[0156]

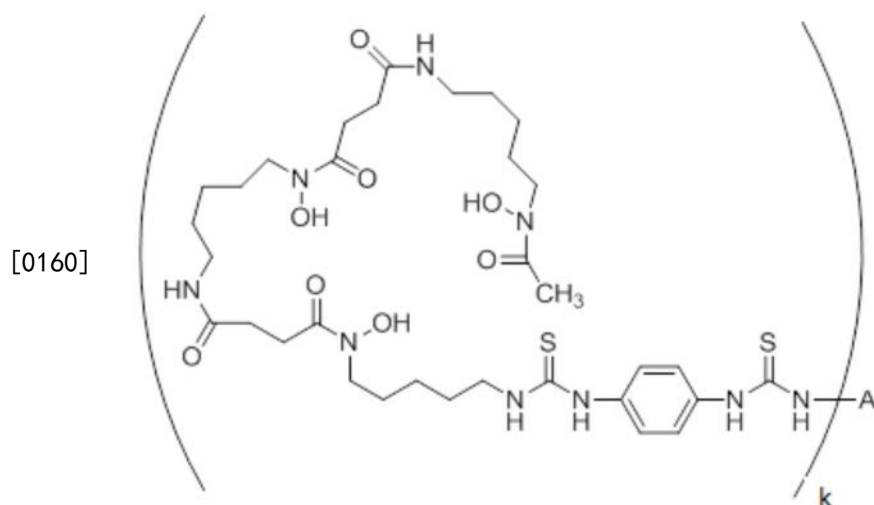


(III)

[0157] 与⁸⁹Zr接触,其中A是结合PD-L1的抗体或其抗原结合片段。在某些实施方式中,通过将结合PD-L1的抗体或其抗原结合片段与p-SCN-Bn-DF0接触合成式(III)所示的化合物。

[0158] 本申请还提供式(III)所示的化合物与 ^{89}Zr 之间反应的产物。

[0159] 本申请提供了式(III)所示的化合物：



[0161] 其中A是结合PD-L1的抗体或其抗原结合片段和k是从1-30的整数。在一些实施方式中,k是1或2。

[0162] 在一些实施方式中,本申请提供了包含具有下述结构的缀合物的组合物:

[0163] $A-L_k$

[0164] 其中A是结合PD-L1的蛋白;L是螯合部分;和k是从1-30的整数;其中缀合物与足以提供适于临床PET成像的比活度的量的正电子发射体螯合。在一些实施方式中,螯合的正电子发射体的量是足以提供每1-50mg结合PD-L1的蛋白1-3mCi比活度的量。

[0165] 在一些实施方式中,如在37°C下在表面等离子体共振测定中所测量的,抗体或其抗原结合片段以小于约310pM的结合解离平衡常数(K_D)结合单体人程序性死亡配体-1 (PD-L1)。

[0166] 在一些实施方式中,在25°C下在表面等离子体共振测定中,抗体或其抗原结合片段以小于约180pM的 K_D 结合单体人PD-L1。

[0167] 在一些实施方式中,在37°C下在表面等离子体共振测定中,抗体或其抗原结合片段以小于约15pM的 K_D 结合二聚体人PD-L1。

[0168] 在一些实施方式中,在25°C下在表面等离子体共振测定中,抗体或其抗原结合片段以小于约8pM的 K_D 结合二聚体人PD-L1。

[0169] 在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段与参照抗体竞争与人PD-L1的结合,所述参照抗体包含HCVR中的互补性决定区(CDR),其中HCVR具有选自由表1中所列的HCVR序列组成的组的氨基酸序列;和LCVR中的CDR,其中LCVR具有选自由表1中所列的LCVR序列组成的组的氨基酸序列。在一些实施方式中,参照抗体或其抗原结合片段包含表1中所示的HCVR/LCVR氨基酸序列对。在一些实施方式中,参照抗体包含选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:82/90、98/106、146/154、162/170、290/274、306/274、314/274和330/274。

[0170] 在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段增强PD-L1与PD-1或B7-1之一的结合。在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段阻断PD-L1与PD-1和/或B7-1的结合。在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段不增加或减少PD-L1与其配体的结合。

[0171] 在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段包含HCVR的互补性决定区(CDR),其中HCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:18、66、114、130、202、218、266、282、298、322和338;和LCVR的CDR,其中LCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:26、74、122、138、210、226和274。在某些实施方式中,分离的抗体包含选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:18/26、66/74、114/122、130/138、202/210、218/226、266/274、282/274、298/274、322/274和338/274。

[0172] 在一些实施方式中,抗体是与人PD-L1特异性结合的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含具有选自由表1中所列的HCVR序列组成的组的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)。

[0173] 在一些实施方式中,抗体是与人PD-L1特异性结合的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含具有选自由表1中所列的LCVR序列组成的组的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。

[0174] 在一些实施方式中,抗体是与人PD-L1特异性结合的人单克隆抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含(a) HCVR,其具有选自由表1中所列的HCVR序列组成的组的氨基酸序列;和(b) LCVR,其具有选自由表1中所列的LCVR序列组成的组的氨基酸序列。

[0175] 在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段包含在表1中列出的任意一条重链可变区(HCVR)序列中含有的3个重链互补性决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3);和在表1中列出的任意一条轻链可变区(LCVR)序列中含有的3个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0176] 在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0177] (a)HCDR1结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、188、204、220、236、252、268、284、292、300、308、316、324、332和340;

[0178] (b)HCDR2结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、190、206、222、238、254、270、286、294、302、310、318、326、334和342;

[0179] (c)HCDR3结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、192、208、224、240、256、272、288、296、304、312、320、328、336和344;

[0180] (d)LCDR1结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、196、212、228、244、260和276;

[0181] (e)LCDR2结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、198、214、230、246、262和278;和

[0182] (f)LCDR3结构域,其具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、200、216、232、248、264和280。

[0183] 在一些实施方式中,抗体或抗原结合片段包含选自下组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:82/90、98/106、146/154、162/170、290/274、306/274、314/274和330/274。

[0184] 在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段包含HCVR的CDR,其中HCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、34、50、82、98、146、162、178、186、234、250、290、306、314和

330;以及LCVR的CDR,其中LCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、42、58、90、106、154、170、194、242、258和274。

[0185] E.用于生产抗-PD-L1抗体-螯合剂缀合物的规模化生产

[0186] 在本公开内容中包括用于生产与螯合剂缀合的抗-PD-L1抗体的放大生产工艺。抗-PD-L1抗体-螯合剂缀合物为适于放射性标记的形式。

[0187] 在生产的所有方面中均遵守良好的生产工艺,包括保持无菌环境,进行无菌操作,保存所有工艺的记录以及记录产品质量、纯度、强度和特性及其任何偏离。

[0188] 在一些实施方式中,放大生产工艺比用于研究和开发的生产工艺迅速得多。在一些实施方式中,放大生产工艺能够花费少于12小时,或少于10小时,或少于8小时,或少于6小时,或少于4小时,或者少于或约2小时的时间。

[0189] 在一些实施方式中,第一步包括使用30-50kDa膜对抗-PD-L1抗体进行超滤和渗滤(UFDF)以除去赋形剂、干扰缀合的物质和抑制缀合工艺的盐。示例性的膜聚合物包括聚醚砜(PES)、醋酸纤维素(CAR)和再生纤维素(RC)。在该步骤中,抗体在低离子强度和非干扰缓冲溶液中进行缓冲液交换。缓冲液pH可以是在约4.5至约6之间,或约5至约6之间,或约5.3至约5.7之间,或者约5.5。预计可用于本申请中的缓冲系统包括不含伯胺的任何缓冲系统。示例性的缓冲液包括醋酸盐、磷酸盐或柠檬酸盐缓冲液。在预缀合过程中,缓冲液提供了蛋白稳定性。可以进一步减少工艺体积以浓缩抗体,然后进行无菌过滤。

[0190] 预缀合物UFDF后,可以将经浓缩和过滤的抗体转移至无胺的碳酸盐缓冲系统中。碳酸盐缓冲系统可以具有范围从约8.5至约9.6,或从约9.0至约9.6,或从约9.2至约9.4,或从约9.4至约9.6的pH,或者约9.4的pH。

[0191] 将在溶剂中的螯合剂(例如,DFO)以目标浓度加入含抗体的缓冲系统中,并且可以将额外的溶剂加入溶液中至所需百分比。螯合剂可以摩尔过量地加入抗体,例如螯合剂与抗体的比例为3.5-5:1。总反应体积可达5L。

[0192] 反应温度和反应时间呈负相关。例如,如果反应温度升高,则反应时间缩短。如果反应温度降低,则反应时间延长。也就是说,在高于约18℃的温度下,反应可能需要不到2小时;在低于18℃的温度下,反应可能需要多于2小时。

[0193] 可以通过淬灭(例如,通过加入醋酸)终止缀合反应。

[0194] 在一些实施方式中,进行抗体与去铁胺的缀合以生产DFO-mAb缀合物。在一些实施方式中,进行抗体与p-SCN-Bn-去铁胺的缀合以生产DFO-mAb缀合物。

[0195] 用于螯合剂的示例性溶剂包括DMSO和DMA。随后的UFDF步骤利用膜,并且基于在缀合步骤中使用的溶剂系统选择膜。例如,DMA溶解PES膜,所以这两者不能用于同一系统中。

[0196] 对于缀合物在长期贮存期间的稳定性而言,碳酸盐缓冲液不是优选的。因此,一旦形成抗体-螯合剂缀合物,就可以将其缓冲液交换至专门针对长期贮存和稳定性选择的缓冲液中。示例性的缓冲液包括柠檬酸盐、醋酸盐、磷酸盐、精氨酸和组氨酸缓冲液。可以进行进一步的UFDF步骤以除去残留的盐并提供缀合单克隆抗体的适宜浓度、赋形剂水平和pH。可以对所得到的抗体-螯合剂缀合物进行无菌过滤和储存以供随后制剂之用。

[0197] III.使用放射性标记的免疫缀合物的方法

[0198] 在某些方面中,本公开内容提供了使用本公开内容的放射性标记的抗体缀合物的诊断和治疗方法。

[0199] 根据一个方面,本公开内容提供了检测组织中PD-L1的方法,所述方法包括向组织施用本申请提供的放射性标记的抗体缀合物;和通过正电子发射断层扫描(PET)成像使PD-L1表达可视化。在某些实施方式中,组织包括细胞或细胞系。在某些实施方式中,组织存在于对象中,其中对象是哺乳动物。在某些实施方式中,对象是人类对象。在某些实施方式中,对象患有选自下组的疾病或病症:癌症、感染性疾病和炎性疾病。在一个实施方式中,对象患有癌症。在某些实施方式中,感染性疾病是由例如乙肝病毒(HBV)、丙肝病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)和结核分支杆菌引起的细菌或病毒感染。

[0200] 根据一个方面,本公开内容提供了使表达PD-L1的组织成像的方法,所述方法包括向所述组织使用本公开内容的放射性标记的抗体;和通过正电子发射断层扫描(PET)成像使PD-L1表达可视化。在一个实施方式中,组织包含在肿瘤中。在一个实施方式中,组织包含在肿瘤细胞培养物或肿瘤细胞系中。在一个实施方式中,组织包含在对象的肿瘤病变中。

[0201] 根据一个方面,本公开内容提供了用于测量对治疗的应答的方法,其中通过测量炎症来测量对治疗的应答。根据这一方面,该方法包括向需要其的对象施用本申请提供的放射性标记的抗体缀合物,并通过正电子发射断层扫描(PET)成像使PD-L1表达可视化。在某些实施方式中,炎症存在于对象的肿瘤中。在某些实施方式中,PD-L1表达增加与肿瘤中的炎症增加相关。

[0202] 根据一个方面,本公开内容提供了用于确定是否患者适于包含PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法的方法,所述方法包括选择患有实体瘤的患者,施用本公开内容的放射性标记的抗体缀合物,和通过PET成像在肿瘤中定位所施用的放射性标记的抗体缀合物,其中在肿瘤中存在放射性标记的抗体缀合物表明患者适于包含PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法。

[0203] 根据一个方面,本公开内容提供了用于鉴定包含PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法的候选人的方法,所述方法包括选择患有实体瘤的患者,施用本公开内容的放射性标记的抗体缀合物,和通过PET成像在肿瘤中定位所施用的放射性标记的抗体缀合物,其中在肿瘤中存在放射性标记的抗体缀合物表明患者适于包含PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法。

[0204] 根据一个方面,本公开内容提供了用于预测患者对包含PD-1/PD-L1信号轴抑制剂的抗肿瘤疗法的应答的方法,所述方法包括选择患有实体瘤的患者,确定是否肿瘤为PD-L1阳性,其中如果肿瘤是PD-L1阳性的,则预测患者具有阳性应答。在某些实施方式中,通过施用本公开内容的放射性标记的抗体缀合物并通过PET成像在肿瘤中定位放射性标记的抗体缀合物确定肿瘤是阳性的,其中在肿瘤中存在放射性标记的抗体缀合物表明肿瘤是PD-L1阳性的。

[0205] 根据一个方面,本公开内容提供了用于在对象中检测PD-L1阳性肿瘤的方法。根据这一方面,该方法包括选择患有实体瘤的对象,向对象施用本公开内容的放射性标记的抗体缀合物,和通过PET成像确定放射性标记的抗体缀合物的定位,其中在肿瘤中存在放射性标记的抗体缀合物表明肿瘤是PD-L1阳性的。

[0206] 如在本申请中所使用的,表述“需要其的对象”指表现出癌症的一种或多种症状或适应证,和/或已被诊断为癌症(包括实体瘤)且需要对其进行治疗的人类或非人哺乳动物。在很多实施方式中,术语“对象”可以与术语“患者”互换使用。例如,人类对象可以是被诊断

为患有原发性或转移性肿瘤和/或具有一种或多种症状或适应证,包括但不限于不明原因的体重减轻、全身无力、持续性疲乏、食欲不振、发烧、盗汗、骨骼疼痛、呼吸短促、腹胀、胸痛/压力、脾脏肿大以及癌症相关生物标记物(例如,CA125)水平升高。该表述包括具有原发性或已建立肿瘤的对象。在特定的实施方式中,该表述包括患有和/或需要针对实体瘤(例如,结肠癌、乳腺癌、肺癌、前列腺癌、皮肤癌、肝癌、骨癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、头颈癌和脑癌)进行治疗的人类对象。该术语包括患有原发性或转移性肿瘤(晚期恶性肿瘤)的对象。在某些实施方式中,表述“需要其的对象”包括患有对此前的疗法(例如,使用抗癌剂治疗)具有抗性或使用其难以治疗或无法充分控制的实体瘤的患者。例如,该表述包括已使用一种或多种此前的疗法进行治疗的对象,如使用化疗进行治疗(例如,卡铂或多西他赛)。在某些实施方式中,表述“需要其的对象”包括患有已使用一种或多种此前的疗法进行治疗但是随后已复发或转移的实体瘤的患者。在某些实施方式中,该术语包括患有炎症性疾病或病症的对象,包括但不限于癌症、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化、牙周炎、花粉症、心脏病、冠状动脉疾病、感染性疾病、支气管炎、皮炎、脑膜炎、哮喘、肺结核、溃疡性结肠炎、克罗恩病、炎症性肠病、肝炎、鼻窦炎、银屑病、过敏、纤维化、狼疮、血管炎、强直性脊柱炎、格雷夫斯病、乳糜泻、纤维肌痛和移植排斥。

[0207] 在某些实施方式中,本公开内容的方法用于患有实体瘤的对象。术语“肿瘤”、“癌症”和“恶性肿瘤”在本申请中互换使用。如在本申请中所使用的,术语“实体瘤”指通常不含囊肿或液体区域的异常组织块。实体瘤可以是良性的(不是癌症)或恶性的(癌症)。出于本公开内容的目的,术语“实体瘤”指恶性实体瘤。该术语包括以形成其的细胞类型命名的不同类型的实体瘤,即肉瘤、癌和淋巴瘤。在某些实施方式中,术语“实体瘤”包括癌,其包括但不限于结直肠癌、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌、脑癌、宫颈癌、膀胱癌、肛门癌、子宫癌、结肠癌、肝癌、胰腺癌、肺癌、子宫内膜癌、骨癌、睾丸癌、皮肤癌、肾癌、胃癌、食道癌、头颈癌、唾液腺癌和骨髓瘤。

[0208] 根据一个方面,本公开内容提供了在对象中治疗肿瘤的方法。根据这一方面,该方法包括选择患有实体瘤的对象;确定该肿瘤是PD-L1阳性的;以及施用一个或多个剂量的PD-1/PD-L1信号轴抑制剂。在某些实施方式中,通过向对象施用本公开内容的放射性标记的抗体缀合物;通过PET成像将肿瘤中的放射性标记的抗体缀合物可视化来确定肿瘤是PD-L1阳性的,其中在肿瘤中存在放射性标记的抗体缀合物表明肿瘤是PD-L1-阳性的。

[0209] 如在本申请中所使用的,术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”等指减轻症状,暂时或永久性消除导致症状的原因,以延迟或抑制肿瘤生长,降低肿瘤细胞负载或肿瘤负荷,促进肿瘤消退,引起肿瘤缩小、坏死和/或消失,预防肿瘤复发,预防或抑制转移,抑制转移性肿瘤生长和/或增加对象存活持续时间。

[0210] 根据一个方面,本公开内容提供了用于在对象中监测抗肿瘤疗法有效性的方法,其中所述方法包括选择患有实体瘤的对象,其中使用抗肿瘤疗法对所述对象进行治疗;向所述对象施用本公开内容的放射性标记的抗体缀合物;通过PET成像对所施用的放射性标记的缀合物在肿瘤中的定位进行成像;和确定肿瘤生长情况,其中放射性标记的信号与基线相比降低表明肿瘤消退和抗肿瘤疗法的有效性。在某些实施方式中,抗肿瘤疗法包括PD-1/PD-L1信号轴抑制剂(例如,抗-PD-1抗体)。

[0211] 在某些实施方式中,本公开内容提供了评估肿瘤的炎症状态变化情况的方法,其

中所述方法包括选择患有实体瘤的对象,其中使用抗肿瘤疗法对所述对象进行治疗;向所述对象施用本申请提供的放射性标记的抗体缀合物;通过PET成像对所施用的放射性标记的缀合物在肿瘤中的定位进行成像;其中放射性标记的信号与基线相比增加表明炎症增加和抗肿瘤疗法的有效性。在某些实施方式中,抗肿瘤疗法包括PD-1/PD-L1信号轴抑制剂(例如,抗-PD-1抗体)。

[0212] 如在本申请中所使用的,针对在肿瘤中PD-L1的表达,术语“基线”指某一剂量抗肿瘤剂施用之前或施用对象摄入放射性标记的缀合物的数值。使用本领域公知的方法确定放射性标记的缀合物的摄入情况(参见例如,Oosting等,2015,J.Nucl.Med.56:63-69)。在某些实施方式中,抗肿瘤疗法包括PD-1/PD-L1信号轴抑制剂。

[0213] 为确定是否存在肿瘤消退,在基线时以及在施用PD-1/PD-L1信号轴抑制剂(例如,抗-PD-1抗体)后的一个或多个时间点对放射性标记的缀合物的摄入情况进行定量。例如,可以在开始使用PD-1/PD-L1信号轴抑制剂(例如,抗-PD-1抗体)治疗后第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第14天、第15天、第22天、第25天、第29天、第36天、第43天、第50天、第57天、第64天、第71天、第85天;或在第1周、第2周、第3周、第4周、第5周、第6周、第7周、第8周、第9周、第10周、第11周、第12周、第13周、第14周、第15周、第16周、第17周、第18周、第19周、第20周、第21周、第22周、第23周、第24周或更长时间结束时测量所施用的放射性标记的抗体缀合物(例如,放射性标记的抗-PD-L1抗体缀合物)的摄入情况。将开始治疗后某一特定时间点的摄入值与基线时的摄入值之间的差异用于确定肿瘤组织的量是否存在差异(肿瘤消退或进展)。例如,使用至少1剂PD-1/PD-L1信号轴抑制剂治疗后摄入与基线相比降低,表明肿瘤消退以及提示抗肿瘤疗法的有效性。

[0214] 在某些实施方式中,向对象静脉内或皮下施用放射性标记的抗体缀合物。在某些实施方式中,瘤内施用放射性标记的抗体缀合物。施用后,放射性标记的抗体缀合物定位于肿瘤中。通过PET成像对定位的放射性标记的抗体缀合物进行成像,并且通过本领域公知的方法测量肿瘤对放射性标记的抗体缀合物的摄入情况。在某些实施方式中,在施用放射性标记的缀合物后1、2、3、4、5、6或7天后进行成像。在某些实施方式中,在施用放射性标记的抗体缀合物的当天进行成像。

[0215] 在某些实施方式中,抗体或其抗原结合片段与PD-L1特异性结合。在某些实施方式中,抗-PD-L1抗体包含HCVR中的CDR,其中HCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、34、50、82、98、146、162、178、186、234、250、290、306、314和330;和LCVR中的CDR,其中LCVR具有选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、42、58、90、106、154、170、194、242、258和274。

[0216] 在某些实施方式中,PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂包括与PD-1特异性结合的抗体或其抗原结合片段。在某些实施方式中,抗-PD-1抗体选自下组:纳武单抗、帕博利珠单抗和REGN2810。在某些其他实施方式中,PD-1/PD-L1信号轴的抑制剂包括与PD-L1特异性结合的抗体或其抗原结合片段。在一个实施方式中,抗-PD-L1抗体是阿特珠单抗。在一个实施方式中,抗-PD-L1抗体包SEQ ID NO:82所示的HCVR和SEQ ID NO:90所示的LCVR。

[0217] IV. 实施例

[0218] 通过下述非限制性实施例来说明本公开内容的某些实施方式。

[0219] 实施例1:针对PD-L1的人抗体的产生

[0220] 如美国专利公开号US 2015-0203580 A1中所述制备和表征人抗PD-L1抗体(包括

表1中列出的那些),其全部内容通过引用并入本申请。简言之,使用PD-L1的片段产生针对PD-L1的人抗体,PD-L1片段的范围大约从PD-L1的氨基酸19-239 (Genbank登陆号:NP_054862.1)。直接给予免疫原和佐剂以刺激VELOCIMMUNE[®]小鼠产生免疫应答,所述VELOCIMMUNE[®]小鼠包含编码人免疫球蛋白重链和κ轻链可变区的DNA。通过PD-L1特异性免疫测定,监测抗体的免疫应答。当达到所需的免疫应答时,收集脾细胞并与小鼠骨髓瘤细胞融合以保持其活力,并形成杂交瘤细胞系。筛选和选择杂交瘤细胞系以鉴定生产PD-L1特异性抗体的细胞系。使用这种技术,以及上文所述的免疫原,获得了若干抗-PD-L1嵌合抗体(即,具有人可变结构域和小鼠恒定结构域的抗体);将采用这种方法产生的示例性抗体命名为H2M8306N、H2M8307N、H2M8309N、H2M8310N、H2M8312N、H2M8314N、H2M8316N、H2M8317N、H2M8321N、H2M8323N、H2M8718N、H2M8718N2和H2M8719N。

[0221] 如U.S.2007/0280945A1中所述,还直接从未与骨髓瘤细胞融合的抗原阳性B细胞中分离抗-PD-L1抗体,其全部内容通过引用并入本申请。使用这种方法获得了若干全人抗-PD-L1抗体(即,具有人可变结构域和人恒定结构域的抗体);将采用这种方法产生的示例性抗体命名如下:H1H9323P、H1H9327P、H1H9329P、H1H9336P、H1H9344P2、H1H9345P2、H1H9351P2、H1H9354P2、H1H9364P2、H1H9373P2、H1H9382P2、H1H9387P2和H1H9396P2。

[0222] 实施例2:抗-PD-L1抗体H4H8314N与p-SCN-Bn-DF0的缀合

[0223] 为了对母体抗-PD-L1抗体H4H8314N和同种型对照抗体进行修饰以使其适于使用放射性标记的免疫PET研究,将螯合剂p-SCN-bn-去铁胺(DF0;Macrocylics,目录号:B-705)附接到抗体上。

[0224] 为了进行修饰,首先通过在4℃下透析过夜(Slide-A-Lyzer透析盒G2 10k MWC0; ThermoScientific)将H4H8314N从组氨酸缓冲液中通过缓冲液交换至PBS(pH 7.2)中,然后使用PD-10柱(GE Healthcare,目录号:17-0851-01)再通过缓冲液交换至由50mM碳酸盐缓冲液、150mM NaCl组成的缓冲液中(pH 9.0)(缀合缓冲液)。为了确定缓冲液交换后的浓度,使用基于MacVector序列的消光系数1.46g/L(见表2)在Nanodrop 2000UV/VIS分光光度计(Thermo Scientific)上对样品进行测量。在15mL聚丙烯管中,将773.9uL H4H8314N(12.5mg)加入1676.1uL缀合缓冲液中。在单独的小瓶中,将29.3uL DMSO加入20.7uL DF0中。以四分之一的增量,将该DF0溶液加入H1H8314N溶液中,每次均通过使用移液器上下吹打轻柔混合。H4H8314N在含2%DMSO的缀合缓冲液中的终浓度为5mg/mL,其具有6倍摩尔过量的DF0。将该溶液在37℃水浴中孵育,无需另外搅拌。

[0225] 在37℃下30分钟后,使溶液迅速通过预先用含250mM NaAcO的缓冲液(pH 5.4)(制剂缓冲液)平衡的PD-10脱盐柱(GE Healthcare,目录号:17-0851-01)。通过针筒过滤器(Acrodisc 13mm注射器滤器,Pall Corporation,目录号:4602)对最终的溶液进行无菌过滤。随后利用UV/VIS分光光度计测量浓度和DF0与抗体的比例(DAR)。为了进行吸光度测量,在252nm(A252)、280nm(A280)和600nm(A600)下针对制剂缓冲液对DF0缀合的抗体进行测量。为了进行计算,使用下述方程在每个吸光度值处进行背景校正:

$$[0226] \quad A'_{\lambda} = A_{\lambda} - A_{600}$$

[0227] 使用SEC色谱对抗体缀合物的聚集情况进行检测,将25ug样品注入Superdex 200柱(GE Healthcare,目录号:17-5175-01),在280nm下使用PBS流动相(0.75mL/min)监测。通过SDS-PAGE 4-20%Tris/Gly预制凝胶(Novex),上样量2ug,评价抗体完整性。凝胶如图1中

所示。图1.使用下述方程计算抗体浓度、缀合物浓度和DAR:

[0228] 抗体浓度计算

$$[0229] \quad \text{Conc mAb (mg/mL)} = \frac{A'_{280}}{\epsilon_{280}}$$

[0230] 缀合物浓度计算

$$[0231] \quad \text{Conc conjugate (mg/mL)} = \frac{A'_{252} - 1.53A'_{280}}{\epsilon_{252} - 1.53\epsilon_{280}}$$

[0232] DAR计算

$$[0233] \quad \text{DAR} = \frac{\epsilon_{252}A'_{280} - \epsilon_{280}A'_{252}}{18800A'_{252} - 28700A'_{280}}$$

[0234] 表2:摩尔消光系数和分子量

[0235]	抗体	MW (g mol ⁻¹)	ϵ_{280} (L g ⁻¹ cm ⁻¹)	ϵ_{252} (L g ⁻¹ cm ⁻¹)
	H4H8314N	144984	1.46	0.553

[0236] 表3:DF0附接后的UV DAR、聚集百分比和浓度

[0237]	抗体	UV DAR	浓度 (mg/mL)	聚集%
	H4H8314N	1.2	3.34	< 1%

[0238] 实施例3:DF0缀合单克隆抗体的⁸⁹Zr螯合

[0239] 为了在体内研究中使用免疫PET,使用⁸⁹Zr对DF0缀合的抗-PD-L1抗体、H4H8314N和DF0缀合的同种型对照抗体进行放射性标记。

[0240] 首先使DF0缀合抗体(250或750ug)在1M HEPES(pH 7.2)中达到1.25mg/mL。用于每项研究的DF0-Ab缀合物的配方列于表4中。另外,使用表5中所示的每项研究对应的配方制备⁸⁹Zr溶液。⁸⁹Zr-草酸储备液来自PerkinElmer或3D Imaging。如果储备液的放射性浓度较低(见表5),使用1M硼酸盐(pH 9.0)进行中和步骤。首先使用Capintec CRC-25R剂量校准仪(Capintec#520)确认溶液最终的放射性,然后立即与DF0-Ab缀合物溶液合并,轻柔混合(用移液器上下吹打),随后在室温下孵育45分钟。

[0241] 孵育后,取每个反应混合物的少量样品进行iTLC(瞬时薄层液相色谱)以确定放射性标记的反应收率,并将剩余反应混合物转移至使用250mM醋酸钠(pH 5.4)预平衡的PD-10柱(Vendor)进行重力脱盐。每个PD-10柱使用不超过1.2mL反应混合物(否则使用多个柱)。在反应内容物进入柱床后,加入1.6mL 250mM醋酸钠(pH 5.4)(制剂缓冲液);弃去流出物。向柱中再加入1.8mL制剂缓冲液,从每个柱收集洗脱液。接下来,使用Nanodrop分光光度计(ThermoScientific)分析约500uL每种溶液。利用下述方程使用280nm下适当的消光系数和吸光度计算最终的Ab浓度:

[0242] 浓度(mg/mL) = 280nm下的吸光度 ÷ 280nm下的消光系数(见表6)

[0243] 以克为单位测量的最终质量记录在表4中。然后使用剂量校准仪测量放射性并在表5中报告。然后,利用iTLC分析最终的物质以及使用PD-10柱处理之前的物质。对于该测定,将1uL每种溶液加入使用硅胶浸渍的iTLC-SG-玻璃微纤维层析纸(Agilent

Technologies, 目录号SG10001) 中, 在TLC室中使用20mM柠檬酸缓冲液显色。还使用带有串联的UV 280和放射性同位素检测器的SEC-HPLC(带有Lablogic Radio-TLC/HPLC检测器的Agilent 1260) 对最终的物质进行分析, 该分析使用Superdex 200柱, 以PBS作为流动相, 流速为0.75mL/min。将放射性示踪剂用于通过比较蛋白峰(~10至16min) 与游离⁸⁹Zr峰(~25min) 的积分确定放射化学纯度。通过比较寡聚峰(10min至~15min) 与单体(~16min) 的积分确定单体纯度。

[0244] 使用下述方程确定每个放射性标记缀合物的比活度和蛋白回收率(%):

[0245] a. 缀合物的质量(mg) = 溶液的浓度(mg/mL) x 溶液的质量(g)

[0246] b. 比活度(mCi/mg) = 检测瓶的活度(mCi) ÷ 缀合物的质量(mg)

[0247] c. 蛋白回收率 = 初始缀合物质量(mg) ÷ 缀合物质量(mg)

[0248] 记录最终的外观并记录在表7中。UV280和iTLC示踪均在纯化的产品上进行。

[0249] 结果汇总在表7中。放射性-SEC-HPLC色谱图如图2-4所示。针对研究1的⁸⁹Zr放射性标记的UV280HPLC SEC色谱图和放射性-iTLC的实例如图5中所示。UV280-HPLC SEC色谱图证实了具有较多的单体产物(99%)。采用7点二项平滑函数对放射性-iTLC示踪进行处理。原点和溶剂前沿分别为约16和100mm。在22mm之外未观察到可检测的⁸⁹Zr, 并且证实了在图2B中通过放射性-SEC-HPLC SEC确定的放射化学纯度。

[0250] 表4: 用于放射性标记的DFO-抗体缀合物的制备

放射性标记#	研究#	放射性标记批号	浓度 (mg/mL)	DAR *	缀合物质量 (mg)	总体积 (uL)	终浓度 (mg/mL)
1	1	同种型-DFO- ⁸⁹ Zr	3.7	1.6	250	200	1.25
[0251] 2	1	H4H8314N-DFO- ⁸⁹ Zr	3.34	1.2	250	200	1.25
3	2	H4H8314N-DFO- ⁸⁹ Zr	3.34	1.2	750	600	1.25
4	3	同种型-DFO- ⁸⁹ Zr	3.7	1.6	250	200	1.25
5	3	H4H8314N-DFO- ⁸⁹ Zr	3.34	1.2	250	200	1.25

[0252] *将DAR定义为DFO与抗体的比值。

[0253] 表5: 用于放射性标记的⁸⁹Zr反应溶液的制备

放射性标记	研究#	放射性标记批号	⁸⁹ Zr-o 草酸盐 (uL)	再加入 1 M 草酸 (uL)	加入 1 M 硼酸盐, pH 9.0 (uL)	1 M HEPES, pH 7.2 (uL)	终体积 (uL)	最终的活度 (uCi)	比活度 (uCi/uL)
1	1	同种型-DFO- ⁸⁹ Zr	50	50	400	500	1000	1009	1.01
2	1	H4H8314N-DFO- ⁸⁹ Zr	50	50	400	500	1000	1000	1
[0254] 3	2	H4H8314N-DFO- ⁸⁹ Zr	150	150	1200	1500	3000	3070	1.02
[0255] 4	3	同种型-DFO- ⁸⁹ Zr	~1	0	0	1000	1000	1680	1.68
5	3	H4H8314N-DFO- ⁸⁹ Zr	~1	0	0	1000	1000	1640	1.64

[0256] 表6: 缀合物批次的消光系数

放射性标记批号	ϵ_{280} (AU ml mg ⁻¹ cm ⁻¹)
同种型-DFO- ⁸⁹ Zr	1.71

H4H8314N-DFO- ⁸⁹ Zr	1.61
--------------------------------	------

[0258] 表7:用于体内成像和生物分布研究的⁸⁹Zr标记的DFO-Ab缀合物总结

放射性标记	研究#	缀合物批号	外观	放射化学纯度* (%)	单体纯度* (%)	蛋白回收率 (%)	浓度 (mg/mL)	比活度 (mCi/mg)
	1	同种型-DFO- ⁸⁹ Zr	澄清	>99%	>95%	60%	0.106	3.35
[0259]	2	H4H8341N-DFO- ⁸⁹ Zr	澄清	>99%	>95%	63%	0.121	2.75
	3	H4H8341N-DFO- ⁸⁹ Zr	澄清	>99%	>95%	62%	0.134	3.58
	4	同种型-DFO- ⁸⁹ Zr	澄清	>99%	>95%	66%	0.074	5.38
	5	H4H8341N-DFO- ⁸⁹ Zr	澄清	>99%	>95%	74%	0.084	5.13

[0260] *根据放射性-SEC-HPLC

[0261] 实施例4:免疫反应性

[0262] 按照如下所示测量放射性标记的抗-PD-L1抗体和同种型对照抗体的免疫反应性(IR)。对于初始研究而言,使用MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞,最后在后续研究中还使用LOX-IMVI细胞(参见实施例5中对细胞系的详细描述)。在这些测定中,将20ng的每种⁸⁹Zr标记的抗体加入终体积为1mL的15x 10⁶个MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}或30x 10⁶个LOX-IMVI细胞中。在持续混合的条件下将样品孵育45分钟,随后使用培养基洗涤3次,以除去任何未结合的抗体。然后在自动γ计数器(Wizard 2470, Perkin Elmer)中针对含有相同20ng ⁸⁹Zr标记抗体的2个参照标准品对待测细胞球团的放射性活度进行计数。使用标准品的平均值作为总活度的指标确定样品的免疫反应性百分比。

[0263] 如表8中所示,经过缀合和放射性标记后,⁸⁹Zr标记的抗-PD-L1抗体仍保持了免疫反应性,在各研究之间其% IR的范围从88至98%。结合的特异性是明显的,对照抗体具有的背景% IR小于1%。

[0264] 表8:⁸⁹Zr螯合的DFO-缀合物的免疫反应性

研究	研究 1		研究 2		研究 3			
细胞系	MC38-cOVA/ eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}		MC38-cOVA/ eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}		MC38-cOVA/ eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}		LOX-IMVI	
抗体	⁸⁹ Zr-抗-PD-L1	⁸⁹ Zr-对照	⁸⁹ Zr-抗-PD-L1	⁸⁹ Zr-对照	⁸⁹ Zr-抗-PD-L1	⁸⁹ Zr-对照	⁸⁹ Zr-抗-PD-L1	⁸⁹ Zr-对照
[0265] 细胞球团活度	4048.4	29.6	8311.9	na	6262.4	68	5587.54	65.4
平均标准活度	4536.5	6432.4	8567.2	na	6386.6	9544.8	6386.6	9544.8
IR 百分比	89.2	0.5	97.0	na	98.1	0.7	87.5	0.7

[0266] 实施例5:人PD-L1在肿瘤细胞系上表达情况的体外和离体表征

[0267] 研究了若干肿瘤细胞系以评估人PD-L1的表达水平,其目的是检测在体内肿瘤内源性表达人PD-L1的情况,使用了雄性NCr裸小鼠(Taconic, Hudson NY)或在使用VelociGene®技术(Valenzuela等,2003,Nat.Biotechnol.21:652-659;美国专利申请公开号US2016/0157469)在75%C57/B16/25%129品系背景下经工程化改造以将小鼠PD-L1胞外域

替换为纯合表达人PD-L1胞外域的小鼠 (PD-L1HumIn小鼠)。

[0268] 在这些研究中使用的细胞系包括:1) 小鼠结肠癌细胞系MC38 (获自位于Frederick,MD的NCI,肿瘤免疫学和生物学实验室),已在内部对其进行了工程化改造,敲除了小鼠PD-L1,但过表达全长人PD-L1和与eGFP融合的全长鸡卵白蛋白,因此称为MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg};2) 几种人肿瘤细胞系:人黑色素瘤细胞系LOX-IMVI (内源性PD-L1阳性细胞系,获自位于Frederick,MD的NCI,癌症治疗和诊断部门,肿瘤库),人乳腺癌细胞系MDA-MB-231 (内源性PD-L1阳性细胞系) 和SK-Br-3 (PD-L1阴性细胞系) (均获自ATCC)。在一些情况下,直接对人PD-L1进行评估,而不进行任何体外诱导;在一些情况下,使用小鼠或人IFN γ (100ng/ml) (获自Peprotech) 处理过夜后评估人PD-L1的表达;在一些情况下,将从荷瘤裸小鼠或人源化小鼠提取物的肿瘤细胞酶促解离后,离体对人PD-L1进行评估。按照标准方案进行人PD-L1的所有表面染色。简言之,将肿瘤细胞使用PBS洗涤一次,使用冰冷的染色缓冲液洗涤一次,使用含市售的与荧光团直接缀合的抗-人PD-L1抗体 (eBioscience,克隆MIH1) 的染色缓冲液在冰上避光染色30分钟,然后再使用2mL PBS洗涤一次。按照生产厂商的方案,还包括可固定的染料eFluor506 (eBioscience,目录号:17-5983)。在配有DIVA v8的BD FACSCanto IITM IVD10上采集样品。使用FlowJo v10.0.6或更高版本进一步分析数据。

[0269] 接种前以及在裸小鼠中接种7天后MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞的PD-L1表达情况如表9中所示。

[0270] 表9:接种前以及在裸小鼠中接种7天后人PD-L1阳性MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞的百分比

[0271]	同种型染色	hPD-L1染色
接种前	0.6%	94.7%
接种后	1.09%	74.0%

[0272] 接种前,与同种型对照染色相比,绝大多数MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞是人PD-L1阳性的。在裸小鼠中接种7天后并且通过酶促和机械处理将肿瘤分散后,~70%的MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞仍为人PD-L1阳性。

[0273] 接种前以及在PD-L1人源化小鼠中接种14天后MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞的PD-L1表达情况如表10中所示。

[0274] 表10:接种前以及在PD-L1人源化小鼠中接种14天后人PD-L1阳性MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞的百分比

[0275]	同种型染色	hPD-L1染色
接种前	0.2%	92.5%
接种后	3.6	46.2%

[0276] 接种前,与同种型对照染色相比,绝大多数MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞是人PD-L1阳性的。在PD-1/PD-L1双人源化小鼠中接种14天后并且通过酶促和机械处理将肿瘤分散后,~50%的MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞仍为人PD-L1阳性。

[0277] 多种肿瘤细胞系在体外的PD-L1表达情况如图6中所示。为评价经工程改造的细胞系 (MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}) 与其他人肿瘤细胞系 (LOX-IMVI黑色素瘤细胞、MDA-MB-231乳腺癌细胞和SK-Br-3乳腺癌细胞) 的PD-L1表达水平具有怎样的可比性,进行

了抗-PD-L1抗体染色的剂量滴定。图6表明MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}的人PD-L1表达水平最高(图6A)和SK-Br-3的表达最低,未检测到PD-L1(表6D),而LOX-IMVI和MDA-MB-23的PD-L1表达居中(大约比MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}低5倍)(图6B和6C)。

[0278] 在第二项实验中,对LOX-IMVI与MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}之间的进一步比较,通过分别在使用或不使用100ng/mL hIFN γ /mIFN γ 处理过夜的条件下进行。图7表明在使用~150nM抗-PD-L1抗体染色时PD-L1的中位荧光强度达到平顶。在基线时,LOX-IMVI的PD-L1表达中等(大约比MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}低6-7倍)。使用mIFN γ 处理后,在MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}上PD-L1的染色没有变化,而使用hIFN γ 处理后在LOX-IMVI中可见人PD-L1的染色增加3倍。

[0279] 在裸小鼠中接种约3周后,LOX-IMVI和MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞在离体条件下的PD-L1表达情况如表11和12中所示。

[0280] 表11:在裸小鼠中接种~3周后PD-L1阳性LOX-IMVI和MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞的百分比

[0281]	同种型染色	hPD-L1染色
LOX-IMVI	0.2%	56.6%
MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	0.2%	96.2%

[0282] 表12:在裸小鼠中接种~3周后LOX-IMVI和MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞中PD-L1的平均荧光强度

[0283]	肿瘤1	肿瘤2
LOX-IMVI	8479.1	12121.5
MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	49589.1	51445.0

[0284] 通过酶促和机械处理将肿瘤分散后,使用抗-PD-L1抗体(20 μ g/mL)将细胞染色。在LOX-IMVI上PD-L1的表达水平比在MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤细胞上低约5倍。

[0285] 实施例6:放射性标记的抗-PD-L1抗体在裸小鼠hPD-L1阳性肿瘤中的选择性定位

[0286] 为了确定抗-PD-L1抗体的体内定位,向携带PD-L1阳性肿瘤的裸小鼠静脉内给予铈-89标记的DF0-抗体缀合物。

[0287] 用于本研究的肿瘤细胞系是称为MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}的小鼠结肠癌细胞系,对其进行工程化改造以便从野生型MC38中敲除小鼠的PD-L1,但是过表达全长人PD-L1和与eGFP融合的全长鸡卵白蛋白。对于使用内源性表达人PD-L1的肿瘤的第二项研究而言,将人黑色素瘤细胞系LOX-IMVI用于在体内建立肿瘤以用于随后的抗-PD-L1抗体定位研究。

[0288] 用于本研究的示例性放射性标记的抗-PD-L1抗体是H1H8314N,其包含SEQ ID NO: 82/90所示的HCVR/LCVR。

[0289] 对于第1项研究而言,将1x 10⁶个MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞皮下接种至雄性8-10周龄NCR裸小鼠(Taconic, Hudson NY)的左侧肋腹部。对于LOX-IMVI肿瘤,将1x 10⁶个细胞皮下接种至雄性8-10周龄NCR裸小鼠的左侧肋腹部。一旦肿瘤达到50-150mm³的平均体积(~第7-10天),对小鼠进行随机分组,并给予⁸⁹Zr标记的抗-PD-L1DF0-抗体缀合物(H1H8314N)或⁸⁹Zr标记的非结合性同种型对照DF0-抗体缀合物。给予携带MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤的裸小鼠50 \pm 1uCi ⁸⁹Zr标记的抗体(蛋白剂量~0.6mg/kg)。在

使用携带LOX-IMVI肿瘤的小鼠进行的研究中,以最终抗体剂量0.3或1mg/kg给予小鼠 $35 \pm 1 \mu\text{Ci}^{89}\text{Zr}$ 标记的抗体。

[0290] 给予抗体后6天评估抗体定位的PET成像。使用Sofie Biosciences G8 PET/CT (Sofie Biosciences and Perkin Elmer) 采集图像。在采集图像之前,对仪器进行预校正以检测 ^{89}Zr 。能量窗的范围为150至650keV,在视场中心的重建分辨率为1.4mm。使用异氟烷对小鼠进行诱导麻醉,并在成像期间保持连续的异氟烷气流。使用G8采集软件采集静态10分钟的图像,然后使用预先配置的设置重建。针对衰减和其他参数校正图像数据。在PET采集之后获取CT图像,并且随后与PET图像配准。使用VivoQuant后处理软件 (inviCRO Imaging Services) 制作图像。

[0291] 为获得生物分布,在最后一个时间点 (给药后5-6天) 将小鼠麻醉,并且通过心脏穿刺采血。然后,切取肿瘤和正常组织,并放入计数管中。测量和记录每个样品的重量。随后,通过在自动 γ 计数器(Wizard 2470,Perkin Elmer)上对样品进行测量采集 ^{89}Zr 的计数数据(以CPM计)。使用由注射材料制备的标准品计算每个样品的每克注射剂量百分比(% ID/g)。

[0292] 每种抗体的平均% ID/g如表13中所示。

[0293] 表13:在所分析组织中的平均% ID/g

样品	^{89}Zr -H1H8314N		^{89}Zr -同种型对照抗体	
	平均值 %ID/g	标准差 %ID/g	平均值 %ID/g	标准差 %ID/g
肝脏	3.1	0.4	0.9	0.9
脾脏	4.4	1.1	1.5	1.3
肾脏	4.0	0.7	1.4	1.6
骨	5.1	2.6	1.7	1.6
肺	5.1	1.1	2.5	3.0
心脏	2.4	0.2	1.3	1.4
血液	7.6	1.6	3.8	4.6
胸腺	5.3	3.0	2.8	2.2
MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	55.3	12.2	3.0	3.3
S.BOWEL	1.5	0.3	0.6	0.6

[0295] 由此可见,与其他正常组织相比,在MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤中具有明显更高的摄取量,在肿瘤中的摄取量为55.3% ID/g,显著高于在胸腺中观察到的第二高的摄取量5.3% ID/g。肿瘤摄取量分别比在血液和肝脏中的活性高7.3倍和17.8倍。与在非结合性同种型对照抗体中观察到的显著降低的肿瘤摄取量(3%)相比,抗-PD-1摄入肿瘤的特异性(55.3% ID/g)是明显的。在本申请中进行的试验性PET成像表明 ^{89}Zr 标记的抗-PD-L1DF0抗体缀合物清晰地定位在MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤中。在此给药后第6天的时间点,在动物中几乎观察不到背景信号。而与使用抗-PD-L1抗体的清楚的肿瘤定位相反的是,在该模型对照抗体的成像中仅有微弱的背景活性。成像清楚地表明在人PD-L1阳性肿瘤中抗-PD-L1抗体能够被高特异性摄取,显示了 ^{89}Zr 放射性标记的抗-PD-L1抗体在NCr裸小鼠MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤中的定位。

[0296] 在第2项研究中,评估了抗-PD-L1抗体选择性靶向表达内源性水平的人PD-L1抗原的肿瘤的能力。在这里,给予携带人LOX-IMVI黑色素瘤的小鼠剂量为0.3和1mg/kg的 ^{89}Zr 标记的抗体。再次,在注射后第6天收集血液、肿瘤和组织,并计算样品的% ID/g。每种抗体的

平均% ID/g如表14中所示。

[0297] 表14: 在第2项研究的所分析组织中的平均% ID/G (LOX- IMVI肿瘤)

样品	⁸⁹ Zr-DFO-H1H8314N 0.3 mg/kg		⁸⁹ Zr-DFO-H1H8314N 1 mg/kg		⁸⁹ Zr-同种型对照抗体 1 mg/kg	
	平均值 %ID/g	标准差 %ID/g	平均值 %ID/g	标准差 %ID/g	平均值 %ID/g	标准差 %ID/g
肝脏	2.9	0.3	3.3	0.2	3.9	0.3
脾脏	4.2	0.2	4.3	0.9	4.2	0.7
肾脏	4.3	0.4	4.3	0.8	3.4	0.4
骨	3.2	0.6	2.7	0.5	3.6	0.4
肺	5.7	1.0	6.6	1.6	5.9	1.2
心脏	3.2	0.8	3.2	0.4	2.9	0.6
血液	8.1	1.4	9.5	1.0	11.1	6.2
胸腺	5.3	2.3	5.6	0.7	4.9	1.4
LOX-IMVI 肿瘤	20.6	2.7	10.6	2.6	12.0	1.8
S.BOWEL	1.5	0.2	1.8	0.4	2.0	0.3

[0299] 在较低的0.3mg/kg剂量下,观察到相对于正常组织其对于肿瘤具有明显的靶向性,在LOX- IMVI肿瘤中观察到20.6% ID/g。当小鼠接受高于1mg/kg的剂量时,与0.3mg/kg水平相比观察到降低的肿瘤摄取量10.6% ID/g。这暗示更高的蛋白剂量和可能随后的比例更高的未标记抗体导致⁸⁹Zr标记的抗-PD-L1抗体的肿瘤摄取被阻断。据此,在生物分布研究之前立即进行PET成像也显示出1mg/kg剂量抗-PD-L1抗体的摄取大致等于对照抗体。在较低的0.3mg/kg剂量下,相对于对照抗体,抗-PD-L1抗体肿瘤定位的增加是明显的。总体而言,PET成像和生物分布数据表明0.3mg/kg剂量的抗-PD-L1抗体对LOX- IMVI肿瘤具有特异性的靶向性。

[0300] 实施例7:放射性标记的抗-PD-L1抗体在小鼠hPD-L1阳性肿瘤中的选择性定位

[0301] 本实施例描述了在PD-L1人源化的小鼠中,锆-⁸⁹标记的DFO-抗-PD-L1抗体缀合物的体内定位。在本实施例中使用的示例性抗体为H1H8314N,包含SEQ ID NO:82/90所示的HCVR/LCVR。

[0302] PD-L1人源化的小鼠是使用VelociGene®技术进行的工程化改造 (Valenzuela等, 2003,Nat.Biotechnol.21:652-659;美国专利申请公开号US2016/0157469)。

[0303] 所使用的肿瘤细胞系为称为MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}的小鼠结肠癌细胞系,在内部对其进行工程化改造以表达与eGFP融合的全长鸡卵白蛋白,敲除野生型MC38的小鼠PD-L1,但过表达全长人PD-L1。

[0304] 将1x 10⁶个MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}细胞皮下接种至雄性人源化PD-L1小鼠的左侧肋腹部。一旦肿瘤达到50-150mm³的平均体积 (~ 第7天),对小鼠进行随机分组,给予⁸⁹Zr标记的抗-PD-L1DFO-抗体缀合物或⁸⁹Zr标记的非结合性同种型对照DFO-抗体缀合物。以最终蛋白剂量1或3mg/kg给予小鼠50±1uCi ⁸⁹Zr标记的抗体。

[0305] 给予抗体后6天评价抗体定位的PET成像。使用Sofie Biosciences G8PET/CT (Sofie Biosciences and Perkin Elmer)采集图像。在采集图像之前,对仪器进行预校正以检测⁸⁹Zr。能量窗的范围为150至650keV,在视场中心的重建分辨率为1.4mm。使用异氟烷对小鼠进行诱导麻醉,并在成像期间保持连续的异氟烷气流。使用G8采集软件采集静态10分钟的图像,然后使用预先配置的设置重建。针对衰减和其他参数校正图像数据。在PET采

集之后获取CT图像,并且随后与PET图像配准。使用VivoQuant后处理软件(inviCRO Imaging Services)制作图像。

[0306] 为了获得生物分布,在最后一个时间点(给药后5-6天)将小鼠麻醉,并且通过心脏穿刺采血。然后,切取肿瘤和正常组织,并放入计数管中。测量和记录每个样品的重量。随后,通过在自动 γ 计数器(Wizard 2470,Perkin Elmer)上对样品进行测量采集 ^{89}Zr 的计数数据(以CPM计)。使用由注射材料制备的标准品计算每个样品的每克注射剂量百分比(% ID/g)。

[0307] 结果

[0308] 向携带MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤的人源化PD-L1小鼠以最终的抗体剂量1或3mg/kg给予 ^{89}Zr 标记的抗-PD-L1DF0-抗体缀合物。在注射后第6天收集血液、肿瘤和组织并称量,根据每个样品的计数计算样品的% ID/g。1和3mg/kg剂量的平均% ID/g分别见表15和表16。

[0309] 表15:1mg/kg的抗-PD-L1抗体在所分析组织中的平均% ID/g

[0310]	样品	平均值%ID/g	标准差%ID/g
	肝脏	8.6	1.5
	脾脏	14.1	1.1
	肾脏	7.8	1.0
	骨	4.5	1.4
	肺	7.9	3.0
	心脏	4.3	1.1
	血液	9.1	4.6
	胸腺	9.7	3.5
	MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	34.1	18.0
	S.BOWEL	2.4	0.9

[0311] 尽管在这些人源化小鼠的正常组织中表达PD-L1,在1mg/kg剂量水平下仍然显示出对MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤明确的肿瘤靶向性,其% ID/g为34.1%。在该剂量下, ^{89}Zr 标记抗-PD-L1抗体的一些定位显示在脾脏中,在其中观察到抗体的摄取量为14.1% ID/g。这种摄取是可预期的,因为在脾脏中人PD-L1的正常表达代替了小鼠PD-L1的表达。在3mg/kg抗体剂量下,在脾脏中 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的定位减少,因为在接受该抗体剂量的小鼠中目前的摄取量为平均9.7% ID/g(表16)。

[0312] 表16:3mg/kg的抗-PD-L1抗体在所分析组织中的平均% ID/g

[0313]	样品	平均值%ID/g	标准差%ID/g
	肝脏	6.7	1.4
	脾脏	9.7	1.3
	肾脏	7.0	1.1
	骨	3.6	0.6
	肺	11.0	1.0
	心脏	4.7	0.7
	血液	12.4	2.1
	胸腺	7.6	0.5
	MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1 ^{-/-} hPD-L1 ^{Tg}	28.7	13.1
	S.BOWEL	0.4	0.2

[0314] 在3mg/kg剂量下仍观察到清晰的肿瘤靶向性,MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤摄取量的平均值为28.7% ID/g。因此,尽管在3mg/kg剂量的成像中观察到正常组织定位减少,但是在该剂量下抗-PD-L1标记抗体在MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤中的定位仍是清楚的。总体而言,这些结果表明,在正常组织表达的常规位点上表达PD-L1的小鼠中,能够实现针对MC38-cOVA/eGFP-mPD-L1^{-/-}hPD-L1^{Tg}肿瘤的明确靶向性。

[0315] 本申请所进行研究的结果清楚地表明使用⁸⁹Zr标记的抗-PD-L1抗体能够显著的和特异性的定位至肿瘤。可以设想,将抗-PD-L1抗体用于选择患有PD-L1阳性肿瘤的患者,以在后续治疗中使用PD-1/PD-L1信号轴抑制剂。

[0316] 实施例8:用于生产DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的放大生产工艺

[0317] 本实施例详述了通过将p-SCN-bn-去铁胺(DF0)附接至本申请所述的抗-PD-L1抗体(mAb,H4H8314N)而制备适于放射性标记的抗-PD-L1抗体的放大生产工艺:(1)mAb缀合前的超滤和渗滤(UFDF)过程除去抑制缀合过程的赋形剂;(2)在缀合前的UFDF之后,进行mAb与p-SCN-Bn-去铁胺的缀合以生产DF0-mAb缀合物;和(3)缀合后UFDF以除去残留的盐,其提供缀合单克隆抗体的适宜浓度、赋形剂水平和pH。然后,以缓冲状态提供所得到的DF0-mAb缀合物,其具有改善的稳定性,用于随后的制剂。

[0318] (1) 缀合前的超滤和渗滤(UFDF)

[0319] 缀合前,使用Sius Prostream(TangenX Technology Corporation)膜(膜容量≤500g/m²)将100g抗-PD-L1抗体缓冲液交换至pH 5.50的5mM醋酸盐缓冲液中以除去残留的盐。减少处理体积以进一步浓缩抗体,然后使用具有0.45/0.2μm(异质PES双层)或等效孔径的Sartopore 2(Sartorius)对抗体进行无菌过滤。醋酸盐缓冲液的温度保持在目标温度20±5℃。将溶液充分混合。

[0320] (2) 缀合

[0321] 将经浓缩和过滤的抗体(20g)转移至含有无胺碳酸盐缓冲系统(56mM碳酸盐,167mM氯化钠,pH 9.40)的缀合容器中,使得残留醋酸盐的水平可以忽略不计。将DF0(25mM p-SCN-Bn-去铁胺)溶于DMSO,并加入缀合容器中,向缀合容器中继续添加DMSO直至DMSO的最终量为5%。以DF0与mAb 4.5:1的比例加入摩尔过量的DF0。总反应体积等于2.0L。在整个反应成分的添加过程中以及在整个反应时间内混合缓冲系统。

[0322] 通过使用将温度与反应时间相关联的方程控制特定时间的反应温度。在这种情况下

下,将反应温度在18℃下保持120分钟。通过加入2M醋酸(23mL/L)淬灭反应,使得溶液的pH为6。

[0323] (3) 缀合后UFDF

[0324] 缀合步骤之后,将经淬灭的DF0-mAb缀合溶液缓冲液交换至组氨酸缓冲液(10mM组氨酸,pH 5.50,加入0.0005% (w/v) 超精制聚山梨醇酯80作为剪切保护剂),以除去过程中残留的盐、DMSO和未反应的DF0。渗滤后,将溶液浓缩然后配成制剂。选择组氨酸缓冲液用于在-80℃下长期保存蛋白。将在步骤(1)中提及的相同的Sius Prostream膜用于最终的UFDF步骤。使用上文提及的Sartopore 2滤器对所得到的浓缩DF0-mAb缀合物溶液进行无菌过滤。

[0325] 如实施例2中所述确定UV-DAR(目标值为1.5)和蛋白浓度。

[0326] 表17:摩尔消光系数和分子量

[0327]	抗体	MW (g mol ⁻¹)	ϵ_{280} (L g ⁻¹ cm ⁻¹)	ϵ_{252} (L g ⁻¹ cm ⁻¹)
	H4H8314N	144984	211480	80172

[0328] 实施例9:预测的以IV剂量给予⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的人类受试者中全身和组织的放射性暴露量

[0329] 下述实验的目的是评价在静脉(IV)给予⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的人类对象中预测的全身和组织的放射性暴露量。在放射性标记的缀合物中使用的示例性抗-PD-L1抗体是H4H8314N。

[0330] 放射性免疫缀合物的表征

[0331] 将抗-PD-L1免疫缀合物(DF0-Ab)和同种型对照免疫缀合物(DF0-IgG4^P对照)放射性标记和纯化,以用于体内成像和生物分布研究。进行SEC-HPLC分析和基于MC38/mPD-L1^{-/-}/hPD-L1(经工程化改造以敲除小鼠PD-L1和稳定表达人PD-L1的小鼠MC38结肠腺癌细胞)细胞的体外测定以表征所得到的免疫缀合物。

[0332] 单体和放射化学纯度

[0333] 进行使用UV-和 γ -发射检测器的SEC-HPLC以评价单体和放射化学纯度。⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物和同种型对照放射免疫缀合物⁸⁹Zr-DF0-IgG4^P的放射免疫缀合物制备物的结果如图8中所示。

[0334] 进行针对280nm下吸光度的色谱分析以评价在放射免疫缀合物制备物中高分子量(HMW)和单体蛋白的相对量。如表18中总结的,⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物和同种型对照⁸⁹Zr-DF0-IgG4^P制备物中单体峰(单体纯度的读数)分别构成了总蛋白峰面积的99.6、99.2和98.6%;还检测到较低水平的HMW物质(分别为0.4、0.8和1.4%)。在所有待测样品中均未观察到低分子量(LMW)物质。

[0335] 进行针对和 γ -发射的放射性色谱分析以评价与未掺入的⁸⁹Zr相比(如游离的⁸⁹Zr或与游离DF0衍生物螯合的⁸⁹Zr),掺入放射免疫缀合物的⁸⁹Zr的相对量。如表18中总结的,未掺入⁸⁹Zr的峰构成总 γ -发射峰面积的 $\leq 1.1\%$,而放射性标记单体和HMW物质的组合峰(放射化学纯度的读数)分别构成⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物和同种型对照⁸⁹Zr-DF0-IgG4^P制备物总 γ -发射峰面积的98.9、99.5和99.5%。

[0336] 表18: SEC-HPLC数据总结

[0337]

峰编号	物质	大致的保留时间 (min)	峰面积 (%)	
			UV- 色谱图	放射性- 色谱图
⁸⁹ Zr-DFO-H4H8314N 研究 1				
1	HMW	13	0.4	1.1
2	单体	16	99.6	97.8
3	未掺入的 ⁸⁹ Zr	26	n/a	1.1
⁸⁹ Zr-DFO-H4H8314N 研究 2				
1	HMW	14	0.8	1.3
2	单体	16	99.2	98.2
3	未掺入的 ⁸⁹ Zr	26	n/a	0.5
⁸⁹ Zr-DFO-IgG4 ^P 对照				
1	HMW	13	1.4	1.5
2	单体	16	98.6	98.0
3	未掺入的 ⁸⁹ Zr	26	n/a	0.5

[0338] SEC-HPLC分析的数值以图形方式在图8中表示。UV-色谱图表示针对280nm下吸光度的色谱图,放射性色谱图表示针对 γ -发射强度的色谱图。HMW:高分子量;n/a:不适用。

[0339] 免疫反应性

[0340] 免疫反应性是衡量能够与其抗原相结合的、放射性标记的、缀合抗体的百分比的量度。通过将⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物与MC38/mPD-L1^{-/-}/hPD-L1细胞孵育确定免疫反应性。已检测的2个⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物批次表明,其在MC38/mPD-L1^{-/-}/hPD-L1细胞上的免疫反应性为84.5和88.8% (表19)。在同种型对照放射免疫缀合物中观察到的背景、非特异性免疫反应性为8.8%。

[0341] 表19: ⁸⁹Zr标记的抗-PD-L1DF0-抗体缀合物和同种型对照⁸⁹Zr-DF0-IgG4^P的免疫反应性

放射免疫缀合物	免疫反应性
⁸⁹ Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物 (第1批)	84.5 %
⁸⁹ Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物 (第2批)	88.8 %
同种型对照 ⁸⁹ Zr-DF0-IgG4 ^P	8.8 %

[0343] 总之,两个单独批次的⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物均显示出高的免疫反应性、单体百分比和放射化学纯度。

[0344] 在小鼠中⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1的生物分布

[0345] 本实验评价了向PD-L1/PD-1-人源化小鼠 (PD-1hu/huPD-L1hu/hu) 单次静脉内 (IV) 给予50 μ Ci (1mg/kg) 剂量后,抗-人PD-L1放射免疫缀合物⁸⁹Zr-DF0-抗-PD-L1抗体缀合物随时间的生物分布情况。由于H4H8314N不与小鼠PD-L1结合,在PD-1hu/hu-PD-L1hu/hu小鼠中将小鼠PD-L1基因中编码PD-L1胞外域的部分用相应的人序列替代。在该品系中,将小鼠PD-1的胞外域类似地人源化。这些小鼠未经过免疫/炎症攻击,因而预计在免疫细胞上具有未刺激水平的PD-L1表达。在给药后6天 (144小时) 或10天 (240小时) 处死2组动物,每组8

只,采血并收集下述组织:心脏、肺脏、肝脏、脾脏、肾脏、胃、小肠、盲肠、大肠、骨(股骨)、胸腺、肌肉、膀胱和脑。确定定位于特定组织或血液的放射性占总注射剂量(% ID)的百分比,并报告为每克组织的平均% ID(% ID/g)。在处死之前,采集相同动物给药后1、24、48、72、144、192(仅10天组)和240(仅10天组)小时的免疫-PET/计算机断层扫描(CT)图像。

[0346] 根据离体组织分析(表20和图9)和体内成像所评价的,在10天的研究期间,与血液中的 ^{89}Zr 水平相比,摄入特定组织的 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物是可以忽略不计的。在给药后6天,与血液相比($9.4 \pm 2.2\%$ ID/g),除了脾脏以外,所有收集的组织均显示出较低的 ^{89}Zr 水平($\leq 6.7\%$ ID/g)。在脾脏中观察到较低程度的靶点介导的 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物摄取($10.2 \pm 1.9\%$ ID/g),这与由流式细胞术显示的在脾细胞上PD-L1的表达一致。给药后10天,与给药后第6天相比,血液中的 ^{89}Zr 水平降低了7.8倍,这暗示小鼠抗人抗体(MAHA)应答影响了 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的水平。这种观察到的MAHA应答可能是由于这样的事实导致的,在抗原提呈细胞上表达的靶点PD-L1(Francisco,2010),导致了人抗体向小鼠免疫系统的提呈以及随后形成MAHA。同时,与给药后第6天相比,第10天肝脏中 ^{89}Zr 的水平增加4.1倍,这可能是由于形成了MAHA/ ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物免疫复合物(IC)以及随后的肝脏介导的IC清除导致的(Rojko,2014)。整体动物体内PET成像没有发现存在于上文所述的针对脾脏的较低信号和MAHA介导的肝脏中积累之外的针对 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的显著组织摄取。

[0347] 总而言之,在单次IV给予 1mg/kg ($50\mu\text{Ci}$) ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的PD-L1/PD-1人源化小鼠中,除了脾脏之外,在6天时间段内未观察到高于血液中 ^{89}Zr 水平的显著的靶点介导的特定组织对 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的摄取,在脾脏中观察到了较小程度的靶点介导的摄取,这与已证实的在脾细胞上表达PD-L1一致。给药后第6天直至第10天研究结束时采集的数据受到MAHA应答的影响。

[0348] 表20:平均离体生物分布数据

[0349]

组织	给药后第 6 天时的 ^{89}Zr 水平 (%ID/g)		给药后第 10 天时的 ^{89}Zr 水平 (%ID/g)	
	平均值	SD	平均值	SD
血液	9.4	2.2	1.2	1.4
心脏	3.1	0.6	1.2	0.4
肺脏	5.9	0.7	2.6	0.7
肝脏	4.9	1.9	20.2	7.8
脾脏	10.2	1.9	12.1	3.0
肾脏	5.3	1.1	3.9	1.3
胃	0.9	0.3	0.4	0.1
小肠	1.5	0.3	0.9	0.1
盲肠	1.0	0.2	0.6	0.2
大肠	1.4	0.3	0.7	0.2
骨(股骨)	6.3	2.1	6.9	1.4
胸腺	6.7	1.6	5.3	1.1
肌肉	0.9	0.1	0.5	0.1
膀胱	4.3	2.1	1.7	0.9
脑	0.4	0.1	0.2	0.1

[0350] 缩写: % ID/g=每克(组织)的注射剂量百分比

[0351] 人体内全身和组织放射活性暴露量的估计值

[0352] 本实验使用了在单次IV给予 $50\mu\text{Ci}$ (1mg/kg) ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物后1、24、48、72、144、192和240小时时对4只PD-1/PD-L1-人源化雄性小鼠和4只PD-1/PD-L1-人源化雌性小鼠成像的PET/CT成像数据。将通过给予该临床相关剂量产生的数据用于计算人放射活性暴露量的估计值。使用目标体积(VOI)分析确定组织浓度。

[0353] 为了辐射剂量测定的估计,确定下述区域的平均停留时间:脑、胃内容物、心脏内容物、肾脏、肝脏、肺脏、肌肉、红骨髓、脾脏、膀胱内容物和身体其余部分。将这些平均停留时间值输入OLINDA/EXM 1.1软件程序以估计在人体内的平均吸收组织剂量和有效剂量。

[0354] 将 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物在成年男性和成年女性中的有效人体剂量分别估计为 0.513mSv/MBq (毫希/兆贝克勒尔) 和 0.622mSv/MBq 。预计在人体内具有最高吸收剂量的器官为脾脏和肝脏。在成年男性和成年女性脾脏中的估计吸收剂量分别为 0.856mSv/MBq 和 1.12mSv/MBq 。在成年男性和成年女性肝脏中的估计吸收剂量分别为 0.764mSv/MBq 和 0.974mSv/MBq 。

[0355] 针对每个VOI的雄鼠和雌鼠(雄 $n=4$,雌 $n=4$) 每mL注射剂量百分比(DC % ID/mL) 的平均衰变校正值汇总在表21中。

[0356] 表21:生物分布数据

时间(h)	平均衰变校正的每 mL 注射剂量的百分比 (DC %ID/mL) \pm SD									
	1		24		48		72		144	
性别	雌性	雄性	雌性	雄性	雌性	雄性	雌性	雄性	雌性	雄性
脑	1.365 \pm 0.115	1.190 \pm 0.050	0.903 \pm 0.115	0.538 \pm 0.071	0.640 \pm 0.079	0.548 \pm 0.218	0.685 \pm 0.096	0.623 \pm 0.224	0.465 \pm 0.231	0.398 \pm 0.073
肺脏	12.503 \pm 1.146	12.498 \pm 0.414	8.293 \pm 0.635	7.155 \pm 1.175	6.715 \pm 0.370	5.888 \pm 0.990	6.060 \pm 0.708	5.558 \pm 0.385	4.863 \pm 0.316	4.585 \pm 0.339
肝脏	12.298 \pm 0.664	12.078 \pm 0.372	9.058 \pm 0.793	7.200 \pm 0.499	8.113 \pm 0.969	6.125 \pm 0.858	7.838 \pm 0.932	6.203 \pm 0.483	9.423 \pm 1.885	6.208 \pm 1.428
心脏	27.688 \pm 1.942	25.695 \pm 0.934	15.685 \pm 1.223	13.323 \pm 1.133	12.088 \pm 0.883	10.25 \pm 1.335	11.740 \pm 1.553	9.915 \pm 0.171	8.140 \pm 0.598	7.463 \pm 0.768
肾脏	11.430 \pm 0.387	12.100 \pm 0.872	7.345 \pm 0.322	6.783 \pm 0.811	6.418 \pm 0.761	5.565 \pm 0.680	6.475 \pm 0.493	5.568 \pm 0.550	5.643 \pm 0.222	4.815 \pm 0.450
脾脏	15.263 \pm 2.166	15.860 \pm 0.974	14.135 \pm 2.010	11.265 \pm 1.706	13.675 \pm 2.195	9.388 \pm 1.389	13.655 \pm 3.606	9.920 \pm 1.414	15.105 \pm 2.959	10.303 \pm 1.102
膀胱	6.045 \pm 3.910	9.688 \pm 4.991	1.653 \pm 0.107	1.820 \pm 0.283	1.443 \pm 0.205	1.403 \pm 0.160	1.318 \pm 0.108	1.710 \pm 0.346	1.115 \pm 0.224	1.293 \pm 0.430
肌肉	1.608 \pm 0.182	1.435 \pm 0.198	2.608 \pm 0.196	1.780 \pm 0.137	2.368 \pm 0.259	1.955 \pm 0.339	2.408 \pm 0.181	2.148 \pm 0.176	2.095 \pm 0.168	1.918 \pm 0.144
胃	3.238 \pm 1.063	3.978 \pm 0.632	2.875 \pm 0.921	3.073 \pm 0.566	2.478 \pm 0.296	2.238 \pm 0.487	2.260 \pm 0.306	2.233 \pm 0.491	2.380 \pm 0.405	1.665 \pm 0.148
骨	3.683 \pm 1.418	3.023 \pm 0.244	3.310 \pm 0.330	2.738 \pm 0.171	4.600 \pm 0.511	3.493 \pm 0.716	4.850 \pm 1.292	4.658 \pm 1.399	8.993 \pm 1.057	7.635 \pm 0.872

[0359] 对于每个源器官的人平均停留时间 (MRT) 估计值如表22中所示。通过从⁸⁹Zr衰变常数的倒数中减去所有源器官停留时间的总和来获得身体其余部分的MRT (Huang等, Biodistribution, toxicity and radiation dosimetry studies of the serotonin transporter radioligand 4-[18F]-ADAM in rats and monkeys. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2010; 37: 545-555)。这代表了对累积组织放射性的保守估计。

[0360] 表22: 人平均停留时间 (h)

器官/组织	物理衰变 ¹		双指数拟合 ²	
	雌性	雄性	雌性	雄性
脑	0.398	0.364	0.372	0.344
胃内容物	0.511	0.476	0.492	0.480
心脏内容物	2.433	2.279	2.290	2.154
肾脏	0.868	0.818	0.832	0.794
肝脏	5.902	5.919	8.240	5.938
肺脏	2.508	2.772	2.411	2.642
肌肉	17.635	23.677	13.348	17.182
红骨髓	2.777	2.024	2.613	1.913
脾脏	0.996	0.871	1.053	0.910
膀胱内容物	0.299	0.491	0.315	0.405
身体其余部分	78.794	73.430	81.157	80.361

[0362] ¹假设仅在第6天时间点后有物理衰变计算的平均停留时间。

[0363] ²根据对数据的双指数拟合计算的平均停留时间。

[0364] 针对OLINDA/EXM 1.1成年雄性和成年雌性体模 (phantom) 的所有靶器官估算的吸收组织剂量如表23中所示。由国际放射防护委员会 (ICRP) (International Commission on Radiological Protection.1990Recommendations of the International Commission on Radiological Protection.ICRP Publication 60,Pergamon Press,New York,1991) 定义的有效剂量是给定器官的吸收剂量乘以随机风险加权因子再加上加权剂量计算的量。在表23的最后提供了估计的有效剂量。这些值代表了对放射性吸收剂量的保守估计。

[0365] 表23:估算的人组织吸收剂量和有效剂量

[0366]

器官/组织	物理衰变 ¹		双指数拟合 ²	
	成年男性 (mSv/MBq)	成年女性 (mSv/MBq)	成年男性 (mSv/MBq)	成年女性 (mSv/MBq)
肾上腺	0.561	0.702	0.567	0.726
脑	0.179	0.237	0.182	0.234
乳房	0.366	0.459	0.379	0.466
胆囊壁	0.601	0.692	0.610	0.751
LLI 壁	0.519	0.652	0.530	0.651
小肠	0.563	0.600	0.582	0.605
胃壁	0.575	0.714	0.584	0.718
ULI 壁	0.553	0.685	0.571	0.700
心脏壁	0.789	0.973	0.781	0.964
肾脏	0.650	0.773	0.641	0.774
肝脏	0.764	0.974	0.764	1.220
肺脏	0.575	0.705	0.561	0.700
肌肉	0.396	0.481	0.381	0.464
卵巢	0.533	0.645	0.542	0.642
胰腺	0.597	0.743	0.606	0.765
红骨髓	0.480	0.591	0.483	0.587
成骨细胞	0.604	0.777	0.625	0.779
皮肤	0.291	0.373	0.297	0.374
脾脏	0.856	1.120	0.876	1.160
睾丸	0.399	NA	0.407	NA
胸腺	0.481	0.605	0.484	0.601
甲状腺	0.417	0.484	0.423	0.480
膀胱壁	0.580	0.496	0.559	0.494
子宫	0.545	0.638	0.554	0.636
全身	0.440	0.550	0.440	0.554
有效剂量	0.513	0.622	0.516	0.625

[0367] ¹根据假设仅在第6天时间点后有物理衰变的MRT计算的吸收剂量。

[0368] ²根据对数据的双指数拟合的MRT计算的吸收剂量。

[0369] 缩写:LLI=大肠下部,ULI=大肠上部,NA=不适用

[0370] 由物理衰变和双指数拟合法估算的人组织吸收剂量和有效人剂量(表23)是相似的。选择物理衰变法以产生最终的一组估算的人组织吸收剂量和有效剂量,这是由于在该小鼠模型中具有明显的MAHA应答。因而,将 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物在成年男性和成年女性中的有效人剂量分别估计为0.513mSv/MBq和0.622mSv/MBq。在人体内预计具有最高吸收剂量的器官是脾脏和肝脏。在成年男性和成年女性脾脏中的估计吸收剂量分别为0.856mSv/MBq和1.12mSv/MBq。在成年男性和成年女性肝脏中的估计吸收剂量分别为0.764mSv/MBq和0.974mSv/MBq。

[0371] 实施例10:使用 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物在晚期胸部恶性肿瘤患者肿瘤中的PD-L1免疫PET成像

[0372] 本研究的主要目的是确定 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的安全性和耐受性,其中用于放射性标记的缀合物中的抗-PD-L1抗体是H4H8314N。本研究的次要目的是:

[0373] • 仅研究的A部分:通过示踪剂输注后进行成像和抽血的评估,以确立足够的 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的质量剂量和最佳的输注后成像时间。

[0374] • 仅研究的B部分:使用A部分确定的最佳质量剂量和成像时间点进行两个独立的示踪剂输注的评估,以确立PET指标的检测/再检测可靠性。

[0375] • 基于示踪剂的血浆活性浓度表征 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1抗体缀合物的药代动力学(PK)性质。

[0376] 本研究是一项标签公开的2部分研究,旨在评价 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1的安全性和耐受性。研究A部分将确立 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1足够的质量剂量和活度剂量以及最佳输注后成像时间。将在B部分中评价 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1的检测/再检测变异性。

[0377] 所有患者均要进行筛选程序。对符合入选标准的患者进行 ^{18}F -氟脱氧葡萄糖(^{18}F -FDG)PET/计算机断层扫描(CT)和诊断性CT扫描,以评估病变的存活力、位置和尺寸。如果在预计第1剂 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1的28天内已获取了具有足够质量的图像,则将不需要进行这些扫描。

[0378] A部分

[0379] 计划使用5mg、10mg或20mg的 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1对三个顺序剂量队列进行标签公开的治疗。

[0380] 使用 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1输注后,在第1天、第4 \pm 1天和第7 \pm 1天对患者进行 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1PET/CT扫描。可以进行附加的成像直至第10天。将对患者进行安全性评估并且提供用于血液学、化学、免疫安全性测定、药代动力学、抗药抗体分析和生物标记物分析的样品。

[0381] 在 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1示踪剂输注后直至第21天,将持续对患者进行安全性评价,包括体格检查、生命体征以及记录不良事件(AE)。

[0382] 如下所述,用于识别足够剂量的剂量递增决策将以安全性和耐受性数据以及免疫-正电子发射断层扫描(iPET)阳性和示踪剂血浆放射性浓度的评价为依据。

[0383] 在A部分中的剂量队列

[0384] 计划最多设置3个质量剂量递增队列。对于每个质量剂量队列而言,最初将给予2名患者药物,每名患者给药之间最少间隔48小时。在给予给定质量剂量的第二名患者完成第7 \pm 1天的PET/CT扫描后,将审核所有可用的成像、示踪剂血浆放射性浓度、临床放射量测

定和安全性数据。根据这项审核,将做出以下决定:

[0385] • 如果根据肿瘤与血液的比例 >1 的定义,在至少1名患者中呈肿瘤摄取阳性/肿瘤定位,则将该队列扩展成具有6名患者

[0386] • 如果肿瘤摄取和血浆示踪剂活性浓度不足,则上升至下一质量剂量队列,其中将足够定义为在最佳成像时间点血液标准化摄取值(SUV)的范围为1至5

[0387] • 根据肿瘤摄取量不足,但血浆示踪剂活性浓度是足够的,则以较低质量剂量进入下一质量剂量队列。

[0388] 如果在全部3个预计的质量剂量水平下,在至少2名患者中的肿瘤定位均是不足的,并且已确定其是由于图像信噪比较低所致,则将活性剂量增至最大185MBq,以进一步扩展此前已检测的质量浓度队列。

[0389] B部分

[0390] 一旦在A部分中确定了足够的 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1剂量和最佳成像时间,则将开始进行研究的B部分。在B部分的第1天,患者将接受示踪剂的质量剂量。在接受示踪剂后,将在A部分中确定的最佳时间对患者进行扫描。在B部分中患者将接受第2个示踪剂剂量,并且在14至28天的给药间隔后进行扫描。间隔后第2个示踪剂剂量的实际给药时间将根据A部分的结果确定。

[0391] 在给予 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1示踪剂期间和之后的访视中,将对患者进行安全性评估,包括体格检查、生命体征以及记录不良事件(AE)。在这些访视过程中,患者将提供用于PK、血液学、化学和免疫安全性测定的样品。

[0392] 在A部分和B部分中均要对患者持续进行安全性评价,包括体格检查、生命体征以及记录AE,直至 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1示踪剂最后一次输注后的21天。

[0393] 研究持续时间

[0394] 对于A部分,患者将进行长达28天(4周)的筛选期,以及在示踪剂剂量输注后,将进行长达21天(约3周)的随访期。包括筛选期在内,研究的A部分持续约7周。

[0395] 对于B部分,患者将进行长达28天(4周)的筛选期,长达28天(4周)的输注间期,以及包括第2个扫描期在内的为期21天(3周)的安全性随访期。包括筛选期在内,每名患者总的研究持续时间将达到11周。

[0396] 将本研究的研究结束定义为最后一名患者的最后一次访视。

[0397] 对于研究的A部分而言,计划设置3个队列,3个顺序的剂量水平,每个队列计划设置最多6名患者,共计至多18名患者。对于研究的B部分而言,将入组最多10名患者。计划整个研究在单一研究中心最多入组28名患者。

[0398] 患者目标人群

[0399] 目标人员将由年龄大于或等于18岁,患有晚期胸部恶性肿瘤且在诊断或随后的组织活检中PD-L1 IHC评分 $\geq 1\%$ (根据22C3PharmDx测定(Dako North America Inc.)PD-L1 IHC评分阳性)的患者构成。

[0400] • 对于A部分而言,胸部恶性肿瘤将限于NSCLC、胃食管结合处腺癌和胃癌,且根据IHC的PD-L1评分 $\geq 1\%$ 。

[0401] • 对于B部分而言,患有晚期胸部恶性肿瘤且根据IHC的PD-L1评分 $\geq 1\%$ 的所有患者均是符合条件的。患者还必须在最近两次成像研究中根据RECIST 1.1病情稳定。

[0402] 所有需要治疗的患者都应该接受标准治疗。

[0403] 治疗

[0404] ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1是通过将双功能螯合剂(p-SCN-Bn-DF0)与H4H8314N(抗-PD-L1单克隆抗体)共价缀合形成的放射性免疫缀合物,并使用 ^{89}Zr 对该化合物进行放射性标记。 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1在水性缓冲载体中提供。

[0405] 对于A部分而言,将在第1天(基线)IV给予 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1。对于B部分而言,将在第1天和第7 \pm 3天IV给予 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1。B部分中第2剂的实际给药时间将由A部分中的结果决定。

[0406] 基于PK模型,所给予的 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1示踪剂的剂量水平远低于在人体内估算的累积暴露水平,且低于目前用于抗癌治疗的可用抗-PD-1药物的水平。本研究将排除目前使用抗-PD-L1治疗的患者以避免靶点竞争。

[0407] 终点

[0408] 本研究的主要终点是在给予 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1的胸部恶性肿瘤患者中直至最后1剂示踪剂输注后第21天的治疗中出现的不良事件(TEAE)的发生率和严重程度。

[0409] 仅对于A部分而言,研究将确立 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1足够的质量剂量和放射性剂量以及最佳输注后成像时间,并且随后将通过抽血以及在示踪剂输注后第1、4和7天成像确定:

[0410] • 在血液混合物中 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1标准化的摄取值,随后计算成像时肿瘤与血液的比值

[0411] • 基于根据PET图像获取的数据和血液中的示踪剂放射性浓度计算的吸收剂量和有效组织辐射的临床放射量测定

[0412] • 肿瘤目标区域(ROI)的标准化摄取值(SUV)

[0413] • 肿瘤ROI内的最大SUV(SUV_{\max})

[0414] • 血浆示踪剂放射性浓度(以SUV表示),计算至第7天的曲线下面积(AUC_{0-7})

[0415] 仅对于B部分而言,研究将确立 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1PET指标的检测/再检测可靠性,随后将通过使用A部分确定的足够质量剂量和最佳成像时间点由两个独立的示踪剂输注测量确定:

[0416] • 血液混合物的SUV,随后计算肿瘤与血液的比值

[0417] • 肿瘤ROI的SUV

[0418] • 肿瘤ROI内的 SUV_{\max}

[0419] • ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1的生物分布

[0420] 所得到的数据将反映 ^{89}Zr -DF0-抗-PD-L1在人体内的安全性和耐受性。

[0421] 上述实施方式和实施例旨在仅是说明性的,而非限制性的。本领域技术人员将认识到或将能够使用不超过常规的实验确定很多等同的具体化合物、材料和方法。所有这些等同物都被认为是在所附权利要求范围内并且包含在所附权利要求中。

[0001]	序列表
[0002]	<110> 瑞泽恩制药公司
[0003]	M • 凯利
[0004]	D • 马
[0005]	W • 奥尔森
[0006]	G • 瑟斯顿
[0007]	<120> 用于免疫PET成像的放射性标记的抗-PD-L1抗体
[0008]	<130> 070860-8042CN01
[0009]	<140> PCT/US2017/064215
[0010]	<141> 2017-12-01
[0011]	<160> 344
[0012]	<170> PatentIn 3.5版
[0013]	<210> 1
[0014]	<211> 363
[0015]	<212> DNA
[0016]	<213> 人工序列
[0017]	<220>
[0018]	<223> 合成的
[0019]	<400> 1
[0020]	gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
[0021]	tcctgtgcag cctctggatt caccttttagt aggttttggga tgagctgggt ccgccaggct 120
[0022]	ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaaccaag atggaactga gaaatactat 180
[0023]	gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240
[0024]	ctgcaaatga acagcctgag agccggggac acggctgtgt attactgtgc gaatacgtat 300
[0025]	tacgattttt ggagtgggtca ctttgactac tggggccagg gaaccctggc caccgtctcc 360
[0026]	tca 363
[0027]	<210> 2
[0028]	<211> 121
[0029]	<212> PRT
[0030]	<213> 人工序列
[0031]	<220>
[0032]	<223> 合成的
[0033]	<400> 2
[0034]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0035]	1 5 10 15
[0036]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Phe
[0037]	20 25 30
[0038]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

[0039]	35	40	45
[0040]	Ala Asn Ile Asn Gln Asp Gly Thr Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val		
[0041]	50	55	60
[0042]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
[0043]	65	70	75
[0044]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[0045]	85	90	95
[0046]	Ala Asn Thr Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly His Phe Asp Tyr Trp Gly		
[0047]	100	105	110
[0048]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0049]	115	120	
[0050]	<210> 3		
[0051]	<211> 24		
[0052]	<212> DNA		
[0053]	<213> 人工序列		
[0054]	<220>		
[0055]	<223> 合成的		
[0056]	<400> 3		
[0057]	ggattcacct ttagtaggtt ttgg 24		
[0058]	<210> 4		
[0059]	<211> 8		
[0060]	<212> PRT		
[0061]	<213> 人工序列		
[0062]	<220>		
[0063]	<223> 合成的		
[0064]	<400> 4		
[0065]	Gly Phe Thr Phe Ser Arg Phe Trp		
[0066]	1	5	
[0067]	<210> 5		
[0068]	<211> 24		
[0069]	<212> DNA		
[0070]	<213> 人工序列		
[0071]	<220>		
[0072]	<223> 合成的		
[0073]	<400> 5		
[0074]	ataaaccaag atggaactga gaaa 24		
[0075]	<210> 6		
[0076]	<211> 8		
[0077]	<212> PRT		

[0078]	<213> 人工序列
[0079]	<220>
[0080]	<223> 合成的
[0081]	<400> 6
[0082]	Ile Asn Gln Asp Gly Thr Glu Lys
[0083]	1 5
[0084]	<210> 7
[0085]	<211> 42
[0086]	<212> DNA
[0087]	<213> 人工序列
[0088]	<220>
[0089]	<223> 合成的
[0090]	<400> 7
[0091]	gcgaatacgt attacgattt ttggagtggc cactttgact ac 42
[0092]	<210> 8
[0093]	<211> 14
[0094]	<212> PRT
[0095]	<213> 人工序列
[0096]	<220>
[0097]	<223> 合成的
[0098]	<400> 8
[0099]	Ala Asn Thr Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly His Phe Asp Tyr
[0100]	1 5 10
[0101]	<210> 9
[0102]	<211> 321
[0103]	<212> DNA
[0104]	<213> 人工序列
[0105]	<220>
[0106]	<223> 合成的
[0107]	<400> 9
[0108]	gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[0109]	atcacttgtc gggccagtca gagtattagt aattggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
[0110]	gggaaagccc ctaagtcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
[0111]	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
[0112]	gatgattttg caacttatta ctgccaacag tatcatagtt attcgtacac ttttggccag 300
[0113]	gggaccaagc tggagatcaa a 321
[0114]	<210> 10
[0115]	<211> 107
[0116]	<212> PRT

[0117]	<213>	人工序列
[0118]	<220>	
[0119]	<223>	合成的
[0120]	<400>	10
[0121]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[0122]	1 5 10 15	
[0123]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Trp	
[0124]	20 25 30	
[0125]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[0126]	35 40 45	
[0127]	Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[0128]	50 55 60	
[0129]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0130]	65 70 75 80	
[0131]	Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Tyr Ser Tyr	
[0132]	85 90 95	
[0133]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[0134]	100 105	
[0135]	<210>	11
[0136]	<211>	18
[0137]	<212>	DNA
[0138]	<213>	人工序列
[0139]	<220>	
[0140]	<223>	合成的
[0141]	<400>	11
[0142]	cagagtatta gtaattgg	18
[0143]	<210>	12
[0144]	<211>	6
[0145]	<212>	PRT
[0146]	<213>	人工序列
[0147]	<220>	
[0148]	<223>	合成的
[0149]	<400>	12
[0150]	Gln Ser Ile Ser Asn Trp	
[0151]	1 5	
[0152]	<210>	13
[0153]	<211>	9
[0154]	<212>	DNA
[0155]	<213>	人工序列

[0156]	<220>
[0157]	<223> 合成的
[0158]	<400> 13
[0159]	aaggcgtct 9
[0160]	<210> 14
[0161]	<211> 3
[0162]	<212> PRT
[0163]	<213> 人工序列
[0164]	<220>
[0165]	<223> 合成的
[0166]	<400> 14
[0167]	Lys Ala Ser
[0168]	1
[0169]	<210> 15
[0170]	<211> 27
[0171]	<212> DNA
[0172]	<213> 人工序列
[0173]	<220>
[0174]	<223> 合成的
[0175]	<400> 15
[0176]	caacagtatc atagttattc gtacact 27
[0177]	<210> 16
[0178]	<211> 9
[0179]	<212> PRT
[0180]	<213> 人工序列
[0181]	<220>
[0182]	<223> 合成的
[0183]	<400> 16
[0184]	Gln Gln Tyr His Ser Tyr Ser Tyr Thr
[0185]	1 5
[0186]	<210> 17
[0187]	<211> 363
[0188]	<212> DNA
[0189]	<213> 人工序列
[0190]	<220>
[0191]	<223> 合成的
[0192]	<400> 17
[0193]	caggagcacc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
[0194]	tcctgtgaag cgtctggatt caccttcagt aactttggca tgcactgggt ccgccaggct 120

[0195] ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagct ttatggtctg atggaagtaa taaatactat 180
 [0196] gcagactccg tgaagggtcg agtcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
 [0197] ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgc gagagggaga 300
 [0198] ggagcccccg gtattccgat ttttgggtac tggggccagg gaaccctggc caccgtctcc 360
 [0199] tca 363
 [0200] <210> 18
 [0201] <211> 121
 [0202] <212> PRT
 [0203] <213> 人工序列
 [0204] <220>
 [0205] <223> 合成的
 [0206] <400> 18
 [0207] Gln Glu His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 [0208] 1 5 10 15
 [0209] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe
 [0210] 20 25 30
 [0211] Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0212] 35 40 45
 [0213] Ala Ala Leu Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 [0214] 50 55 60
 [0215] Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 [0216] 65 70 75 80
 [0217] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0218] 85 90 95
 [0219] Ala Arg Gly Arg Gly Ala Pro Gly Ile Pro Ile Phe Gly Tyr Trp Gly
 [0220] 100 105 110
 [0221] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 [0222] 115 120
 [0223] <210> 19
 [0224] <211> 24
 [0225] <212> DNA
 [0226] <213> 人工序列
 [0227] <220>
 [0228] <223> 合成的
 [0229] <400> 19
 [0230] ggattcacct tcagtaactt tggc 24
 [0231] <210> 20
 [0232] <211> 8
 [0233] <212> PRT

- [0234] <213> 人工序列
[0235] <220>
[0236] <223> 合成的
[0237] <400> 20
[0238] Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Gly
[0239] 1 5
[0240] <210> 21
[0241] <211> 24
[0242] <212> DNA
[0243] <213> 人工序列
[0244] <220>
[0245] <223> 合成的
[0246] <400> 21
[0247] ttatggtctg atggaagtaa taaa 24
[0248] <210> 22
[0249] <211> 8
[0250] <212> PRT
[0251] <213> 人工序列
[0252] <220>
[0253] <223> 合成的
[0254] <400> 22
[0255] Leu Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys
[0256] 1 5
[0257] <210> 23
[0258] <211> 42
[0259] <212> DNA
[0260] <213> 人工序列
[0261] <220>
[0262] <223> 合成的
[0263] <400> 23
[0264] gcgagaggga gaggagcccc cggtattccg atttttgggt ac 42
[0265] <210> 24
[0266] <211> 14
[0267] <212> PRT
[0268] <213> 人工序列
[0269] <220>
[0270] <223> 合成的
[0271] <400> 24
[0272] Ala Arg Gly Arg Gly Ala Pro Gly Ile Pro Ile Phe Gly Tyr

[0273]	1	5	10
[0274]	<210> 25		
[0275]	<211> 321		
[0276]	<212> DNA		
[0277]	<213> 人工序列		
[0278]	<220>		
[0279]	<223> 合成的		
[0280]	<400> 25		
[0281]	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc	60	
[0282]	atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca	120	
[0283]	gggaaagccc ctaagegcct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180	
[0284]	agattcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctacagcct	240	
[0285]	gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataatagtt accctctcac attcggcgga	300	
[0286]	gggaccaagg tggcgatcaa a	321	
[0287]	<210> 26		
[0288]	<211> 107		
[0289]	<212> PRT		
[0290]	<213> 人工序列		
[0291]	<220>		
[0292]	<223> 合成的		
[0293]	<400> 26		
[0294]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[0295]	1	5	10 15
[0296]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp		
[0297]	20	25	30
[0298]	Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile		
[0299]	35	40	45
[0300]	Tyr Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[0301]	50	55	60
[0302]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[0303]	65	70	75 80
[0304]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu		
[0305]	85	90	95
[0306]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Ala Ile Lys		
[0307]	100	105	
[0308]	<210> 27		
[0309]	<211> 18		
[0310]	<212> DNA		
[0311]	<213> 人工序列		

[0312]	<220>
[0313]	<223> 合成的
[0314]	<400> 27
[0315]	cagggcatta gaaatgat 18
[0316]	<210> 28
[0317]	<211> 6
[0318]	<212> PRT
[0319]	<213> 人工序列
[0320]	<220>
[0321]	<223> 合成的
[0322]	<400> 28
[0323]	Gln Gly Ile Arg Asn Asp
[0324]	1 5
[0325]	<210> 29
[0326]	<211> 9
[0327]	<212> DNA
[0328]	<213> 人工序列
[0329]	<220>
[0330]	<223> 合成的
[0331]	<400> 29
[0332]	actgcatcc 9
[0333]	<210> 30
[0334]	<211> 3
[0335]	<212> PRT
[0336]	<213> 人工序列
[0337]	<220>
[0338]	<223> 合成的
[0339]	<400> 30
[0340]	Thr Ala Ser
[0341]	1
[0342]	<210> 31
[0343]	<211> 27
[0344]	<212> DNA
[0345]	<213> 人工序列
[0346]	<220>
[0347]	<223> 合成的
[0348]	<400> 31
[0349]	ctacaacata atagttaccc tctcaca 27
[0350]	<210> 32

[0351]	<211> 9	
[0352]	<212> PRT	
[0353]	<213> 人工序列	
[0354]	<220>	
[0355]	<223> 合成的	
[0356]	<400> 32	
[0357]	Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr	
[0358]	1	5
[0359]	<210> 33	
[0360]	<211> 390	
[0361]	<212> DNA	
[0362]	<213> 人工序列	
[0363]	<220>	
[0364]	<223> 合成的	
[0365]	<400> 33	
[0366]	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc	60
[0367]	tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct	120
[0368]	ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagga aaactgatgg tgggacaaca	180
[0369]	gactacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaatacg	240
[0370]	ctgcatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca	300
[0371]	gatgatattg tagttgtacc agctgttatg agggaatact acttcggtat ggacgtctgg	360
[0372]	ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca	390
[0373]	<210> 34	
[0374]	<211> 130	
[0375]	<212> PRT	
[0376]	<213> 人工序列	
[0377]	<220>	
[0378]	<223> 合成的	
[0379]	<400> 34	
[0380]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	
[0381]	1	5 10 15
[0382]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala	
[0383]	20	25 30
[0384]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0385]	35	40 45
[0386]	Gly Arg Ile Lys Arg Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala	
[0387]	50	55 60
[0388]	Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr	
[0389]	65	70 75 80

[0390]	Leu His Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[0391]	85 90 95
[0392]	Tyr Cys Thr Thr Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Val Met Arg Glu
[0393]	100 105 110
[0394]	Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
[0395]	115 120 125
[0396]	Ser Ser
[0397]	130
[0398]	<210> 35
[0399]	<211> 24
[0400]	<212> DNA
[0401]	<213> 人工序列
[0402]	<220>
[0403]	<223> 合成的
[0404]	<400> 35
[0405]	ggattcactt tcagtaacgc ctgg 24
[0406]	<210> 36
[0407]	<211> 8
[0408]	<212> PRT
[0409]	<213> 人工序列
[0410]	<220>
[0411]	<223> 合成的
[0412]	<400> 36
[0413]	Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp
[0414]	1 5
[0415]	<210> 37
[0416]	<211> 30
[0417]	<212> DNA
[0418]	<213> 人工序列
[0419]	<220>
[0420]	<223> 合成的
[0421]	<400> 37
[0422]	attaaaagga aaactgatgg tgggacaaca 30
[0423]	<210> 38
[0424]	<211> 10
[0425]	<212> PRT
[0426]	<213> 人工序列
[0427]	<220>
[0428]	<223> 合成的

[0429]	<400> 38
[0430]	Ile Lys Arg Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr
[0431]	1 5 10
[0432]	<210> 39
[0433]	<211> 63
[0434]	<212> DNA
[0435]	<213> 人工序列
[0436]	<220>
[0437]	<223> 合成的
[0438]	<400> 39
[0439]	accacagatg atattgtagt tgtaccagct gttatgaggg aatactactt cggtatggac 60
[0440]	gtc 63
[0441]	<210> 40
[0442]	<211> 21
[0443]	<212> PRT
[0444]	<213> 人工序列
[0445]	<220>
[0446]	<223> 合成的
[0447]	<400> 40
[0448]	Thr Thr Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Val Met Arg Glu Tyr Tyr
[0449]	1 5 10 15
[0450]	Phe Gly Met Asp Val
[0451]	20
[0452]	<210> 41
[0453]	<211> 321
[0454]	<212> DNA
[0455]	<213> 人工序列
[0456]	<220>
[0457]	<223> 合成的
[0458]	<400> 41
[0459]	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[0460]	atcacttgcc ggacaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
[0461]	gggaaagccc ctaagegcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
[0462]	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactctca caatcagcag cctgcagcct 240
[0463]	gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataataatt acccgtagac ttttggccag 300
[0464]	gggaccaagc tggagatcaa a 321
[0465]	<210> 42
[0466]	<211> 107
[0467]	<212> PRT

[0468]	<213>	人工序列
[0469]	<220>	
[0470]	<223>	合成的
[0471]	<400>	42
[0472]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[0473]	1 5 10 15	
[0474]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp	
[0475]	20 25 30	
[0476]	Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile	
[0477]	35 40 45	
[0478]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[0479]	50 55 60	
[0480]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0481]	65 70 75 80	
[0482]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Tyr	
[0483]	85 90 95	
[0484]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[0485]	100 105	
[0486]	<210>	43
[0487]	<211>	18
[0488]	<212>	DNA
[0489]	<213>	人工序列
[0490]	<220>	
[0491]	<223>	合成的
[0492]	<400>	43
[0493]	cagggcatta gaaatgat	18
[0494]	<210>	44
[0495]	<211>	6
[0496]	<212>	PRT
[0497]	<213>	人工序列
[0498]	<220>	
[0499]	<223>	合成的
[0500]	<400>	44
[0501]	Gln Gly Ile Arg Asn Asp	
[0502]	1 5	
[0503]	<210>	45
[0504]	<211>	9
[0505]	<212>	DNA
[0506]	<213>	人工序列

[0507]	<220>
[0508]	<223> 合成的
[0509]	<400> 45
[0510]	gctgcatcc 9
[0511]	<210> 46
[0512]	<211> 3
[0513]	<212> PRT
[0514]	<213> 人工序列
[0515]	<220>
[0516]	<223> 合成的
[0517]	<400> 46
[0518]	Ala Ala Ser
[0519]	1
[0520]	<210> 47
[0521]	<211> 27
[0522]	<212> DNA
[0523]	<213> 人工序列
[0524]	<220>
[0525]	<223> 合成的
[0526]	<400> 47
[0527]	ctacagcata ataattaccc gtacact 27
[0528]	<210> 48
[0529]	<211> 9
[0530]	<212> PRT
[0531]	<213> 人工序列
[0532]	<220>
[0533]	<223> 合成的
[0534]	<400> 48
[0535]	Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Tyr Thr
[0536]	1 5
[0537]	<210> 49
[0538]	<211> 363
[0539]	<212> DNA
[0540]	<213> 人工序列
[0541]	<220>
[0542]	<223> 合成的
[0543]	<400> 49
[0544]	caggtgcaat tgggtgcagtc tggggcggag gtgaagaagc ctggggcctc agtgcaggtc 60
[0545]	tcctgcaagg cttctggata ctcttcacc ggctactata tacactgggt gcgacaggcc 120

[0546] cctggacaag gacttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtggcac caaaaagtat 180
 [0547] gcacacaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcga cacagcctac 240
 [0548] atgattttga gcagtctgat atccgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatgag 300
 [0549] gactggaact ttgggagctg gttcgactcc tggggccagg gaaccctggg caccgtctcc 360
 [0550] tca 363
 [0551] <210> 50
 [0552] <211> 121
 [0553] <212> PRT
 [0554] <213> 人工序列
 [0555] <220>
 [0556] <223> 合成的
 [0557] <400> 50
 [0558] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 [0559] 1 5 10 15
 [0560] Ser Val Gln Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 [0561] 20 25 30
 [0562] Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 [0563] 35 40 45
 [0564] Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Thr Lys Lys Tyr Ala His Lys Phe
 [0565] 50 55 60
 [0566] Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr
 [0567] 65 70 75 80
 [0568] Met Ile Leu Ser Ser Leu Ile Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0569] 85 90 95
 [0570] Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Phe Gly Ser Trp Phe Asp Ser Trp Gly
 [0571] 100 105 110
 [0572] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 [0573] 115 120
 [0574] <210> 51
 [0575] <211> 24
 [0576] <212> DNA
 [0577] <213> 人工序列
 [0578] <220>
 [0579] <223> 合成的
 [0580] <400> 51
 [0581] ggatactcct tcaccggeta ctat 24
 [0582] <210> 52
 [0583] <211> 8
 [0584] <212> PRT

- [0585] <213> 人工序列
[0586] <220>
[0587] <223> 合成的
[0588] <400> 52
[0589] Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr
[0590] 1 5
[0591] <210> 53
[0592] <211> 24
[0593] <212> DNA
[0594] <213> 人工序列
[0595] <220>
[0596] <223> 合成的
[0597] <400> 53
[0598] atcaacccta acagtggcac caaa 24
[0599] <210> 54
[0600] <211> 8
[0601] <212> PRT
[0602] <213> 人工序列
[0603] <220>
[0604] <223> 合成的
[0605] <400> 54
[0606] Ile Asn Pro Asn Ser Gly Thr Lys
[0607] 1 5
[0608] <210> 55
[0609] <211> 42
[0610] <212> DNA
[0611] <213> 人工序列
[0612] <220>
[0613] <223> 合成的
[0614] <400> 55
[0615] gcgagagatg aggactggaa ctttgggagc tggttcgact cc 42
[0616] <210> 56
[0617] <211> 14
[0618] <212> PRT
[0619] <213> 人工序列
[0620] <220>
[0621] <223> 合成的
[0622] <400> 56
[0623] Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Phe Gly Ser Trp Phe Asp Ser

[0624]	1	5	10
[0625]	<210>	57	
[0626]	<211>	336	
[0627]	<212>	DNA	
[0628]	<213>	人工序列	
[0629]	<220>		
[0630]	<223>	合成的	
[0631]	<400>	57	
[0632]	gatattgtga tgaccagac tccactctcc tcacctgtca cccttgaca gccggcctcc 60		
[0633]	atctcctgca ggtctagtca aaccctcgta cacggtgatg gaaacacgta cttgagttgg 120		
[0634]	attcagcaga ggccaggcca gcctccgaga ctctcattt ataaggtttc taatcagttc 180		
[0635]	tctggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240		
[0636]	agcagggtgg aagctgagga tgctgggctt tatttctgca tgcaagctac acattttccg 300		
[0637]	atcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaaa 336		
[0638]	<210>	58	
[0639]	<211>	112	
[0640]	<212>	PRT	
[0641]	<213>	人工序列	
[0642]	<220>		
[0643]	<223>	合成的	
[0644]	<400>	58	
[0645]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly		
[0646]	1	5	10 15
[0647]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Thr Leu Val His Gly		
[0648]		20	25 30
[0649]	Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Ile Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro		
[0650]		35	40 45
[0651]	Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Gln Phe Ser Gly Val Pro		
[0652]		50	55 60
[0653]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[0654]	65	70	75 80
[0655]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Phe Cys Met Gln Ala		
[0656]		85	90 95
[0657]	Thr His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys		
[0658]		100	105 110
[0659]	<210>	59	
[0660]	<211>	33	
[0661]	<212>	DNA	
[0662]	<213>	人工序列	

[0663] <220>
[0664] <223> 合成的
[0665] <400> 59
[0666] caaacctcg tacacggtga tggaacacg tac 33
[0667] <210> 60
[0668] <211> 11
[0669] <212> PRT
[0670] <213> 人工序列
[0671] <220>
[0672] <223> 合成的
[0673] <400> 60
[0674] Gln Thr Leu Val His Gly Asp Gly Asn Thr Tyr
[0675] 1 5 10
[0676] <210> 61
[0677] <211> 9
[0678] <212> DNA
[0679] <213> 人工序列
[0680] <220>
[0681] <223> 合成的
[0682] <400> 61
[0683] aaggtttct 9
[0684] <210> 62
[0685] <211> 3
[0686] <212> PRT
[0687] <213> 人工序列
[0688] <220>
[0689] <223> 合成的
[0690] <400> 62
[0691] Lys Val Ser
[0692] 1
[0693] <210> 63
[0694] <211> 27
[0695] <212> DNA
[0696] <213> 人工序列
[0697] <220>
[0698] <223> 合成的
[0699] <400> 63
[0700] atgcaagcta cacattttcc gatcacc 27
[0701] <210> 64

70

[0741] Met Glu Leu Thr Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0742] 85 90 95
 [0743] Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Tyr Gly Ser Trp Phe Asp Thr Trp Gly
 [0744] 100 105 110
 [0745] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 [0746] 115 120
 [0747] <210> 67
 [0748] <211> 24
 [0749] <212> DNA
 [0750] <213> 人工序列
 [0751] <220>
 [0752] <223> 合成的
 [0753] <400> 67
 [0754] ggatacacct tcaccggeta ctat 24
 [0755] <210> 68
 [0756] <211> 8
 [0757] <212> PRT
 [0758] <213> 人工序列
 [0759] <220>
 [0760] <223> 合成的
 [0761] <400> 68
 [0762] Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
 [0763] 1 5
 [0764] <210> 69
 [0765] <211> 24
 [0766] <212> DNA
 [0767] <213> 人工序列
 [0768] <220>
 [0769] <223> 合成的
 [0770] <400> 69
 [0771] ctcaacccta atactggtac caca 24
 [0772] <210> 70
 [0773] <211> 8
 [0774] <212> PRT
 [0775] <213> 人工序列
 [0776] <220>
 [0777] <223> 合成的
 [0778] <400> 70
 [0779] Leu Asn Pro Asn Thr Gly Thr Thr

[0780]	1	5
[0781]	<210> 71	
[0782]	<211> 42	
[0783]	<212> DNA	
[0784]	<213> 人工序列	
[0785]	<220>	
[0786]	<223> 合成的	
[0787]	<400> 71	
[0788]	gcgagagatg aggactggaa ttatgggagc tggttcgaca cc 42	
[0789]	<210> 72	
[0790]	<211> 14	
[0791]	<212> PRT	
[0792]	<213> 人工序列	
[0793]	<220>	
[0794]	<223> 合成的	
[0795]	<400> 72	
[0796]	Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Tyr Gly Ser Trp Phe Asp Thr	
[0797]	1	5 10
[0798]	<210> 73	
[0799]	<211> 336	
[0800]	<212> DNA	
[0801]	<213> 人工序列	
[0802]	<220>	
[0803]	<223> 合成的	
[0804]	<400> 73	
[0805]	gatattgtaa tgaccagac tccactctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60	
[0806]	atctcctgca ggtctagtcc aagcctcgta cacagtgatg gaaacaccta cttgagttgg 120	
[0807]	cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctccctaattt ataagatttc taaccgattc 180	
[0808]	tctgggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac gctgaaaatc 240	
[0809]	agcagggttg aagctgagga tgtcgggggtt tattactgca tgcaagctac acattttccg 300	
[0810]	atcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaga 336	
[0811]	<210> 74	
[0812]	<211> 112	
[0813]	<212> PRT	
[0814]	<213> 人工序列	
[0815]	<220>	
[0816]	<223> 合成的	
[0817]	<400> 74	
[0818]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly	

[0819]	1	5	10	15
[0820]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Pro Ser Leu Val His Ser			
[0821]	20	25	30	
[0822]	Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro			
[0823]	35	40	45	
[0824]	Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro			
[0825]	50	55	60	
[0826]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
[0827]	65	70	75	80
[0828]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala			
[0829]	85	90	95	
[0830]	Thr His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Arg			
[0831]	100	105	110	
[0832]	<210> 75			
[0833]	<211> 33			
[0834]	<212> DNA			
[0835]	<213> 人工序列			
[0836]	<220>			
[0837]	<223> 合成的			
[0838]	<400> 75			
[0839]	ccaagcctcg tacacagtga tggaaacacc tac 33			
[0840]	<210> 76			
[0841]	<211> 11			
[0842]	<212> PRT			
[0843]	<213> 人工序列			
[0844]	<220>			
[0845]	<223> 合成的			
[0846]	<400> 76			
[0847]	Pro Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr			
[0848]	1	5	10	
[0849]	<210> 77			
[0850]	<211> 9			
[0851]	<212> DNA			
[0852]	<213> 人工序列			
[0853]	<220>			
[0854]	<223> 合成的			
[0855]	<400> 77			
[0856]	aagatttct 9			
[0857]	<210> 78			

[0858]	<211> 3
[0859]	<212> PRT
[0860]	<213> 人工序列
[0861]	<220>
[0862]	<223> 合成的
[0863]	<400> 78
[0864]	Lys Ile Ser
[0865]	1
[0866]	<210> 79
[0867]	<211> 27
[0868]	<212> DNA
[0869]	<213> 人工序列
[0870]	<220>
[0871]	<223> 合成的
[0872]	<400> 79
[0873]	atgcaagcta cacattttcc gatcacc 27
[0874]	<210> 80
[0875]	<211> 9
[0876]	<212> PRT
[0877]	<213> 人工序列
[0878]	<220>
[0879]	<223> 合成的
[0880]	<400> 80
[0881]	Met Gln Ala Thr His Phe Pro Ile Thr
[0882]	1 5
[0883]	<210> 81
[0884]	<211> 360
[0885]	<212> DNA
[0886]	<213> 人工序列
[0887]	<220>
[0888]	<223> 合成的
[0889]	<400> 81
[0890]	gaggtgcagc tgggtggaatc tgggggaggt gtggtgcggc ctgggggggtc cctgagactc 60
[0891]	tcctgtgcag cctctggatt cacttttgat gattatggca tgacctgggt ccgccaagct 120
[0892]	ccagggaggg gcctggaatg ggtctctggt attcattggc atggtaaacg cacaggttat 180
[0893]	gcagactctg tgaagggcg attcaccata tccagagaca acgccaagaa atccctgtat 240
[0894]	ctgcaaatga acagtctgaa aggcgaggac acggccttgt atcatttgtt gaggggggga 300
[0895]	atgagtacag gggactggtt cgacccttgg ggccaggga ccttggtcat cgtctcctca 360
[0896]	<210> 82

[0897]	<211> 120
[0898]	<212> PRT
[0899]	<213> 人工序列
[0900]	<220>
[0901]	<223> 合成的
[0902]	<400> 82
[0903]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
[0904]	1 5 10 15
[0905]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[0906]	20 25 30
[0907]	Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
[0908]	35 40 45
[0909]	Ser Gly Ile His Trp His Gly Lys Arg Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[0910]	50 55 60
[0911]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr
[0912]	65 70 75 80
[0913]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
[0914]	85 90 95
[0915]	Val Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln
[0916]	100 105 110
[0917]	Gly Thr Leu Val Ile Val Ser Ser
[0918]	115 120
[0919]	<210> 83
[0920]	<211> 24
[0921]	<212> DNA
[0922]	<213> 人工序列
[0923]	<220>
[0924]	<223> 合成的
[0925]	<400> 83
[0926]	ggattcactt ttgatgatta tggc 24
[0927]	<210> 84
[0928]	<211> 8
[0929]	<212> PRT
[0930]	<213> 人工序列
[0931]	<220>
[0932]	<223> 合成的
[0933]	<400> 84
[0934]	Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly
[0935]	1 5

[0936]	<210> 85
[0937]	<211> 24
[0938]	<212> DNA
[0939]	<213> 人工序列
[0940]	<220>
[0941]	<223> 合成的
[0942]	<400> 85
[0943]	attcattggc atggtaaacg caca 24
[0944]	<210> 86
[0945]	<211> 8
[0946]	<212> PRT
[0947]	<213> 人工序列
[0948]	<220>
[0949]	<223> 合成的
[0950]	<400> 86
[0951]	Ile His Trp His Gly Lys Arg Thr
[0952]	1 5
[0953]	<210> 87
[0954]	<211> 39
[0955]	<212> DNA
[0956]	<213> 人工序列
[0957]	<220>
[0958]	<223> 合成的
[0959]	<400> 87
[0960]	gtgagggggg gaatgagtac aggggactgg ttcgacccc 39
[0961]	<210> 88
[0962]	<211> 13
[0963]	<212> PRT
[0964]	<213> 人工序列
[0965]	<220>
[0966]	<223> 合成的
[0967]	<400> 88
[0968]	Val Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro
[0969]	1 5 10
[0970]	<210> 89
[0971]	<211> 324
[0972]	<212> DNA
[0973]	<213> 人工序列
[0974]	<220>

[0975] <223> 合成的
 [0976] <400> 89
 [0977] gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctctaggaga cagagtcacc 60
 [0978] atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agttatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 [0979] gggaaagccc ctaaactcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 [0980] aggttcagtg gcagtgatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcaa tctgcaacct 240
 [0981] gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 [0982] caagggacac gactggagat taaa 324
 [0983] <210> 90
 [0984] <211> 108
 [0985] <212> PRT
 [0986] <213> 人工序列
 [0987] <220>
 [0988] <223> 合成的
 [0989] <400> 90
 [0990] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 [0991] 1 5 10 15
 [0992] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr
 [0993] 20 25 30
 [0994] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 [0995] 35 40 45
 [0996] Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [0997] 50 55 60
 [0998] Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
 [0999] 65 70 75 80
 [1000] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 [1001] 85 90 95
 [1002] Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 [1003] 100 105
 [1004] <210> 91
 [1005] <211> 18
 [1006] <212> DNA
 [1007] <213> 人工序列
 [1008] <220>
 [1009] <223> 合成的
 [1010] <400> 91
 [1011] cagagcatta acagttat 18
 [1012] <210> 92
 [1013] <211> 6

[1014] <212> PRT
[1015] <213> 人工序列
[1016] <220>
[1017] <223> 合成的
[1018] <400> 92
[1019] Gln Ser Ile Asn Ser Tyr
[1020] 1 5
[1021] <210> 93
[1022] <211> 9
[1023] <212> DNA
[1024] <213> 人工序列
[1025] <220>
[1026] <223> 合成的
[1027] <400> 93
[1028] gttgcatcc 9
[1029] <210> 94
[1030] <211> 3
[1031] <212> PRT
[1032] <213> 人工序列
[1033] <220>
[1034] <223> 合成的
[1035] <400> 94
[1036] Val Ala Ser
[1037] 1
[1038] <210> 95
[1039] <211> 30
[1040] <212> DNA
[1041] <213> 人工序列
[1042] <220>
[1043] <223> 合成的
[1044] <400> 95
[1045] caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
[1046] <210> 96
[1047] <211> 10
[1048] <212> PRT
[1049] <213> 人工序列
[1050] <220>
[1051] <223> 合成的
[1052] <400> 96

[1053]	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr	
[1054]	1	5 10
[1055]	<210> 97	
[1056]	<211> 360	
[1057]	<212> DNA	
[1058]	<213> 人工序列	
[1059]	<220>	
[1060]	<223> 合成的	
[1061]	<400> 97	
[1062]	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggt gtggtacggc cggggggggtc cctgagactc	60
[1063]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatggca tgacctgggt ccgccaagtt	120
[1064]	ccaggggaagg ggctggagtg ggtctctggt attcattgga gtggtagaag cacaggttat	180
[1065]	gcagactctg tgaagggecg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat	240
[1066]	ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccttgt attactgtgc gaggggggga	300
[1067]	atgagtacgg gggactgggt cgacccttgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca	360
[1068]	<210> 98	
[1069]	<211> 120	
[1070]	<212> PRT	
[1071]	<213> 人工序列	
[1072]	<220>	
[1073]	<223> 合成的	
[1074]	<400> 98	
[1075]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly	
[1076]	1	5 10 15
[1077]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[1078]	20	25 30
[1079]	Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1080]	35	40 45
[1081]	Ser Gly Ile His Trp Ser Gly Arg Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[1082]	50	55 60
[1083]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
[1084]	65	70 75 80
[1085]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys	
[1086]	85	90 95
[1087]	Ala Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln	
[1088]	100	105 110
[1089]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[1090]	115	120
[1091]	<210> 99	

[1092]	<211> 24
[1093]	<212> DNA
[1094]	<213> 人工序列
[1095]	<220>
[1096]	<223> 合成的
[1097]	<400> 99
[1098]	ggattcacct ttgatgatta tggc 24
[1099]	<210> 100
[1100]	<211> 8
[1101]	<212> PRT
[1102]	<213> 人工序列
[1103]	<220>
[1104]	<223> 合成的
[1105]	<400> 100
[1106]	Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly
[1107]	1 5
[1108]	<210> 101
[1109]	<211> 24
[1110]	<212> DNA
[1111]	<213> 人工序列
[1112]	<220>
[1113]	<223> 合成的
[1114]	<400> 101
[1115]	attcattgga gtggtagaag caca 24
[1116]	<210> 102
[1117]	<211> 8
[1118]	<212> PRT
[1119]	<213> 人工序列
[1120]	<220>
[1121]	<223> 合成的
[1122]	<400> 102
[1123]	Ile His Trp Ser Gly Arg Ser Thr
[1124]	1 5
[1125]	<210> 103
[1126]	<211> 39
[1127]	<212> DNA
[1128]	<213> 人工序列
[1129]	<220>
[1130]	<223> 合成的

[1131]	<400> 103
[1132]	gcgagggggg gaatgagtac gggggactgg ttcgacccc 39
[1133]	<210> 104
[1134]	<211> 13
[1135]	<212> PRT
[1136]	<213> 人工序列
[1137]	<220>
[1138]	<223> 合成的
[1139]	<400> 104
[1140]	Ala Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro
[1141]	1 5 10
[1142]	<210> 105
[1143]	<211> 324
[1144]	<212> DNA
[1145]	<213> 人工序列
[1146]	<220>
[1147]	<223> 合成的
[1148]	<400> 105
[1149]	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[1150]	atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
[1151]	gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
[1152]	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
[1153]	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
[1154]	caaggacac gactggagat taaa 324
[1155]	<210> 106
[1156]	<211> 108
[1157]	<212> PRT
[1158]	<213> 人工序列
[1159]	<220>
[1160]	<223> 合成的
[1161]	<400> 106
[1162]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1163]	1 5 10 15
[1164]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
[1165]	20 25 30
[1166]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1167]	35 40 45
[1168]	Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1169]	50 55 60

[1170]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1171]	65 70 75 80
[1172]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
[1173]	85 90 95
[1174]	Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[1175]	100 105
[1176]	<210> 107
[1177]	<211> 18
[1178]	<212> DNA
[1179]	<213> 人工序列
[1180]	<220>
[1181]	<223> 合成的
[1182]	<400> 107
[1183]	cagagcatta gcagctat 18
[1184]	<210> 108
[1185]	<211> 6
[1186]	<212> PRT
[1187]	<213> 人工序列
[1188]	<220>
[1189]	<223> 合成的
[1190]	<400> 108
[1191]	Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
[1192]	1 5
[1193]	<210> 109
[1194]	<211> 9
[1195]	<212> DNA
[1196]	<213> 人工序列
[1197]	<220>
[1198]	<223> 合成的
[1199]	<400> 109
[1200]	gttgcattcc 9
[1201]	<210> 110
[1202]	<211> 3
[1203]	<212> PRT
[1204]	<213> 人工序列
[1205]	<220>
[1206]	<223> 合成的
[1207]	<400> 110
[1208]	Val Ala Ser

[1209]	1
[1210]	<210> 111
[1211]	<211> 30
[1212]	<212> DNA
[1213]	<213> 人工序列
[1214]	<220>
[1215]	<223> 合成的
[1216]	<400> 111
[1217]	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
[1218]	<210> 112
[1219]	<211> 10
[1220]	<212> PRT
[1221]	<213> 人工序列
[1222]	<220>
[1223]	<223> 合成的
[1224]	<400> 112
[1225]	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
[1226]	1 5 10
[1227]	<210> 113
[1228]	<211> 345
[1229]	<212> DNA
[1230]	<213> 人工序列
[1231]	<220>
[1232]	<223> 合成的
[1233]	<400> 113
[1234]	gaggtgcagt tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctaagactc 60
[1235]	tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcggg agtaactaca tgaactgggt ccgtcaggct 120
[1236]	ccagggaagg gactggagtg ggtctcagtt atttatagtg gtggtagtag atactacgca 180
[1237]	gattccgtga agggccgatt caccatctcc agactcactt ccaagaacac actgtatctt 240
[1238]	caaatgagca gcctgagacc tgaggacacg gccgtgtatt attgtgcgag agggattagg 300
[1239]	ggtctggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct ctcca 345
[1240]	<210> 114
[1241]	<211> 115
[1242]	<212> PRT
[1243]	<213> 人工序列
[1244]	<220>
[1245]	<223> 合成的
[1246]	<400> 114
[1247]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1248]	1	5	10	15
[1249]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Gly Ser Asn			
[1250]	20	25	30	
[1251]	Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[1252]	35	40	45	
[1253]	Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys			
[1254]	50	55	60	
[1255]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Leu Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu			
[1256]	65	70	75	80
[1257]	Gln Met Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala			
[1258]	85	90	95	
[1259]	Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr			
[1260]	100	105	110	
[1261]	Val Ser Ser			
[1262]	115			
[1263]	<210> 115			
[1264]	<211> 24			
[1265]	<212> DNA			
[1266]	<213> 人工序列			
[1267]	<220>			
[1268]	<223> 合成的			
[1269]	<400> 115			
[1270]	gggttcaccg tcggtagtaa ctac 24			
[1271]	<210> 116			
[1272]	<211> 8			
[1273]	<212> PRT			
[1274]	<213> 人工序列			
[1275]	<220>			
[1276]	<223> 合成的			
[1277]	<400> 116			
[1278]	Gly Phe Thr Val Gly Ser Asn Tyr			
[1279]	1	5		
[1280]	<210> 117			
[1281]	<211> 21			
[1282]	<212> DNA			
[1283]	<213> 人工序列			
[1284]	<220>			
[1285]	<223> 合成的			
[1286]	<400> 117			

[1287]	atttatagtg gtggtagtac a 21
[1288]	<210> 118
[1289]	<211> 7
[1290]	<212> PRT
[1291]	<213> 人工序列
[1292]	<220>
[1293]	<223> 合成的
[1294]	<400> 118
[1295]	Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr
[1296]	1 5
[1297]	<210> 119
[1298]	<211> 27
[1299]	<212> DNA
[1300]	<213> 人工序列
[1301]	<220>
[1302]	<223> 合成的
[1303]	<400> 119
[1304]	gcgagaggga ttaggggtct ggacgtc 27
[1305]	<210> 120
[1306]	<211> 9
[1307]	<212> PRT
[1308]	<213> 人工序列
[1309]	<220>
[1310]	<223> 合成的
[1311]	<400> 120
[1312]	Ala Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val
[1313]	1 5
[1314]	<210> 121
[1315]	<211> 324
[1316]	<212> DNA
[1317]	<213> 人工序列
[1318]	<220>
[1319]	<223> 合成的
[1320]	<400> 121
[1321]	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[1322]	atcacttgcc gggcaagtca gaccattaac atctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
[1323]	gggagagccc ctaggctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
[1324]	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
[1325]	gaagattttg caacttacta ctgtcaccag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

[1326]	caaggacac gactggagat taaa 324
[1327]	<210> 122
[1328]	<211> 108
[1329]	<212> PRT
[1330]	<213> 人工序列
[1331]	<220>
[1332]	<223> 合成的
[1333]	<400> 122
[1334]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1335]	1 5 10 15
[1336]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Asn Ile Tyr
[1337]	20 25 30
[1338]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Arg Leu Leu Ile
[1339]	35 40 45
[1340]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1341]	50 55 60
[1342]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1343]	65 70 75 80
[1344]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
[1345]	85 90 95
[1346]	Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[1347]	100 105
[1348]	<210> 123
[1349]	<211> 18
[1350]	<212> DNA
[1351]	<213> 人工序列
[1352]	<220>
[1353]	<223> 合成的
[1354]	<400> 123
[1355]	cagaccatta acatctat 18
[1356]	<210> 124
[1357]	<211> 6
[1358]	<212> PRT
[1359]	<213> 人工序列
[1360]	<220>
[1361]	<223> 合成的
[1362]	<400> 124
[1363]	Gln Thr Ile Asn Ile Tyr
[1364]	1 5

[1365]	<210> 125
[1366]	<211> 9
[1367]	<212> DNA
[1368]	<213> 人工序列
[1369]	<220>
[1370]	<223> 合成的
[1371]	<400> 125
[1372]	gctgcatcc 9
[1373]	<210> 126
[1374]	<211> 3
[1375]	<212> PRT
[1376]	<213> 人工序列
[1377]	<220>
[1378]	<223> 合成的
[1379]	<400> 126
[1380]	Ala Ala Ser
[1381]	1
[1382]	<210> 127
[1383]	<211> 30
[1384]	<212> DNA
[1385]	<213> 人工序列
[1386]	<220>
[1387]	<223> 合成的
[1388]	<400> 127
[1389]	caccagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
[1390]	<210> 128
[1391]	<211> 10
[1392]	<212> PRT
[1393]	<213> 人工序列
[1394]	<220>
[1395]	<223> 合成的
[1396]	<400> 128
[1397]	His Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
[1398]	1 5 10
[1399]	<210> 129
[1400]	<211> 345
[1401]	<212> DNA
[1402]	<213> 人工序列
[1403]	<220>

- [1404] <223> 合成的
- [1405] <400> 129
- [1406] gaggaacggt tgggtggagtc tggaggagac ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
- [1407] tcctgtgcag cctctggcat caccgtcggc actaattata tgaactgggt ccgccaggct 120
- [1408] ccagggaagg gactggagt ggtctcagtt atttctagcg gtggtaatat acactacgca 180
- [1409] gactccgtga agggccgatt cattatgtcc agacaaactt ccaaaaacac gctgtatctt 240
- [1410] cagatgaata gcctggaaac tgaggacacg gccgtatat attgtgcgag ggggatcaga 300
- [1411] ggttttgacg tctggggcca agggaccatg gtcaccgtct cctca 345
- [1412] <210> 130
- [1413] <211> 115
- [1414] <212> PRT
- [1415] <213> 人工序列
- [1416] <220>
- [1417] <223> 合成的
- [1418] <400> 130
- [1419] Glu Glu Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
- [1420] 1 5 10 15
- [1421] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Val Gly Thr Asn
- [1422] 20 25 30
- [1423] Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [1424] 35 40 45
- [1425] Ser Val Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
- [1426] 50 55 60
- [1427] Gly Arg Phe Ile Met Ser Arg Gln Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
- [1428] 65 70 75 80
- [1429] Gln Met Asn Ser Leu Glu Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
- [1430] 85 90 95
- [1431] Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
- [1432] 100 105 110
- [1433] Val Ser Ser
- [1434] 115
- [1435] <210> 131
- [1436] <211> 24
- [1437] <212> DNA
- [1438] <213> 人工序列
- [1439] <220>
- [1440] <223> 合成的
- [1441] <400> 131
- [1442] ggcacaccg tcggtactaa ttat 24

[1443] <210> 132
[1444] <211> 8
[1445] <212> PRT
[1446] <213> 人工序列
[1447] <220>
[1448] <223> 合成的
[1449] <400> 132
[1450] Gly Ile Thr Val Gly Thr Asn Tyr
[1451] 1 5
[1452] <210> 133
[1453] <211> 21
[1454] <212> DNA
[1455] <213> 人工序列
[1456] <220>
[1457] <223> 合成的
[1458] <400> 133
[1459] atttctagcg gtggtataac a 21
[1460] <210> 134
[1461] <211> 7
[1462] <212> PRT
[1463] <213> 人工序列
[1464] <220>
[1465] <223> 合成的
[1466] <400> 134
[1467] Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr
[1468] 1 5
[1469] <210> 135
[1470] <211> 27
[1471] <212> DNA
[1472] <213> 人工序列
[1473] <220>
[1474] <223> 合成的
[1475] <400> 135
[1476] gcgaggggga tcagaggttt ggacgtc 27
[1477] <210> 136
[1478] <211> 9
[1479] <212> PRT
[1480] <213> 人工序列
[1481] <220>

[1482]	<223> 合成的
[1483]	<400> 136
[1484]	Ala Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val
[1485]	1 5
[1486]	<210> 137
[1487]	<211> 324
[1488]	<212> DNA
[1489]	<213> 人工序列
[1490]	<220>
[1491]	<223> 合成的
[1492]	<400> 137
[1493]	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[1494]	atcacttgcc gggcaagtca gagcatgagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
[1495]	gggagagccc ctaagctcct gatctttgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
[1496]	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
[1497]	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
[1498]	caagggacac gactggagat taaa 324
[1499]	<210> 138
[1500]	<211> 108
[1501]	<212> PRT
[1502]	<213> 人工序列
[1503]	<220>
[1504]	<223> 合成的
[1505]	<400> 138
[1506]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1507]	1 5 10 15
[1508]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Met Ser Ser Tyr
[1509]	20 25 30
[1510]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1511]	35 40 45
[1512]	Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1513]	50 55 60
[1514]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1515]	65 70 75 80
[1516]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
[1517]	85 90 95
[1518]	Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[1519]	100 105
[1520]	<210> 139

[1521] <211> 18
[1522] <212> DNA
[1523] <213> 人工序列
[1524] <220>
[1525] <223> 合成的
[1526] <400> 139
[1527] cagagcatga gcagctat 18
[1528] <210> 140
[1529] <211> 6
[1530] <212> PRT
[1531] <213> 人工序列
[1532] <220>
[1533] <223> 合成的
[1534] <400> 140
[1535] Gln Ser Met Ser Ser Tyr
[1536] 1 5
[1537] <210> 141
[1538] <211> 9
[1539] <212> DNA
[1540] <213> 人工序列
[1541] <220>
[1542] <223> 合成的
[1543] <400> 141
[1544] gctgcatcc 9
[1545] <210> 142
[1546] <211> 3
[1547] <212> PRT
[1548] <213> 人工序列
[1549] <220>
[1550] <223> 合成的
[1551] <400> 142
[1552] Ala Ala Ser
[1553] 1
[1554] <210> 143
[1555] <211> 30
[1556] <212> DNA
[1557] <213> 人工序列
[1558] <220>
[1559] <223> 合成的

[1560]	<400> 143
[1561]	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
[1562]	<210> 144
[1563]	<211> 10
[1564]	<212> PRT
[1565]	<213> 人工序列
[1566]	<220>
[1567]	<223> 合成的
[1568]	<400> 144
[1569]	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
[1570]	1 5 10
[1571]	<210> 145
[1572]	<211> 354
[1573]	<212> DNA
[1574]	<213> 人工序列
[1575]	<220>
[1576]	<223> 合成的
[1577]	<400> 145
[1578]	caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagatgc ctgggtcctc ggtgagggtc 60
[1579]	tcctgcaagg cttctggagg catcttcagc agttctacta tcagttgggt gcgacaggcc 120
[1580]	cctggacaag ggcttgaatg gatgggagag atcatccctg tctttggtac agtaaaactac 180
[1581]	gcacagaagt tccaggacag agtcatatatt accgcggacg aatctacgac tacagcctac 240
[1582]	atggagctga gcagcctgaa atctggggac acggccgtat atttctgtgc gcgaaattgg 300
[1583]	ggattaggct ctttttatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354
[1584]	<210> 146
[1585]	<211> 118
[1586]	<212> PRT
[1587]	<213> 人工序列
[1588]	<220>
[1589]	<223> 合成的
[1590]	<400> 146
[1591]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Met Pro Gly Ser
[1592]	1 5 10 15
[1593]	Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Ser Ser
[1594]	20 25 30
[1595]	Thr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[1596]	35 40 45
[1597]	Gly Glu Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
[1598]	50 55 60

[1599]	Gln Asp Arg Val Ile Phe Thr Ala Asp Glu Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
[1600]	65 70 75 80
[1601]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Lys Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[1602]	85 90 95
[1603]	Ala Arg Asn Trp Gly Leu Gly Ser Phe Tyr Ile Trp Gly Gln Gly Thr
[1604]	100 105 110
[1605]	Met Val Thr Val Ser Ser
[1606]	115
[1607]	<210> 147
[1608]	<211> 24
[1609]	<212> DNA
[1610]	<213> 人工序列
[1611]	<220>
[1612]	<223> 合成的
[1613]	<400> 147
[1614]	ggaggcatct tcagcagttc tact 24
[1615]	<210> 148
[1616]	<211> 8
[1617]	<212> PRT
[1618]	<213> 人工序列
[1619]	<220>
[1620]	<223> 合成的
[1621]	<400> 148
[1622]	Gly Gly Ile Phe Ser Ser Ser Thr
[1623]	1 5
[1624]	<210> 149
[1625]	<211> 24
[1626]	<212> DNA
[1627]	<213> 人工序列
[1628]	<220>
[1629]	<223> 合成的
[1630]	<400> 149
[1631]	atcatccctg tcttttgtac agta 24
[1632]	<210> 150
[1633]	<211> 8
[1634]	<212> PRT
[1635]	<213> 人工序列
[1636]	<220>
[1637]	<223> 合成的

[1638]	<400> 150
[1639]	Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Val
[1640]	1 5
[1641]	<210> 151
[1642]	<211> 33
[1643]	<212> DNA
[1644]	<213> 人工序列
[1645]	<220>
[1646]	<223> 合成的
[1647]	<400> 151
[1648]	gcgcgaaatt ggggattagg ctcttttttat atc 33
[1649]	<210> 152
[1650]	<211> 11
[1651]	<212> PRT
[1652]	<213> 人工序列
[1653]	<220>
[1654]	<223> 合成的
[1655]	<400> 152
[1656]	Ala Arg Asn Trp Gly Leu Gly Ser Phe Tyr Ile
[1657]	1 5 10
[1658]	<210> 153
[1659]	<211> 324
[1660]	<212> DNA
[1661]	<213> 人工序列
[1662]	<220>
[1663]	<223> 合成的
[1664]	<400> 153
[1665]	gaaatttgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
[1666]	ctctcctgca gggccagtca gagttttaac ttcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120
[1667]	cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
[1668]	gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcaa caggctggag 240
[1669]	cctgaagatt ttggagtgtt ttattgtcag cagtatgaaa gcgcaccttg gacgttcggc 300
[1670]	caagggacca aggtggaaat caaa 324
[1671]	<210> 154
[1672]	<211> 108
[1673]	<212> PRT
[1674]	<213> 人工序列
[1675]	<220>
[1676]	<223> 合成的

[1677]	<400> 154
[1678]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[1679]	1 5 10 15
[1680]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Phe Asn Phe Asn
[1681]	20 25 30
[1682]	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
[1683]	35 40 45
[1684]	Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[1685]	50 55 60
[1686]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu
[1687]	65 70 75 80
[1688]	Pro Glu Asp Phe Gly Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Ser Ala Pro
[1689]	85 90 95
[1690]	Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[1691]	100 105
[1692]	<210> 155
[1693]	<211> 21
[1694]	<212> DNA
[1695]	<213> 人工序列
[1696]	<220>
[1697]	<223> 合成的
[1698]	<400> 155
[1699]	cagagtttta acttcaacta c 21
[1700]	<210> 156
[1701]	<211> 7
[1702]	<212> PRT
[1703]	<213> 人工序列
[1704]	<220>
[1705]	<223> 合成的
[1706]	<400> 156
[1707]	Gln Ser Phe Asn Phe Asn Tyr
[1708]	1 5
[1709]	<210> 157
[1710]	<211> 9
[1711]	<212> DNA
[1712]	<213> 人工序列
[1713]	<220>
[1714]	<223> 合成的
[1715]	<400> 157

[1716]	ggtgcatcc 9
[1717]	<210> 158
[1718]	<211> 3
[1719]	<212> PRT
[1720]	<213> 人工序列
[1721]	<220>
[1722]	<223> 合成的
[1723]	<400> 158
[1724]	Gly Ala Ser
[1725]	1
[1726]	<210> 159
[1727]	<211> 27
[1728]	<212> DNA
[1729]	<213> 人工序列
[1730]	<220>
[1731]	<223> 合成的
[1732]	<400> 159
[1733]	cagcagtatg aaagcgcacc ttggacg 27
[1734]	<210> 160
[1735]	<211> 9
[1736]	<212> PRT
[1737]	<213> 人工序列
[1738]	<220>
[1739]	<223> 合成的
[1740]	<400> 160
[1741]	Gln Gln Tyr Glu Ser Ala Pro Trp Thr
[1742]	1 5
[1743]	<210> 161
[1744]	<211> 345
[1745]	<212> DNA
[1746]	<213> 人工序列
[1747]	<220>
[1748]	<223> 合成的
[1749]	<400> 161
[1750]	gaggtgcagc ttgtagagtc tgggggagac ttggtacatc ctggcaggtc cctgagactc 60
[1751]	tcctgtgcag cctctggttt cccctttgat gaggatgccg tgcactgggt cgggcaagtt 120
[1752]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga gtaataataa cataggctat 180
[1753]	gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccccaaa ctccctgtat 240
[1754]	ctacaaatga acagtctgag acctgaggac acggcctttt attactgtgc aaaatctgga 300

[1755] atctttgact cctggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345
 [1756] <210> 162
 [1757] <211> 115
 [1758] <212> PRT
 [1759] <213> 人工序列
 [1760] <220>
 [1761] <223> 合成的
 [1762] <400> 162
 [1763] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val His Pro Gly Arg
 [1764] 1 5 10 15
 [1765] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Asp Glu Tyr
 [1766] 20 25 30
 [1767] Ala Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [1768] 35 40 45
 [1769] Ser Gly Ile Ser Trp Ser Asn Asn Asn Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 [1770] 50 55 60
 [1771] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 [1772] 65 70 75 80
 [1773] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
 [1774] 85 90 95
 [1775] Ala Lys Ser Gly Ile Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 [1776] 100 105 110
 [1777] Val Ser Ser
 [1778] 115
 [1779] <210> 163
 [1780] <211> 24
 [1781] <212> DNA
 [1782] <213> 人工序列
 [1783] <220>
 [1784] <223> 合成的
 [1785] <400> 163
 [1786] ggtttccct ttgatgagta tgcc 24
 [1787] <210> 164
 [1788] <211> 8
 [1789] <212> PRT
 [1790] <213> 人工序列
 [1791] <220>
 [1792] <223> 合成的
 [1793] <400> 164

[1794] Gly Phe Pro Phe Asp Glu Tyr Ala
[1795] 1 5
[1796] <210> 165
[1797] <211> 24
[1798] <212> DNA
[1799] <213> 人工序列
[1800] <220>
[1801] <223> 合成的
[1802] <400> 165
[1803] attagttgga gtaataataa cata 24
[1804] <210> 166
[1805] <211> 8
[1806] <212> PRT
[1807] <213> 人工序列
[1808] <220>
[1809] <223> 合成的
[1810] <400> 166
[1811] Ile Ser Trp Ser Asn Asn Asn Ile
[1812] 1 5
[1813] <210> 167
[1814] <211> 24
[1815] <212> DNA
[1816] <213> 人工序列
[1817] <220>
[1818] <223> 合成的
[1819] <400> 167
[1820] gcaaaatctg gaatctttga ctcc 24
[1821] <210> 168
[1822] <211> 8
[1823] <212> PRT
[1824] <213> 人工序列
[1825] <220>
[1826] <223> 合成的
[1827] <400> 168
[1828] Ala Lys Ser Gly Ile Phe Asp Ser
[1829] 1 5
[1830] <210> 169
[1831] <211> 315
[1832] <212> DNA

- [1833] <213> 人工序列
- [1834] <220>
- [1835] <223> 合成的
- [1836] <400> 169
- [1837] gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
- [1838] atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
- [1839] gggaagctcc tgatctatgc tgcattcagt ttgcaaagtg gggccccatc acggttcagt 180
- [1840] ggcggtggat ctgggacaga ttctactctc accatcagca gtctgcgacc tgaagatttt 240
- [1841] gcaacttact actgtcaaca gagttactgt acccctccga tcaccttcgg ccaagggaca 300
- [1842] cgactggaga ttaaa 315
- [1843] <210> 170
- [1844] <211> 105
- [1845] <212> PRT
- [1846] <213> 人工序列
- [1847] <220>
- [1848] <223> 合成的
- [1849] <400> 170
- [1850] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
- [1851] 1 5 10 15
- [1852] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
- [1853] 20 25 30
- [1854] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
- [1855] 35 40 45
- [1856] Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser
- [1857] 50 55 60
- [1858] Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Phe
- [1859] 65 70 75 80
- [1860] Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Cys Thr Pro Pro Ile Thr Phe
- [1861] 85 90 95
- [1862] Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
- [1863] 100 105
- [1864] <210> 171
- [1865] <211> 18
- [1866] <212> DNA
- [1867] <213> 人工序列
- [1868] <220>
- [1869] <223> 合成的
- [1870] <400> 171
- [1871] cagagcatta gcagctat 18

[1872]	<210> 172
[1873]	<211> 6
[1874]	<212> PRT
[1875]	<213> 人工序列
[1876]	<220>
[1877]	<223> 合成的
[1878]	<400> 172
[1879]	Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
[1880]	1 5
[1881]	<210> 173
[1882]	<211> 9
[1883]	<212> DNA
[1884]	<213> 人工序列
[1885]	<220>
[1886]	<223> 合成的
[1887]	<400> 173
[1888]	gctgcatcc 9
[1889]	<210> 174
[1890]	<211> 3
[1891]	<212> PRT
[1892]	<213> 人工序列
[1893]	<220>
[1894]	<223> 合成的
[1895]	<400> 174
[1896]	Ala Ala Ser
[1897]	1
[1898]	<210> 175
[1899]	<211> 30
[1900]	<212> DNA
[1901]	<213> 人工序列
[1902]	<220>
[1903]	<223> 合成的
[1904]	<400> 175
[1905]	caacagagtt actgtacccc tccgatcacc 30
[1906]	<210> 176
[1907]	<211> 10
[1908]	<212> PRT
[1909]	<213> 人工序列
[1910]	<220>

[1911]	<223> 合成的
[1912]	<400> 176
[1913]	Gln Gln Ser Tyr Cys Thr Pro Pro Ile Thr
[1914]	1 5 10
[1915]	<210> 177
[1916]	<211> 354
[1917]	<212> DNA
[1918]	<213> 人工序列
[1919]	<220>
[1920]	<223> 合成的
[1921]	<400> 177
[1922]	gaggtgcagc tgggtggagtc cgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
[1923]	tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
[1924]	ccaggcaagg gactggagtg ggtgacactt atatcatatg agggaaggaa taaatactat 180
[1925]	gcagactccg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
[1926]	ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtat attactgtgc gaaagatagg 300
[1927]	accctttacg gtatggacgt ctggggccaa ggaaccacgg tcaccgtctc ctca 354
[1928]	<210> 178
[1929]	<211> 118
[1930]	<212> PRT
[1931]	<213> 人工序列
[1932]	<220>
[1933]	<223> 合成的
[1934]	<400> 178
[1935]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[1936]	1 5 10 15
[1937]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1938]	20 25 30
[1939]	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1940]	35 40 45
[1941]	Thr Leu Ile Ser Tyr Glu Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1942]	50 55 60
[1943]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1944]	65 70 75 80
[1945]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1946]	85 90 95
[1947]	Ala Lys Asp Arg Thr Leu Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
[1948]	100 105 110
[1949]	Thr Val Thr Val Ser Ser

[1950]	115
[1951]	<210> 179
[1952]	<211> 24
[1953]	<212> DNA
[1954]	<213> 人工序列
[1955]	<220>
[1956]	<223> 合成的
[1957]	<400> 179
[1958]	ggattcacct tcagtagtta tggc 24
[1959]	<210> 180
[1960]	<211> 8
[1961]	<212> PRT
[1962]	<213> 人工序列
[1963]	<220>
[1964]	<223> 合成的
[1965]	<400> 180
[1966]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
[1967]	1 5
[1968]	<210> 181
[1969]	<211> 24
[1970]	<212> DNA
[1971]	<213> 人工序列
[1972]	<220>
[1973]	<223> 合成的
[1974]	<400> 181
[1975]	atatcatatg agggaaggaa taaa 24
[1976]	<210> 182
[1977]	<211> 8
[1978]	<212> PRT
[1979]	<213> 人工序列
[1980]	<220>
[1981]	<223> 合成的
[1982]	<400> 182
[1983]	Ile Ser Tyr Glu Gly Arg Asn Lys
[1984]	1 5
[1985]	<210> 183
[1986]	<211> 33
[1987]	<212> DNA
[1988]	<213> 人工序列

[1989]	<220>
[1990]	<223> 合成的
[1991]	<400> 183
[1992]	gcgaaagata ggacccttta cggtatggac gtc 33
[1993]	<210> 184
[1994]	<211> 11
[1995]	<212> PRT
[1996]	<213> 人工序列
[1997]	<220>
[1998]	<223> 合成的
[1999]	<400> 184
[2000]	Ala Lys Asp Arg Thr Leu Tyr Gly Met Asp Val
[2001]	1 5 10
[2002]	<210> 185
[2003]	<211> 363
[2004]	<212> DNA
[2005]	<213> 人工序列
[2006]	<220>
[2007]	<223> 合成的
[2008]	<400> 185
[2009]	caggtcacct tgagggagtc tggctcctgcg ctggtgaaaa ccacacagac cctcacactg 60
[2010]	acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc actaatagaa tgttgtgtgac ctggatccgt 120
[2011]	cagccccag ggaaggccct ggagtggctt gcgcgcattg attgggatgg tgttaaatac 180
[2012]	tacaacacat ctctgaagac caggtcacc atctccaagg acacctccaa aaaccaggtg 240
[2013]	gtccttacaa tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca ctttttactg tgcacggtcg 300
[2014]	acttcgttga ctttttacta ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
[2015]	tca 363
[2016]	<210> 186
[2017]	<211> 121
[2018]	<212> PRT
[2019]	<213> 人工序列
[2020]	<220>
[2021]	<223> 合成的
[2022]	<400> 186
[2023]	Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Thr Thr Gln
[2024]	1 5 10 15
[2025]	Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn
[2026]	20 25 30
[2027]	Arg Met Cys Val Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

[2028]	35	40	45
[2029]	Trp Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Gly Val Lys Tyr Tyr Asn Thr Ser		
[2030]	50	55	60
[2031]	Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val		
[2032]	65	70	75
[2033]	Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Phe Tyr		
[2034]	85	90	95
[2035]	Cys Ala Arg Ser Thr Ser Leu Thr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly		
[2036]	100	105	110
[2037]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[2038]	115	120	
[2039]	<210> 187		
[2040]	<211> 30		
[2041]	<212> DNA		
[2042]	<213> 人工序列		
[2043]	<220>		
[2044]	<223> 合成的		
[2045]	<400> 187		
[2046]	gggttctcac tcagcactaa tagaatgtgt 30		
[2047]	<210> 188		
[2048]	<211> 10		
[2049]	<212> PRT		
[2050]	<213> 人工序列		
[2051]	<220>		
[2052]	<223> 合成的		
[2053]	<400> 188		
[2054]	Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn Arg Met Cys		
[2055]	1	5	10
[2056]	<210> 189		
[2057]	<211> 21		
[2058]	<212> DNA		
[2059]	<213> 人工序列		
[2060]	<220>		
[2061]	<223> 合成的		
[2062]	<400> 189		
[2063]	attgattggg atggtgttaa a 21		
[2064]	<210> 190		
[2065]	<211> 7		
[2066]	<212> PRT		

[2067]	<213> 人工序列
[2068]	<220>
[2069]	<223> 合成的
[2070]	<400> 190
[2071]	Ile Asp Trp Asp Gly Val Lys
[2072]	1 5
[2073]	<210> 191
[2074]	<211> 39
[2075]	<212> DNA
[2076]	<213> 人工序列
[2077]	<220>
[2078]	<223> 合成的
[2079]	<400> 191
[2080]	gcacggtcga ctctgttgac tttttactac ttgtactac 39
[2081]	<210> 192
[2082]	<211> 13
[2083]	<212> PRT
[2084]	<213> 人工序列
[2085]	<220>
[2086]	<223> 合成的
[2087]	<400> 192
[2088]	Ala Arg Ser Thr Ser Leu Thr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr
[2089]	1 5 10
[2090]	<210> 193
[2091]	<211> 324
[2092]	<212> DNA
[2093]	<213> 人工序列
[2094]	<220>
[2095]	<223> 合成的
[2096]	<400> 193
[2097]	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[2098]	atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
[2099]	gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
[2100]	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
[2101]	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
[2102]	caagggacac gactggagat taaa 324
[2103]	<210> 194
[2104]	<211> 108
[2105]	<212> PRT

[2106]	<213>	人工序列
[2107]	<220>	
[2108]	<223>	合成的
[2109]	<400>	194
[2110]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[2111]	1 5 10 15	
[2112]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr	
[2113]	20 25 30	
[2114]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[2115]	35 40 45	
[2116]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[2117]	50 55 60	
[2118]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[2119]	65 70 75 80	
[2120]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro	
[2121]	85 90 95	
[2122]	Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys	
[2123]	100 105	
[2124]	<210>	195
[2125]	<211>	18
[2126]	<212>	DNA
[2127]	<213>	人工序列
[2128]	<220>	
[2129]	<223>	合成的
[2130]	<400>	195
[2131]	cagagcatta gcagctat	18
[2132]	<210>	196
[2133]	<211>	6
[2134]	<212>	PRT
[2135]	<213>	人工序列
[2136]	<220>	
[2137]	<223>	合成的
[2138]	<400>	196
[2139]	Gln Ser Ile Ser Ser Tyr	
[2140]	1 5	
[2141]	<210>	197
[2142]	<211>	9
[2143]	<212>	DNA
[2144]	<213>	人工序列

[2145]	<220>
[2146]	<223> 合成的
[2147]	<400> 197
[2148]	gctgcatcc 9
[2149]	<210> 198
[2150]	<211> 3
[2151]	<212> PRT
[2152]	<213> 人工序列
[2153]	<220>
[2154]	<223> 合成的
[2155]	<400> 198
[2156]	Ala Ala Ser
[2157]	1
[2158]	<210> 199
[2159]	<211> 30
[2160]	<212> DNA
[2161]	<213> 人工序列
[2162]	<220>
[2163]	<223> 合成的
[2164]	<400> 199
[2165]	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
[2166]	<210> 200
[2167]	<211> 10
[2168]	<212> PRT
[2169]	<213> 人工序列
[2170]	<220>
[2171]	<223> 合成的
[2172]	<400> 200
[2173]	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
[2174]	1 5 10
[2175]	<210> 201
[2176]	<211> 345
[2177]	<212> DNA
[2178]	<213> 人工序列
[2179]	<220>
[2180]	<223> 合成的
[2181]	<400> 201
[2182]	gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60
[2183]	tcctgtgcag cctctgagtt caccgtcggc accaaccaca tgaactgggt ccgccaggct 120

[2184]	ccaggggaagg gactggagtg ggtctcagtt atttatagcg gtggtaacac attctacgca	180
[2185]	gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacacactt ccaagaacac gctgtatctt	240
[2186]	caaatgaaca gcctgacagc agaggacacg gccgtatatt actgtgcgcg aggattgggg	300
[2187]	ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca	345
[2188]	<210>	202
[2189]	<211>	115
[2190]	<212>	PRT
[2191]	<213>	人工序列
[2192]	<220>	
[2193]	<223>	合成的
[2194]	<400>	202
[2195]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[2196]	1 5 10 15	
[2197]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Phe Thr Val Gly Thr Asn	
[2198]	20 25 30	
[2199]	His Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[2200]	35 40 45	
[2201]	Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
[2202]	50 55 60	
[2203]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu	
[2204]	65 70 75 80	
[2205]	Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
[2206]	85 90 95	
[2207]	Arg Gly Leu Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr	
[2208]	100 105 110	
[2209]	Val Ser Ser	
[2210]	115	
[2211]	<210>	203
[2212]	<211>	24
[2213]	<212>	DNA
[2214]	<213>	人工序列
[2215]	<220>	
[2216]	<223>	合成的
[2217]	<400>	203
[2218]	gagttcaccg tcggtaccaa ccac	24
[2219]	<210>	204
[2220]	<211>	8
[2221]	<212>	PRT
[2222]	<213>	人工序列

[2223]	<220>
[2224]	<223> 合成的
[2225]	<400> 204
[2226]	Glu Phe Thr Val Gly Thr Asn His
[2227]	1 5
[2228]	<210> 205
[2229]	<211> 21
[2230]	<212> DNA
[2231]	<213> 人工序列
[2232]	<220>
[2233]	<223> 合成的
[2234]	<400> 205
[2235]	atttatagcg gtggtaacac a 21
[2236]	<210> 206
[2237]	<211> 7
[2238]	<212> PRT
[2239]	<213> 人工序列
[2240]	<220>
[2241]	<223> 合成的
[2242]	<400> 206
[2243]	Ile Tyr Ser Gly Gly Asn Thr
[2244]	1 5
[2245]	<210> 207
[2246]	<211> 27
[2247]	<212> DNA
[2248]	<213> 人工序列
[2249]	<220>
[2250]	<223> 合成的
[2251]	<400> 207
[2252]	gcgcgaggat tggggggtat ggacgtc 27
[2253]	<210> 208
[2254]	<211> 9
[2255]	<212> PRT
[2256]	<213> 人工序列
[2257]	<220>
[2258]	<223> 合成的
[2259]	<400> 208
[2260]	Ala Arg Gly Leu Gly Gly Met Asp Val
[2261]	1 5

[2262]	<210> 209
[2263]	<211> 321
[2264]	<212> DNA
[2265]	<213> 人工序列
[2266]	<220>
[2267]	<223> 合成的
[2268]	<400> 209
[2269]	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[2270]	atcacttgcc gggcgagtca ggtcattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
[2271]	gggaaagttc ctaggctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
[2272]	cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
[2273]	gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg cccctcggac gttcggccaa 300
[2274]	gggaccaagg tggaaatcaa a 321
[2275]	<210> 210
[2276]	<211> 107
[2277]	<212> PRT
[2278]	<213> 人工序列
[2279]	<220>
[2280]	<223> 合成的
[2281]	<400> 210
[2282]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2283]	1 5 10 15
[2284]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Asn Tyr
[2285]	20 25 30
[2286]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Arg Leu Leu Ile
[2287]	35 40 45
[2288]	Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2289]	50 55 60
[2290]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2291]	65 70 75 80
[2292]	Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Arg
[2293]	85 90 95
[2294]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[2295]	100 105
[2296]	<210> 211
[2297]	<211> 18
[2298]	<212> DNA
[2299]	<213> 人工序列
[2300]	<220>

[2301]	<223> 合成的
[2302]	<400> 211
[2303]	caggtcatta gcaattat 18
[2304]	<210> 212
[2305]	<211> 6
[2306]	<212> PRT
[2307]	<213> 人工序列
[2308]	<220>
[2309]	<223> 合成的
[2310]	<400> 212
[2311]	Gln Val Ile Ser Asn Tyr
[2312]	1 5
[2313]	<210> 213
[2314]	<211> 9
[2315]	<212> DNA
[2316]	<213> 人工序列
[2317]	<220>
[2318]	<223> 合成的
[2319]	<400> 213
[2320]	gctgcatcc 9
[2321]	<210> 214
[2322]	<211> 3
[2323]	<212> PRT
[2324]	<213> 人工序列
[2325]	<220>
[2326]	<223> 合成的
[2327]	<400> 214
[2328]	Ala Ala Ser
[2329]	1
[2330]	<210> 215
[2331]	<211> 27
[2332]	<212> DNA
[2333]	<213> 人工序列
[2334]	<220>
[2335]	<223> 合成的
[2336]	<400> 215
[2337]	caaaagtata acagtgcgcc tcggacg 27
[2338]	<210> 216
[2339]	<211> 9

[2340]	<212>	PRT	
[2341]	<213>	人工序列	
[2342]	<220>		
[2343]	<223>	合成的	
[2344]	<400>	216	
[2345]	Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Arg Thr		
[2346]	1	5	
[2347]	<210>	217	
[2348]	<211>	360	
[2349]	<212>	DNA	
[2350]	<213>	人工序列	
[2351]	<220>		
[2352]	<223>	合成的	
[2353]	<400>	217	
[2354]	gaggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc ttggtccagc ggggggagtc cctgagactt 60
[2355]	tactgtgcag	cctctggatt	cacctttagt aaatattgga tgaactgggt ccgccaggct 120
[2356]	ccagggaagg	ggctggagtg	ggtggccaac ataaaggag atggaagtga gaaatactat 180
[2357]	gtggactctg	tgaagggccg	gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactatat 240
[2358]	ctacaaatga	acagcctgag	agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagattat 300
[2359]	tggggatcag	gctactactt	tgacttctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360
[2360]	<210>	218	
[2361]	<211>	120	
[2362]	<212>	PRT	
[2363]	<213>	人工序列	
[2364]	<220>		
[2365]	<223>	合成的	
[2366]	<400>	218	
[2367]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Arg Gly Glu		
[2368]	1	5	10 15
[2369]	Ser Leu Arg Leu Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr		
[2370]	20	25	30
[2371]	Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[2372]	35	40	45
[2373]	Ala Asn Ile Lys Gly Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val		
[2374]	50	55	60
[2375]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
[2376]	65	70	75 80
[2377]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2378]	85	90	95

[2379]	Ala Arg Asp Tyr Trp Gly Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln
[2380]	100 105 110
[2381]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2382]	115 120
[2383]	<210> 219
[2384]	<211> 24
[2385]	<212> DNA
[2386]	<213> 人工序列
[2387]	<220>
[2388]	<223> 合成的
[2389]	<400> 219
[2390]	ggattcacct ttagtaaata ttgg 24
[2391]	<210> 220
[2392]	<211> 8
[2393]	<212> PRT
[2394]	<213> 人工序列
[2395]	<220>
[2396]	<223> 合成的
[2397]	<400> 220
[2398]	Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr Trp
[2399]	1 5
[2400]	<210> 221
[2401]	<211> 24
[2402]	<212> DNA
[2403]	<213> 人工序列
[2404]	<220>
[2405]	<223> 合成的
[2406]	<400> 221
[2407]	ataaaggag atggaagtga gaaa 24
[2408]	<210> 222
[2409]	<211> 8
[2410]	<212> PRT
[2411]	<213> 人工序列
[2412]	<220>
[2413]	<223> 合成的
[2414]	<400> 222
[2415]	Ile Lys Gly Asp Gly Ser Glu Lys
[2416]	1 5
[2417]	<210> 223

[2418]	<211>	39
[2419]	<212>	DNA
[2420]	<213>	人工序列
[2421]	<220>	
[2422]	<223>	合成的
[2423]	<400>	223
[2424]	gcgagagatt attggggatc aggctactac tttgacttc 39	
[2425]	<210>	224
[2426]	<211>	13
[2427]	<212>	PRT
[2428]	<213>	人工序列
[2429]	<220>	
[2430]	<223>	合成的
[2431]	<400>	224
[2432]	Ala Arg Asp Tyr Trp Gly Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Phe	
[2433]	1	5 10
[2434]	<210>	225
[2435]	<211>	321
[2436]	<212>	DNA
[2437]	<213>	人工序列
[2438]	<220>	
[2439]	<223>	合成的
[2440]	<400>	225
[2441]	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60	
[2442]	atcacttgcc gggcaagtca gaacattaac aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120	
[2443]	gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tccaaaatgc ggtcccatca 180	
[2444]	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240	
[2445]	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacaata ccccgctcac tttcggcggg 300	
[2446]	gggaccaagg tggagatcaa a 321	
[2447]	<210>	226
[2448]	<211>	107
[2449]	<212>	PRT
[2450]	<213>	人工序列
[2451]	<220>	
[2452]	<223>	合成的
[2453]	<400>	226
[2454]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[2455]	1	5 10 15
[2456]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asn Asn Tyr	

[2457]	20	25	30
[2458]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[2459]	35	40	45
[2460]	Tyr Ala Ala Ser Ser Phe Gln Asn Ala Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[2461]	50	55	60
[2462]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[2463]	65	70	75
[2464]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Leu		
[2465]	85	90	95
[2466]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[2467]	100	105	
[2468]	<210> 227		
[2469]	<211> 18		
[2470]	<212> DNA		
[2471]	<213> 人工序列		
[2472]	<220>		
[2473]	<223> 合成的		
[2474]	<400> 227		
[2475]	cagaacatta acaactat 18		
[2476]	<210> 228		
[2477]	<211> 6		
[2478]	<212> PRT		
[2479]	<213> 人工序列		
[2480]	<220>		
[2481]	<223> 合成的		
[2482]	<400> 228		
[2483]	Gln Asn Ile Asn Asn Tyr		
[2484]	1	5	
[2485]	<210> 229		
[2486]	<211> 9		
[2487]	<212> DNA		
[2488]	<213> 人工序列		
[2489]	<220>		
[2490]	<223> 合成的		
[2491]	<400> 229		
[2492]	gctgcatcc 9		
[2493]	<210> 230		
[2494]	<211> 3		
[2495]	<212> PRT		

- [2496] <213> 人工序列
- [2497] <220>
- [2498] <223> 合成的
- [2499] <400> 230
- [2500] Ala Ala Ser
- [2501] 1
- [2502] <210> 231
- [2503] <211> 27
- [2504] <212> DNA
- [2505] <213> 人工序列
- [2506] <220>
- [2507] <223> 合成的
- [2508] <400> 231
- [2509] caacagagtt acaataccccc gctcact 27
- [2510] <210> 232
- [2511] <211> 9
- [2512] <212> PRT
- [2513] <213> 人工序列
- [2514] <220>
- [2515] <223> 合成的
- [2516] <400> 232
- [2517] Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Leu Thr
- [2518] 1 5
- [2519] <210> 233
- [2520] <211> 390
- [2521] <212> DNA
- [2522] <213> 人工序列
- [2523] <220>
- [2524] <223> 合成的
- [2525] <400> 233
- [2526] gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagt ctgggggggtc cctgagactc 60
- [2527] tcctgtgcag cctctggatt caccttttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
- [2528] ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180
- [2529] gtggactctg tgaagggcg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240
- [2530] ctgcaaatga acagcctgag agccgatgac acggctgtgt attactgtgc gagagatgat 300
- [2531] attgtagtag taccagctcc tatgggatat tactactact acttcggtat ggacgtctgg 360
- [2532] ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 390
- [2533] <210> 234
- [2534] <211> 130

[2535]	<212> PRT
[2536]	<213> 人工序列
[2537]	<220>
[2538]	<223> 合成的
[2539]	<400> 234
[2540]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly
[2541]	1 5 10 15
[2542]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[2543]	20 25 30
[2544]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2545]	35 40 45
[2546]	Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
[2547]	50 55 60
[2548]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[2549]	65 70 75 80
[2550]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2551]	85 90 95
[2552]	Ala Arg Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Pro Met Gly Tyr Tyr Tyr
[2553]	100 105 110
[2554]	Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
[2555]	115 120 125
[2556]	Ser Ser
[2557]	130
[2558]	<210> 235
[2559]	<211> 24
[2560]	<212> DNA
[2561]	<213> 人工序列
[2562]	<220>
[2563]	<223> 合成的
[2564]	<400> 235
[2565]	ggattcacct ttagtagcta ttgg 24
[2566]	<210> 236
[2567]	<211> 8
[2568]	<212> PRT
[2569]	<213> 人工序列
[2570]	<220>
[2571]	<223> 合成的
[2572]	<400> 236
[2573]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp

[2574]	1	5
[2575]	<210> 237	
[2576]	<211> 24	
[2577]	<212> DNA	
[2578]	<213> 人工序列	
[2579]	<220>	
[2580]	<223> 合成的	
[2581]	<400> 237	
[2582]	ataaagcaag atggaagtga gaaa 24	
[2583]	<210> 238	
[2584]	<211> 8	
[2585]	<212> PRT	
[2586]	<213> 人工序列	
[2587]	<220>	
[2588]	<223> 合成的	
[2589]	<400> 238	
[2590]	Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys	
[2591]	1	5
[2592]	<210> 239	
[2593]	<211> 69	
[2594]	<212> DNA	
[2595]	<213> 人工序列	
[2596]	<220>	
[2597]	<223> 合成的	
[2598]	<400> 239	
[2599]	gcgagagatg atattgtagt agtaccagct cctatgggat attactacta ctacttcggt 60	
[2600]	atggacgtc 69	
[2601]	<210> 240	
[2602]	<211> 23	
[2603]	<212> PRT	
[2604]	<213> 人工序列	
[2605]	<220>	
[2606]	<223> 合成的	
[2607]	<400> 240	
[2608]	Ala Arg Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Pro Met Gly Tyr Tyr Tyr	
[2609]	1	5 10 15
[2610]	Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val	
[2611]	20	
[2612]	<210> 241	

[2613]	<211> 321
[2614]	<212> DNA
[2615]	<213> 人工序列
[2616]	<220>
[2617]	<223> 合成的
[2618]	<400> 241
[2619]	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
[2620]	atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
[2621]	gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
[2622]	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactctca caatcagcag cctgcagcct 240
[2623]	gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtacac ttttggccag 300
[2624]	gggaccaagc tggagatcaa a 321
[2625]	<210> 242
[2626]	<211> 107
[2627]	<212> PRT
[2628]	<213> 人工序列
[2629]	<220>
[2630]	<223> 合成的
[2631]	<400> 242
[2632]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2633]	1 5 10 15
[2634]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
[2635]	20 25 30
[2636]	Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
[2637]	35 40 45
[2638]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2639]	50 55 60
[2640]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2641]	65 70 75 80
[2642]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr
[2643]	85 90 95
[2644]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[2645]	100 105
[2646]	<210> 243
[2647]	<211> 18
[2648]	<212> DNA
[2649]	<213> 人工序列
[2650]	<220>
[2651]	<223> 合成的

[2652] <400> 243
[2653] cagggcatta gaaatgat 18
[2654] <210> 244
[2655] <211> 6
[2656] <212> PRT
[2657] <213> 人工序列
[2658] <220>
[2659] <223> 合成的
[2660] <400> 244
[2661] Gln Gly Ile Arg Asn Asp
[2662] 1 5
[2663] <210> 245
[2664] <211> 9
[2665] <212> DNA
[2666] <213> 人工序列
[2667] <220>
[2668] <223> 合成的
[2669] <400> 245
[2670] gctgcatcc 9
[2671] <210> 246
[2672] <211> 3
[2673] <212> PRT
[2674] <213> 人工序列
[2675] <220>
[2676] <223> 合成的
[2677] <400> 246
[2678] Ala Ala Ser
[2679] 1
[2680] <210> 247
[2681] <211> 27
[2682] <212> DNA
[2683] <213> 人工序列
[2684] <220>
[2685] <223> 合成的
[2686] <400> 247
[2687] ctacagcata atagttaccc gtacact 27
[2688] <210> 248
[2689] <211> 9
[2690] <212> PRT

[2691]	<213>	人工序列	
[2692]	<220>		
[2693]	<223>	合成的	
[2694]	<400>	248	
[2695]	Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr		
[2696]	1	5	
[2697]	<210>	249	
[2698]	<211>	369	
[2699]	<212>	DNA	
[2700]	<213>	人工序列	
[2701]	<220>		
[2702]	<223>	合成的	
[2703]	<400>	249	
[2704]	gaagtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc ttggttcagc ctggcaggtc cctgagactc 60
[2705]	tcctgtgcag	cctctggatt	cacctttgat gattttgcc a tgcactgggt ccgacaagct 120
[2706]	ccagggaagg	gcctggagtg	ggtctcaggt attagttgga ctggtggtaa catggactat 180
[2707]	gcgaactctg	tgaagggccg	attcaccatc tccagagagg acgccaagaa ttccctgtat 240
[2708]	ctgcaaatga	acagtctgag	agctgcggac acggccttgt attactgtgt aaaagatata 300
[2709]	aggggatag	tggctacggg	gggggctttt gatattctggg gccgaggac aatggtcacc 360
[2710]	gtctcttca	369	
[2711]	<210>	250	
[2712]	<211>	123	
[2713]	<212>	PRT	
[2714]	<213>	人工序列	
[2715]	<220>		
[2716]	<223>	合成的	
[2717]	<400>	250	
[2718]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[2719]	1	5	10 15
[2720]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Phe		
[2721]		20	25 30
[2722]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[2723]		35	40 45
[2724]	Ser Gly Ile Ser Trp Thr Gly Gly Asn Met Asp Tyr Ala Asn Ser Val		
[2725]		50	55 60
[2726]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
[2727]		65	70 75 80
[2728]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys		
[2729]		85	90 95

[2730]	Val Lys Asp Ile Arg Gly Ile Val Ala Thr Gly Gly Ala Phe Asp Ile
[2731]	100 105 110
[2732]	Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
[2733]	115 120
[2734]	<210> 251
[2735]	<211> 24
[2736]	<212> DNA
[2737]	<213> 人工序列
[2738]	<220>
[2739]	<223> 合成的
[2740]	<400> 251
[2741]	ggattcacct ttgatgattt tgcc 24
[2742]	<210> 252
[2743]	<211> 8
[2744]	<212> PRT
[2745]	<213> 人工序列
[2746]	<220>
[2747]	<223> 合成的
[2748]	<400> 252
[2749]	Gly Phe Thr Phe Asp Asp Phe Ala
[2750]	1 5
[2751]	<210> 253
[2752]	<211> 24
[2753]	<212> DNA
[2754]	<213> 人工序列
[2755]	<220>
[2756]	<223> 合成的
[2757]	<400> 253
[2758]	attagttgga ctggtggtaa catg 24
[2759]	<210> 254
[2760]	<211> 8
[2761]	<212> PRT
[2762]	<213> 人工序列
[2763]	<220>
[2764]	<223> 合成的
[2765]	<400> 254
[2766]	Ile Ser Trp Thr Gly Gly Asn Met
[2767]	1 5
[2768]	<210> 255

[2769]	<211>	48
[2770]	<212>	DNA
[2771]	<213>	人工序列
[2772]	<220>	
[2773]	<223>	合成的
[2774]	<400>	255
[2775]	gtaaaagata taaggggat agtggctacg ggggggctt ttgatatc 48	
[2776]	<210>	256
[2777]	<211>	16
[2778]	<212>	PRT
[2779]	<213>	人工序列
[2780]	<220>	
[2781]	<223>	合成的
[2782]	<400>	256
[2783]	Val Lys Asp Ile Arg Gly Ile Val Ala Thr Gly Gly Ala Phe Asp Ile	
[2784]	1	5 10 15
[2785]	<210>	257
[2786]	<211>	321
[2787]	<212>	DNA
[2788]	<213>	人工序列
[2789]	<220>	
[2790]	<223>	合成的
[2791]	<400>	257
[2792]	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60	
[2793]	atctcttgcc gggcaagtca gaccattagc acttatttaa attggtttca gcagaaacca 120	
[2794]	gggaaagccc ctaagctcct gatctatggt gtgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180	
[2795]	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240	
[2796]	gaagattttg caacttatta ctgtcaacag agttacagta cccattcac ttteggccct 300	
[2797]	gggaccaaag tggatatcaa a 321	
[2798]	<210>	258
[2799]	<211>	107
[2800]	<212>	PRT
[2801]	<213>	人工序列
[2802]	<220>	
[2803]	<223>	合成的
[2804]	<400>	258
[2805]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[2806]	1	5 10 15
[2807]	Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Thr Tyr	

[2808]	20	25	30
[2809]	Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[2810]	35	40	45
[2811]	Tyr Val Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[2812]	50	55	60
[2813]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[2814]	65	70	75
[2815]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe		
[2816]	85	90	95
[2817]	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys		
[2818]	100	105	
[2819]	<210> 259		
[2820]	<211> 18		
[2821]	<212> DNA		
[2822]	<213> 人工序列		
[2823]	<220>		
[2824]	<223> 合成的		
[2825]	<400> 259		
[2826]	cagaccatta gcacttat 18		
[2827]	<210> 260		
[2828]	<211> 6		
[2829]	<212> PRT		
[2830]	<213> 人工序列		
[2831]	<220>		
[2832]	<223> 合成的		
[2833]	<400> 260		
[2834]	Gln Thr Ile Ser Thr Tyr		
[2835]	1	5	
[2836]	<210> 261		
[2837]	<211> 9		
[2838]	<212> DNA		
[2839]	<213> 人工序列		
[2840]	<220>		
[2841]	<223> 合成的		
[2842]	<400> 261		
[2843]	gttgtgtcc 9		
[2844]	<210> 262		
[2845]	<211> 3		
[2846]	<212> PRT		

[2847]	<213> 人工序列
[2848]	<220>
[2849]	<223> 合成的
[2850]	<400> 262
[2851]	Val Val Ser
[2852]	1
[2853]	<210> 263
[2854]	<211> 27
[2855]	<212> DNA
[2856]	<213> 人工序列
[2857]	<220>
[2858]	<223> 合成的
[2859]	<400> 263
[2860]	caacagagtt acagtacccc attcact 27
[2861]	<210> 264
[2862]	<211> 9
[2863]	<212> PRT
[2864]	<213> 人工序列
[2865]	<220>
[2866]	<223> 合成的
[2867]	<400> 264
[2868]	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
[2869]	1 5
[2870]	<210> 265
[2871]	<211> 345
[2872]	<212> DNA
[2873]	<213> 人工序列
[2874]	<220>
[2875]	<223> 合成的
[2876]	<400> 265
[2877]	gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60
[2878]	tcctgtgcag cctctggatt caccgtcggc accaactaca tgaactgggt ccgccaggct 120
[2879]	ccagggaagg gactggagtg gatctcagtt atttatagcg gtggtagcac attctacgca 180
[2880]	gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacagactt cccagaacac gctgtatctt 240
[2881]	caaatgaaca gcctgagacc tgaggacacg gccgtatatt actgtgcgag aggtatacgt 300
[2882]	ggttttgata tctggggcca agggacaatg gtcaccgtct cttca 345
[2883]	<210> 266
[2884]	<211> 115
[2885]	<212> PRT

[2886]	<213>	人工序列
[2887]	<220>	
[2888]	<223>	合成的
[2889]	<400>	266
[2890]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[2891]	1 5 10 15	
[2892]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn	
[2893]	20 25 30	
[2894]	Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
[2895]	35 40 45	
[2896]	Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys	
[2897]	50 55 60	
[2898]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gln Thr Ser Gln Asn Thr Leu Tyr Leu	
[2899]	65 70 75 80	
[2900]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
[2901]	85 90 95	
[2902]	Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr	
[2903]	100 105 110	
[2904]	Val Ser Ser	
[2905]	115	
[2906]	<210>	267
[2907]	<211>	24
[2908]	<212>	DNA
[2909]	<213>	人工序列
[2910]	<220>	
[2911]	<223>	合成的
[2912]	<400>	267
[2913]	ggattcaccg tcggtaccaa ctac	24
[2914]	<210>	268
[2915]	<211>	8
[2916]	<212>	PRT
[2917]	<213>	人工序列
[2918]	<220>	
[2919]	<223>	合成的
[2920]	<400>	268
[2921]	Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn Tyr	
[2922]	1 5	
[2923]	<210>	269
[2924]	<211>	21

- [2925] <212> DNA
[2926] <213> 人工序列
[2927] <220>
[2928] <223> 合成的
[2929] <400> 269
[2930] atttatagcg gtggtagcac a 21
[2931] <210> 270
[2932] <211> 7
[2933] <212> PRT
[2934] <213> 人工序列
[2935] <220>
[2936] <223> 合成的
[2937] <400> 270
[2938] Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr
[2939] 1 5
[2940] <210> 271
[2941] <211> 27
[2942] <212> DNA
[2943] <213> 人工序列
[2944] <220>
[2945] <223> 合成的
[2946] <400> 271
[2947] gcgagaggta tacgtggttt tgatatc 27
[2948] <210> 272
[2949] <211> 9
[2950] <212> PRT
[2951] <213> 人工序列
[2952] <220>
[2953] <223> 合成的
[2954] <400> 272
[2955] Ala Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile
[2956] 1 5
[2957] <210> 273
[2958] <211> 324
[2959] <212> DNA
[2960] <213> 人工序列
[2961] <220>
[2962] <223> 合成的
[2963] <400> 273

[2964]	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
[2965]	atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
[2966]	gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgta	180
[2967]	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
[2968]	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc	300
[2969]	caagggacac gactggagat taaa	324
[2970]	<210>	274
[2971]	<211>	108
[2972]	<212>	PRT
[2973]	<213>	人工序列
[2974]	<220>	
[2975]	<223>	合成的
[2976]	<400>	274
[2977]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[2978]	1 5 10 15	
[2979]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr	
[2980]	20 25 30	
[2981]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[2982]	35 40 45	
[2983]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[2984]	50 55 60	
[2985]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[2986]	65 70 75 80	
[2987]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro	
[2988]	85 90 95	
[2989]	Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys	
[2990]	100 105	
[2991]	<210>	275
[2992]	<211>	18
[2993]	<212>	DNA
[2994]	<213>	人工序列
[2995]	<220>	
[2996]	<223>	合成的
[2997]	<400>	275
[2998]	cagagcatta gcagctat	18
[2999]	<210>	276
[3000]	<211>	6
[3001]	<212>	PRT
[3002]	<213>	人工序列

[3003]	<220>
[3004]	<223> 合成的
[3005]	<400> 276
[3006]	Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
[3007]	1 5
[3008]	<210> 277
[3009]	<211> 9
[3010]	<212> DNA
[3011]	<213> 人工序列
[3012]	<220>
[3013]	<223> 合成的
[3014]	<400> 277
[3015]	gctgcatcc 9
[3016]	<210> 278
[3017]	<211> 3
[3018]	<212> PRT
[3019]	<213> 人工序列
[3020]	<220>
[3021]	<223> 合成的
[3022]	<400> 278
[3023]	Ala Ala Ser
[3024]	1
[3025]	<210> 279
[3026]	<211> 30
[3027]	<212> DNA
[3028]	<213> 人工序列
[3029]	<220>
[3030]	<223> 合成的
[3031]	<400> 279
[3032]	caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30
[3033]	<210> 280
[3034]	<211> 10
[3035]	<212> PRT
[3036]	<213> 人工序列
[3037]	<220>
[3038]	<223> 合成的
[3039]	<400> 280
[3040]	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
[3041]	1 5 10

[3042]	<210> 281
[3043]	<211> 345
[3044]	<212> DNA
[3045]	<213> 人工序列
[3046]	<220>
[3047]	<223> 合成的
[3048]	<400> 281
[3049]	gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60
[3050]	tcctgtgcag cctctgggtt taccatcagt accaactaca tgaactgggt ccgccaggct 120
[3051]	ccagggaagg ggctggagtg ggtcgcagtt atttatagca gtggttccac atactatatac 180
[3052]	gactccgtga agggccgatt caccatctcc agactcactt ccaagaacac ggtgtatctt 240
[3053]	caaatgagca gcctgaattc tgaagacacg gccgtgtatt actgtgcgag ggggatcagg 300
[3054]	ggttttgata ttgggggcca agggacaatg gtcaccgtct cttca 345
[3055]	<210> 282
[3056]	<211> 115
[3057]	<212> PRT
[3058]	<213> 人工序列
[3059]	<220>
[3060]	<223> 合成的
[3061]	<400> 282
[3062]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3063]	1 5 10 15
[3064]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Thr Asn
[3065]	20 25 30
[3066]	Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3067]	35 40 45
[3068]	Ala Val Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ile Asp Ser Val Lys
[3069]	50 55 60
[3070]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Leu Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
[3071]	65 70 75 80
[3072]	Gln Met Ser Ser Leu Asn Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
[3073]	85 90 95
[3074]	Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
[3075]	100 105 110
[3076]	Val Ser Ser
[3077]	115
[3078]	<210> 283
[3079]	<211> 24
[3080]	<212> DNA

[3081] <213> 人工序列
[3082] <220>
[3083] <223> 合成的
[3084] <400> 283
[3085] gggtttacca tcagtaccaa ctac 24
[3086] <210> 284
[3087] <211> 8
[3088] <212> PRT
[3089] <213> 人工序列
[3090] <220>
[3091] <223> 合成的
[3092] <400> 284
[3093] Gly Phe Thr Ile Ser Thr Asn Tyr
[3094] 1 5
[3095] <210> 285
[3096] <211> 21
[3097] <212> DNA
[3098] <213> 人工序列
[3099] <220>
[3100] <223> 合成的
[3101] <400> 285
[3102] atttatagca gtggttcac a 21
[3103] <210> 286
[3104] <211> 7
[3105] <212> PRT
[3106] <213> 人工序列
[3107] <220>
[3108] <223> 合成的
[3109] <400> 286
[3110] Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr
[3111] 1 5
[3112] <210> 287
[3113] <211> 27
[3114] <212> DNA
[3115] <213> 人工序列
[3116] <220>
[3117] <223> 合成的
[3118] <400> 287
[3119] gcgaggggga tcaggggttt tgatatt 27

[3120]	<210> 288
[3121]	<211> 9
[3122]	<212> PRT
[3123]	<213> 人工序列
[3124]	<220>
[3125]	<223> 合成的
[3126]	<400> 288
[3127]	Ala Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile
[3128]	1 5
[3129]	<210> 289
[3130]	<211> 372
[3131]	<212> DNA
[3132]	<213> 人工序列
[3133]	<220>
[3134]	<223> 合成的
[3135]	<400> 289
[3136]	gaagtgcagc tgggtggagtc ggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
[3137]	tcctgtgcag cctctggatt caccattgat gatagtgcc tgcactgggt ccggcaaact 120
[3138]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga aaagtggtag cataggttat 180
[3139]	gcggactctg tgaggggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttccctctat 240
[3140]	ctgcaaatga acagtctgag agttgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagatata 300
[3141]	aggggcaact ggaactacgg gggaaactgg ttcgaccctt ggggccaggg aaccctggtc 360
[3142]	actgtctcct ca 372
[3143]	<210> 290
[3144]	<211> 124
[3145]	<212> PRT
[3146]	<213> 人工序列
[3147]	<220>
[3148]	<223> 合成的
[3149]	<400> 290
[3150]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[3151]	1 5 10 15
[3152]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Asp Asp Ser
[3153]	20 25 30
[3154]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3155]	35 40 45
[3156]	Ser Gly Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[3157]	50 55 60
[3158]	Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

[3159]	65	70	75	80
[3160]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys			
[3161]		85	90	95
[3162]	Val Lys Asp Ile Arg Gly Asn Trp Asn Tyr Gly Gly Asn Trp Phe Asp			
[3163]		100	105	110
[3164]	Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[3165]		115	120	
[3166]	<210> 291			
[3167]	<211> 24			
[3168]	<212> DNA			
[3169]	<213> 人工序列			
[3170]	<220>			
[3171]	<223> 合成的			
[3172]	<400> 291			
[3173]	ggattcacca ttgatgatag tgcc 24			
[3174]	<210> 292			
[3175]	<211> 8			
[3176]	<212> PRT			
[3177]	<213> 人工序列			
[3178]	<220>			
[3179]	<223> 合成的			
[3180]	<400> 292			
[3181]	Gly Phe Thr Ile Asp Asp Ser Ala			
[3182]	1	5		
[3183]	<210> 293			
[3184]	<211> 24			
[3185]	<212> DNA			
[3186]	<213> 人工序列			
[3187]	<220>			
[3188]	<223> 合成的			
[3189]	<400> 293			
[3190]	attagttgga aaagtggtag cata 24			
[3191]	<210> 294			
[3192]	<211> 8			
[3193]	<212> PRT			
[3194]	<213> 人工序列			
[3195]	<220>			
[3196]	<223> 合成的			
[3197]	<400> 294			

[3198]	Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile
[3199]	1 5
[3200]	<210> 295
[3201]	<211> 51
[3202]	<212> DNA
[3203]	<213> 人工序列
[3204]	<220>
[3205]	<223> 合成的
[3206]	<400> 295
[3207]	gtaaaagata taaggggcaa ctggaactac gggggaaact ggttcgaccc c 51
[3208]	<210> 296
[3209]	<211> 17
[3210]	<212> PRT
[3211]	<213> 人工序列
[3212]	<220>
[3213]	<223> 合成的
[3214]	<400> 296
[3215]	Val Lys Asp Ile Arg Gly Asn Trp Asn Tyr Gly Gly Asn Trp Phe Asp
[3216]	1 5 10 15
[3217]	Pro
[3218]	<210> 297
[3219]	<211> 345
[3220]	<212> DNA
[3221]	<213> 人工序列
[3222]	<220>
[3223]	<223> 合成的
[3224]	<400> 297
[3225]	gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
[3226]	tcatgtgaag cctctgggtt caccgtcggg gtcaaccaca tgaactgggt ccgccaggct 120
[3227]	ccagggaagg gtctggagtg ggtctcagtt attttcagta gtggtaggac attctacgga 180
[3228]	gactacgtga aggggcgatt aaccatcttc agacaaacct cccagaacac ggtgtatctt 240
[3229]	caaatgaata gcctgagaag tgaggacacg gccatatatt actgtgagag agggattggc 300
[3230]	ggttttgaca tctggggccg agggacaatg gtcaccgtct cttca 345
[3231]	<210> 298
[3232]	<211> 115
[3233]	<212> PRT
[3234]	<213> 人工序列
[3235]	<220>
[3236]	<223> 合成的

[3237]	<400> 298
[3238]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[3239]	1 5 10 15
[3240]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Val Gly Val Asn
[3241]	20 25 30
[3242]	His Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3243]	35 40 45
[3244]	Ser Val Ile Phe Ser Ser Gly Arg Thr Phe Tyr Gly Asp Tyr Val Lys
[3245]	50 55 60
[3246]	Gly Arg Leu Thr Ile Phe Arg Gln Thr Ser Gln Asn Thr Val Tyr Leu
[3247]	65 70 75 80
[3248]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
[3249]	85 90 95
[3250]	Arg Gly Ile Gly Gly Leu Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr
[3251]	100 105 110
[3252]	Val Ser Ser
[3253]	115
[3254]	<210> 299
[3255]	<211> 24
[3256]	<212> DNA
[3257]	<213> 人工序列
[3258]	<220>
[3259]	<223> 合成的
[3260]	<400> 299
[3261]	gggttcaccg tcggtgtcaa ccac 24
[3262]	<210> 300
[3263]	<211> 8
[3264]	<212> PRT
[3265]	<213> 人工序列
[3266]	<220>
[3267]	<223> 合成的
[3268]	<400> 300
[3269]	Gly Phe Thr Val Gly Val Asn His
[3270]	1 5
[3271]	<210> 301
[3272]	<211> 21
[3273]	<212> DNA
[3274]	<213> 人工序列
[3275]	<220>

[3276]	<223> 合成的
[3277]	<400> 301
[3278]	atttttcagta gtggtaggac a 21
[3279]	<210> 302
[3280]	<211> 7
[3281]	<212> PRT
[3282]	<213> 人工序列
[3283]	<220>
[3284]	<223> 合成的
[3285]	<400> 302
[3286]	Ile Phe Ser Ser Gly Arg Thr
[3287]	1 5
[3288]	<210> 303
[3289]	<211> 27
[3290]	<212> DNA
[3291]	<213> 人工序列
[3292]	<220>
[3293]	<223> 合成的
[3294]	<400> 303
[3295]	gcgagaggga ttggcggttt ggacatc 27
[3296]	<210> 304
[3297]	<211> 9
[3298]	<212> PRT
[3299]	<213> 人工序列
[3300]	<220>
[3301]	<223> 合成的
[3302]	<400> 304
[3303]	Ala Arg Gly Ile Gly Gly Leu Asp Ile
[3304]	1 5
[3305]	<210> 305
[3306]	<211> 369
[3307]	<212> DNA
[3308]	<213> 人工序列
[3309]	<220>
[3310]	<223> 合成的
[3311]	<400> 305
[3312]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttcagc ctggcaggtc cctaagactc 60
[3313]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcct tgcactgggt ccggcaagct 120
[3314]	ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga ctggtggtac tatagactat 180

[3315]	gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat	240
[3316]	ctgcaaata ga gcagtctgag aactgaggac acggccatat attactgtac aagagatatc	300
[3317]	cgggggaact ggaagtacgg aggctggttc gaccctggg gccagggaac cctggtcacc	360
[3318]	gtctcctca	369
[3319]	<210>	306
[3320]	<211>	123
[3321]	<212>	PRT
[3322]	<213>	人工序列
[3323]	<220>	
[3324]	<223>	合成的
[3325]	<400>	306
[3326]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
[3327]	1 5 10 15	
[3328]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[3329]	20 25 30	
[3330]	Ala Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[3331]	35 40 45	
[3332]	Ser Gly Ile Ser Trp Thr Gly Gly Thr Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val	
[3333]	50 55 60	
[3334]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
[3335]	65 70 75 80	
[3336]	Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys	
[3337]	85 90 95	
[3338]	Thr Arg Asp Ile Arg Gly Asn Trp Lys Tyr Gly Gly Trp Phe Asp Pro	
[3339]	100 105 110	
[3340]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[3341]	115 120	
[3342]	<210>	307
[3343]	<211>	24
[3344]	<212>	DNA
[3345]	<213>	人工序列
[3346]	<220>	
[3347]	<223>	合成的
[3348]	<400>	307
[3349]	ggattcacct ttgatgatta tgcc	24
[3350]	<210>	308
[3351]	<211>	8
[3352]	<212>	PRT
[3353]	<213>	人工序列

[3354]	<220>
[3355]	<223> 合成的
[3356]	<400> 308
[3357]	Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
[3358]	1 5
[3359]	<210> 309
[3360]	<211> 24
[3361]	<212> DNA
[3362]	<213> 人工序列
[3363]	<220>
[3364]	<223> 合成的
[3365]	<400> 309
[3366]	attagttgga ctggtggtac tata 24
[3367]	<210> 310
[3368]	<211> 8
[3369]	<212> PRT
[3370]	<213> 人工序列
[3371]	<220>
[3372]	<223> 合成的
[3373]	<400> 310
[3374]	Ile Ser Trp Thr Gly Gly Thr Ile
[3375]	1 5
[3376]	<210> 311
[3377]	<211> 48
[3378]	<212> DNA
[3379]	<213> 人工序列
[3380]	<220>
[3381]	<223> 合成的
[3382]	<400> 311
[3383]	acaagagata tccgggggaa ctggaagtac ggaggctggt tcgacccc 48
[3384]	<210> 312
[3385]	<211> 16
[3386]	<212> PRT
[3387]	<213> 人工序列
[3388]	<220>
[3389]	<223> 合成的
[3390]	<400> 312
[3391]	Thr Arg Asp Ile Arg Gly Asn Trp Lys Tyr Gly Gly Trp Phe Asp Pro
[3392]	1 5 10 15

[3393]	<210> 313
[3394]	<211> 360
[3395]	<212> DNA
[3396]	<213> 人工序列
[3397]	<220>
[3398]	<223> 合成的
[3399]	<400> 313
[3400]	caggtgcagc tgggtgcagtc tgggactgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
[3401]	tcctgcaagg cttctggata caccttcacc gcctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
[3402]	cctgggtcaag gacttgactg gatgggatgg atcagcccta acagtggttt cacaactat 180
[3403]	gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcaa cacattttat 240
[3404]	atggagctga gtggactgag atctgacgac acggccgtat attactgtgc gcgagagggt 300
[3405]	tctactcacc acaattcttt cgaccctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360
[3406]	<210> 314
[3407]	<211> 120
[3408]	<212> PRT
[3409]	<213> 人工序列
[3410]	<220>
[3411]	<223> 合成的
[3412]	<400> 314
[3413]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[3414]	1 5 10 15
[3415]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
[3416]	20 25 30
[3417]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Asp Trp Met
[3418]	35 40 45
[3419]	Gly Trp Ile Ser Pro Asn Ser Gly Phe Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
[3420]	50 55 60
[3421]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Phe Tyr
[3422]	65 70 75 80
[3423]	Met Glu Leu Ser Gly Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3424]	85 90 95
[3425]	Ala Arg Glu Gly Ser Thr His His Asn Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln
[3426]	100 105 110
[3427]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3428]	115 120
[3429]	<210> 315
[3430]	<211> 24
[3431]	<212> DNA

- [3432] <213> 人工序列
[3433] <220>
[3434] <223> 合成的
[3435] <400> 315
[3436] ggatacacct tcaccgccta ctat 24
[3437] <210> 316
[3438] <211> 8
[3439] <212> PRT
[3440] <213> 人工序列
[3441] <220>
[3442] <223> 合成的
[3443] <400> 316
[3444] Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Tyr
[3445] 1 5
[3446] <210> 317
[3447] <211> 24
[3448] <212> DNA
[3449] <213> 人工序列
[3450] <220>
[3451] <223> 合成的
[3452] <400> 317
[3453] atcagcccta acagtggttt caca 24
[3454] <210> 318
[3455] <211> 8
[3456] <212> PRT
[3457] <213> 人工序列
[3458] <220>
[3459] <223> 合成的
[3460] <400> 318
[3461] Ile Ser Pro Asn Ser Gly Phe Thr
[3462] 1 5
[3463] <210> 319
[3464] <211> 39
[3465] <212> DNA
[3466] <213> 人工序列
[3467] <220>
[3468] <223> 合成的
[3469] <400> 319
[3470] gcgcgagagg gttctactca ccacaattct ttcgacccc 39

[3471]	<210>	320	
[3472]	<211>	13	
[3473]	<212>	PRT	
[3474]	<213>	人工序列	
[3475]	<220>		
[3476]	<223>	合成的	
[3477]	<400>	320	
[3478]	Ala Arg Glu Gly Ser Thr His His Asn Ser Phe Asp Pro		
[3479]	1	5	10
[3480]	<210>	321	
[3481]	<211>	342	
[3482]	<212>	DNA	
[3483]	<213>	人工序列	
[3484]	<220>		
[3485]	<223>	合成的	
[3486]	<400>	321	
[3487]	gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccaac cggggggggtc cctgaggctc	60	
[3488]	tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcggc actaacttca tgaattgggt ccgccaggct	120	
[3489]	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagcg atttatagcg gtggtaccgc taactacgca	180	
[3490]	gactccgtga agggccgatt caccatttcc agagacactt ccaggaacac gctgtatctt	240	
[3491]	caaatgaaca gcctgagaac tgaggacacg gccgtttatt attgtgcgag aggggggggt	300	
[3492]	atggacgtct ggggcccaagg gaccacggtc accgtctcct ca	342	
[3493]	<210>	322	
[3494]	<211>	114	
[3495]	<212>	PRT	
[3496]	<213>	人工序列	
[3497]	<220>		
[3498]	<223>	合成的	
[3499]	<400>	322	
[3500]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[3501]	1	5	10 15
[3502]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn		
[3503]		20	25 30
[3504]	Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3505]		35	40 45
[3506]	Ser Ala Ile Tyr Ser Gly Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
[3507]		50	55 60
[3508]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Arg Asn Thr Leu Tyr Leu		
[3509]	65	70	75 80

[3510]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
[3511]	85 90 95
[3512]	Arg Gly Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
[3513]	100 105 110
[3514]	Ser Ser
[3515]	<210> 323
[3516]	<211> 24
[3517]	<212> DNA
[3518]	<213> 人工序列
[3519]	<220>
[3520]	<223> 合成的
[3521]	<400> 323
[3522]	gggttcaccg tcggtactaa cttc 24
[3523]	<210> 324
[3524]	<211> 8
[3525]	<212> PRT
[3526]	<213> 人工序列
[3527]	<220>
[3528]	<223> 合成的
[3529]	<400> 324
[3530]	Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn Phe
[3531]	1 5
[3532]	<210> 325
[3533]	<211> 21
[3534]	<212> DNA
[3535]	<213> 人工序列
[3536]	<220>
[3537]	<223> 合成的
[3538]	<400> 325
[3539]	atttatagcg gtggtaccgc t 21
[3540]	<210> 326
[3541]	<211> 7
[3542]	<212> PRT
[3543]	<213> 人工序列
[3544]	<220>
[3545]	<223> 合成的
[3546]	<400> 326
[3547]	Ile Tyr Ser Gly Gly Thr Ala
[3548]	1 5

[3549]	<210>	327	
[3550]	<211>	24	
[3551]	<212>	DNA	
[3552]	<213>	人工序列	
[3553]	<220>		
[3554]	<223>	合成的	
[3555]	<400>	327	
[3556]		gcgagagggg ggggtatgga cgtc	24
[3557]	<210>	328	
[3558]	<211>	8	
[3559]	<212>	PRT	
[3560]	<213>	人工序列	
[3561]	<220>		
[3562]	<223>	合成的	
[3563]	<400>	328	
[3564]		Ala Arg Gly Gly Gly Met Asp Val	
[3565]		1 5	
[3566]	<210>	329	
[3567]	<211>	354	
[3568]	<212>	DNA	
[3569]	<213>	人工序列	
[3570]	<220>		
[3571]	<223>	合成的	
[3572]	<400>	329	
[3573]		caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc	60
[3574]		tcctgcaagg cttctggagg caccttcaac acctatgttc tcagctgggt gcgacaggcc	120
[3575]		cctggacaag ggcttgagtg gatgggagag atcatcccta tcttaggtgc agcaaaactac	180
[3576]		gcacagaact tccagggcag agtcactttt accacggacg aatccacgaa tacagcctac	240
[3577]		atggacctga gcagcctaag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcgg	300
[3578]		acctccgggg ggttcgaccc ctggggccag ggaaccctgg tcaactgtctc ctca	354
[3579]	<210>	330	
[3580]	<211>	118	
[3581]	<212>	PRT	
[3582]	<213>	人工序列	
[3583]	<220>		
[3584]	<223>	合成的	
[3585]	<400>	330	
[3586]		Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	
[3587]		1 5 10 15	

[3588]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Asn Thr Tyr
[3589]	20 25 30
[3590]	Val Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[3591]	35 40 45
[3592]	Gly Glu Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Asn Phe
[3593]	50 55 60
[3594]	Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
[3595]	65 70 75 80
[3596]	Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3597]	85 90 95
[3598]	Ala Arg Asp Arg Thr Ser Gly Gly Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
[3599]	100 105 110
[3600]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[3601]	115
[3602]	<210> 331
[3603]	<211> 24
[3604]	<212> DNA
[3605]	<213> 人工序列
[3606]	<220>
[3607]	<223> 合成的
[3608]	<400> 331
[3609]	ggaggcacct tcaacaccta tggtt 24
[3610]	<210> 332
[3611]	<211> 8
[3612]	<212> PRT
[3613]	<213> 人工序列
[3614]	<220>
[3615]	<223> 合成的
[3616]	<400> 332
[3617]	Gly Gly Thr Phe Asn Thr Tyr Val
[3618]	1 5
[3619]	<210> 333
[3620]	<211> 24
[3621]	<212> DNA
[3622]	<213> 人工序列
[3623]	<220>
[3624]	<223> 合成的
[3625]	<400> 333
[3626]	atcatcccta tcttaggtgc agca 24

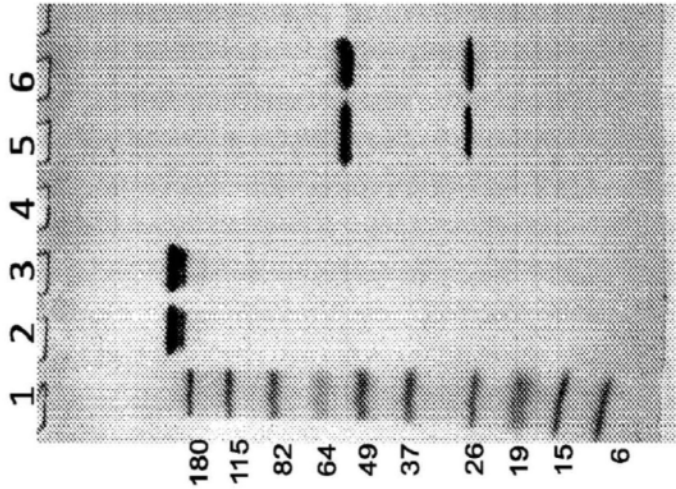
[3627]	<210>	334	
[3628]	<211>	8	
[3629]	<212>	PRT	
[3630]	<213>	人工序列	
[3631]	<220>		
[3632]	<223>	合成的	
[3633]	<400>	334	
[3634]	Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala		
[3635]	1	5	
[3636]	<210>	335	
[3637]	<211>	33	
[3638]	<212>	DNA	
[3639]	<213>	人工序列	
[3640]	<220>		
[3641]	<223>	合成的	
[3642]	<400>	335	
[3643]	gcgagagatc ggacctccgg ggggttcgac ccc	33	
[3644]	<210>	336	
[3645]	<211>	11	
[3646]	<212>	PRT	
[3647]	<213>	人工序列	
[3648]	<220>		
[3649]	<223>	合成的	
[3650]	<400>	336	
[3651]	Ala Arg Asp Arg Thr Ser Gly Gly Phe Asp Pro		
[3652]	1	5	10
[3653]	<210>	337	
[3654]	<211>	357	
[3655]	<212>	DNA	
[3656]	<213>	人工序列	
[3657]	<220>		
[3658]	<223>	合成的	
[3659]	<400>	337	
[3660]	caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtggagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60	
[3661]	tcttgcaagg cttcttggtta catctttacc cactatggta tcagctgggt gcgacaggcc	120	
[3662]	cctggacaag gacttgagtg ggtgggctgg atcagccctt acaatggta cacagactat	180	
[3663]	gcacagaaac tccagggcag agtcaccttg accacagaca catccacgac cacagcctac	240	
[3664]	atggagctga ggaacctgag atctgacgac acggccatgt attactgttc gagagggagg	300	
[3665]	ggcccttact ggtccttcga tctctggggc cgtggcaccc tggtcaccgt ctcctca	357	

[3666]	<210> 338
[3667]	<211> 119
[3668]	<212> PRT
[3669]	<213> 人工序列
[3670]	<220>
[3671]	<223> 合成的
[3672]	<400> 338
[3673]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
[3674]	1 5 10 15
[3675]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr His Tyr
[3676]	20 25 30
[3677]	Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
[3678]	35 40 45
[3679]	Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Leu
[3680]	50 55 60
[3681]	Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
[3682]	65 70 75 80
[3683]	Met Glu Leu Arg Asn Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[3684]	85 90 95
[3685]	Ser Arg Gly Arg Gly Pro Tyr Trp Ser Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
[3686]	100 105 110
[3687]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[3688]	115
[3689]	<210> 339
[3690]	<211> 24
[3691]	<212> DNA
[3692]	<213> 人工序列
[3693]	<220>
[3694]	<223> 合成的
[3695]	<400> 339
[3696]	ggttacatct ttaccacta tggt 24
[3697]	<210> 340
[3698]	<211> 8
[3699]	<212> PRT
[3700]	<213> 人工序列
[3701]	<220>
[3702]	<223> 合成的
[3703]	<400> 340
[3704]	Gly Tyr Ile Phe Thr His Tyr Gly

[3705]	1	5
[3706]	<210> 341	
[3707]	<211> 24	
[3708]	<212> DNA	
[3709]	<213> 人工序列	
[3710]	<220>	
[3711]	<223> 合成的	
[3712]	<400> 341	
[3713]	atcagccctt acaatggtta caca	24
[3714]	<210> 342	
[3715]	<211> 8	
[3716]	<212> PRT	
[3717]	<213> 人工序列	
[3718]	<220>	
[3719]	<223> 合成的	
[3720]	<400> 342	
[3721]	Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Tyr Thr	
[3722]	1	5
[3723]	<210> 343	
[3724]	<211> 36	
[3725]	<212> DNA	
[3726]	<213> 人工序列	
[3727]	<220>	
[3728]	<223> 合成的	
[3729]	<400> 343	
[3730]	tcgagaggga ggggccctta ctggtccttc gatctc	36
[3731]	<210> 344	
[3732]	<211> 12	
[3733]	<212> PRT	
[3734]	<213> 人工序列	
[3735]	<220>	
[3736]	<223> 合成的	
[3737]	<400> 344	
[3738]	Ser Arg Gly Arg Gly Pro Tyr Trp Ser Phe Asp Leu	
[3739]	1	5 10

H4H8314N-DFO的特征

SDS-PAGE: PD-L1母体与DFO缀合物具有相似的迁移性质。



1. 分子量标记物
2. PD-L1 (L5) 非还原
3. PD-L1-DFO (L19) 非还原
4. 略过
5. PD-L1 (L5) 还原
6. PD-L1-DFO (L19) 还原

2 μ g样品/泳道。
Novex 4-20% Tris-甘氨酸凝胶；
200V, 300 mA, 60min。

SEC: 聚集物<1%。

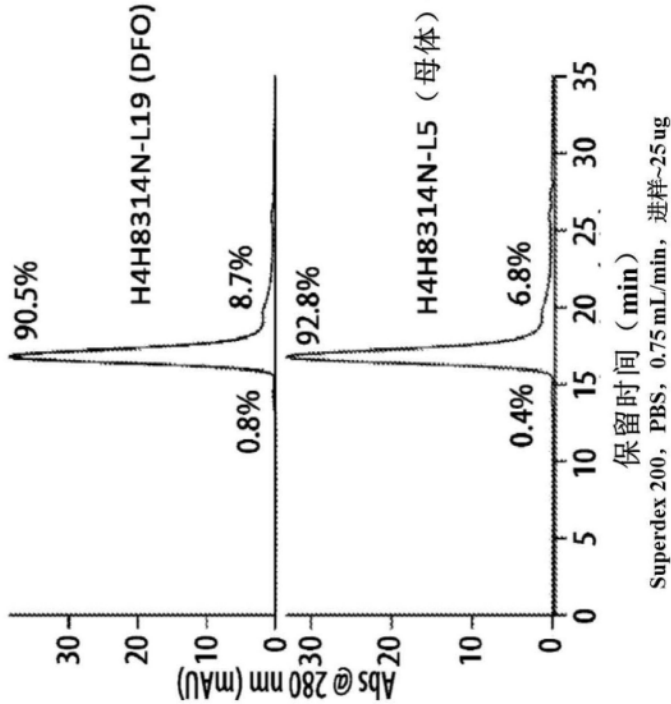


图1

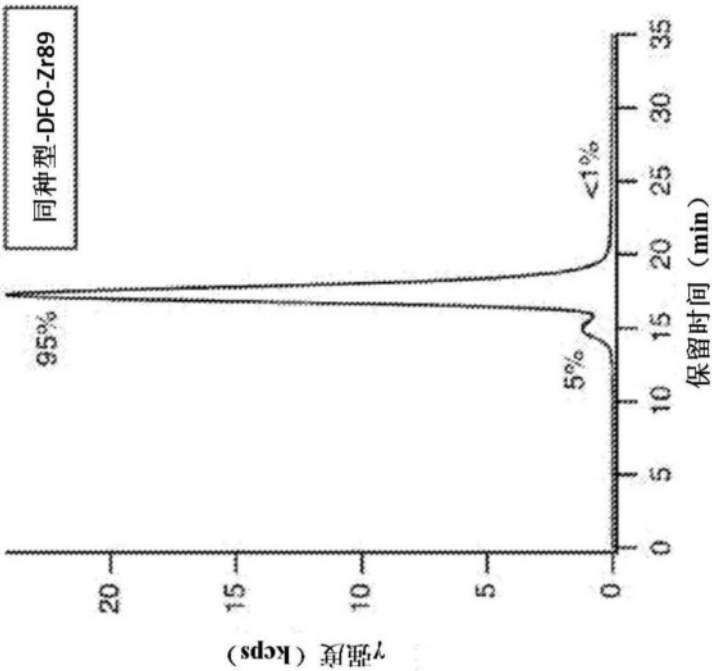


图2A

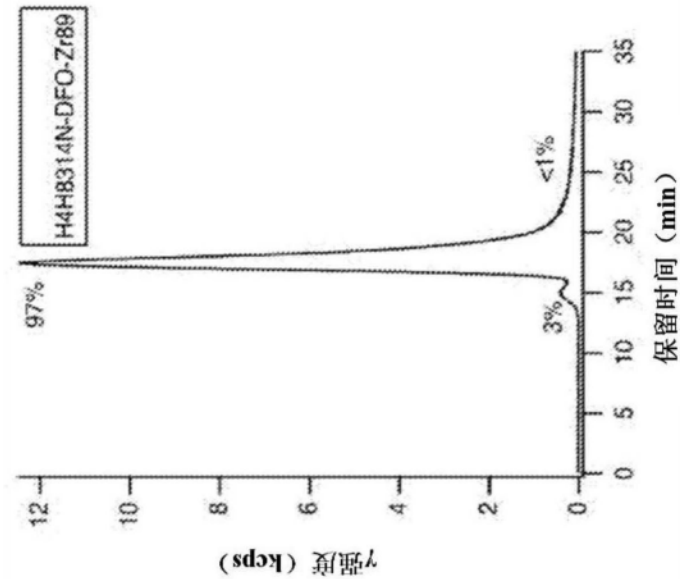


图2B

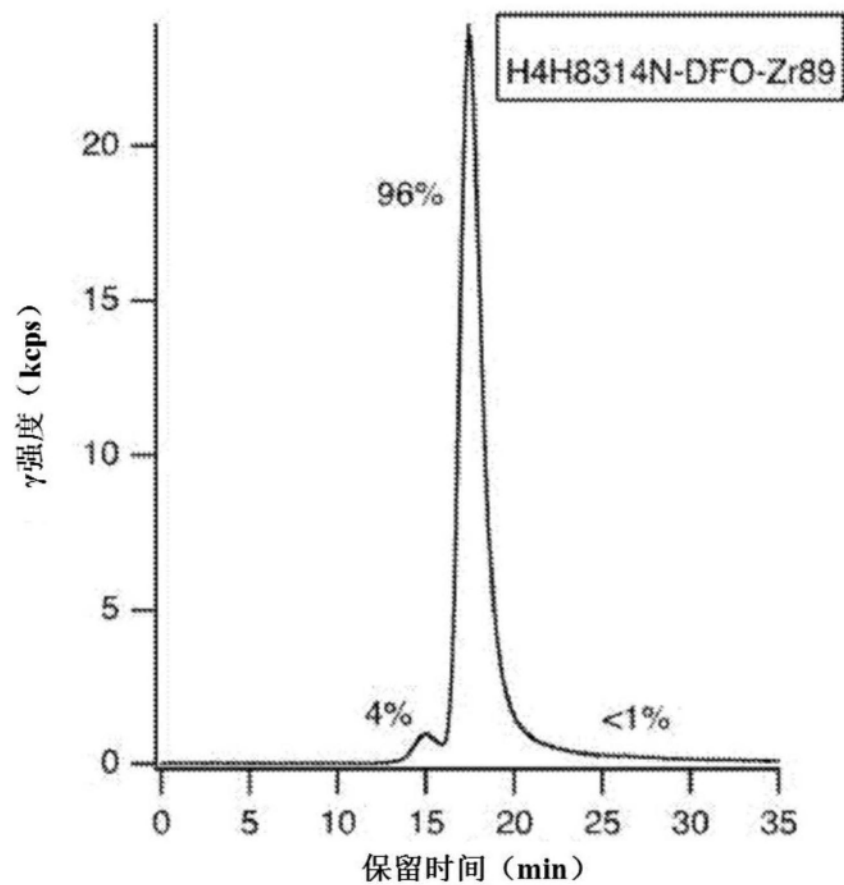


图3

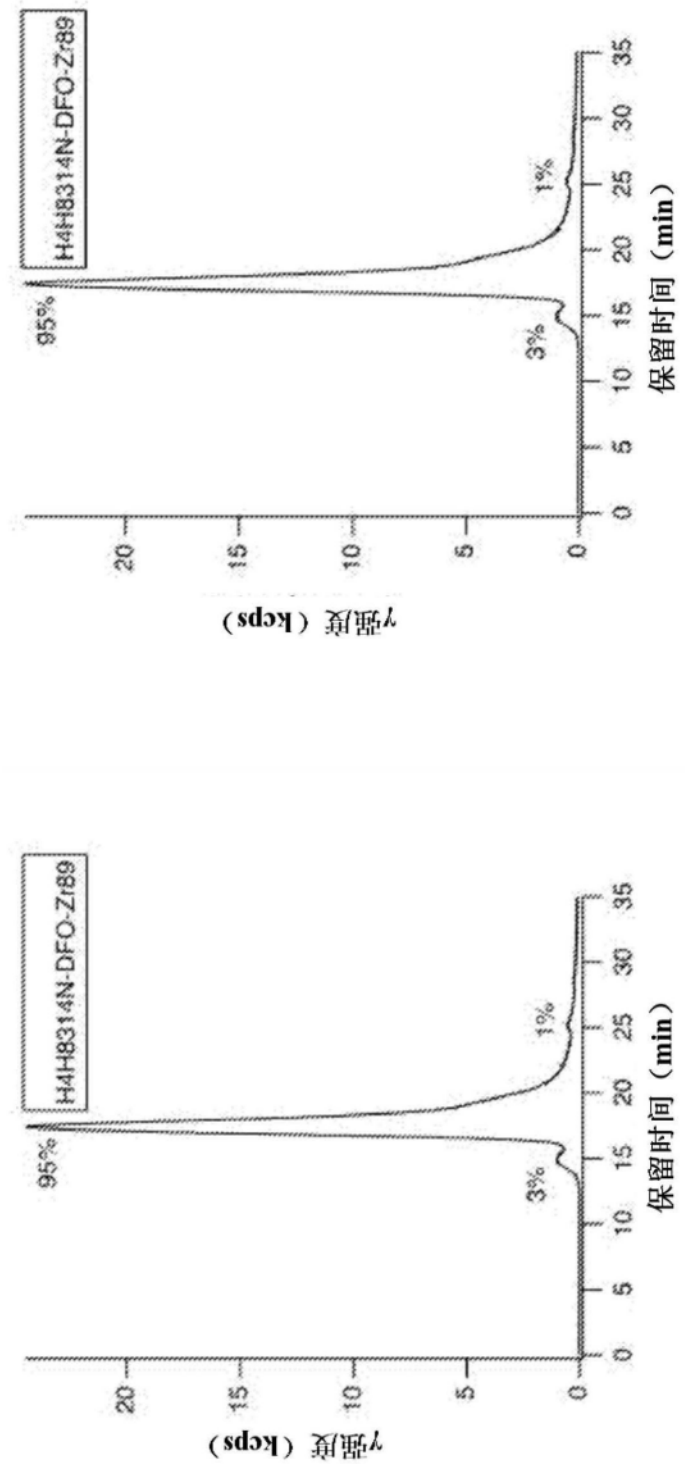


图4

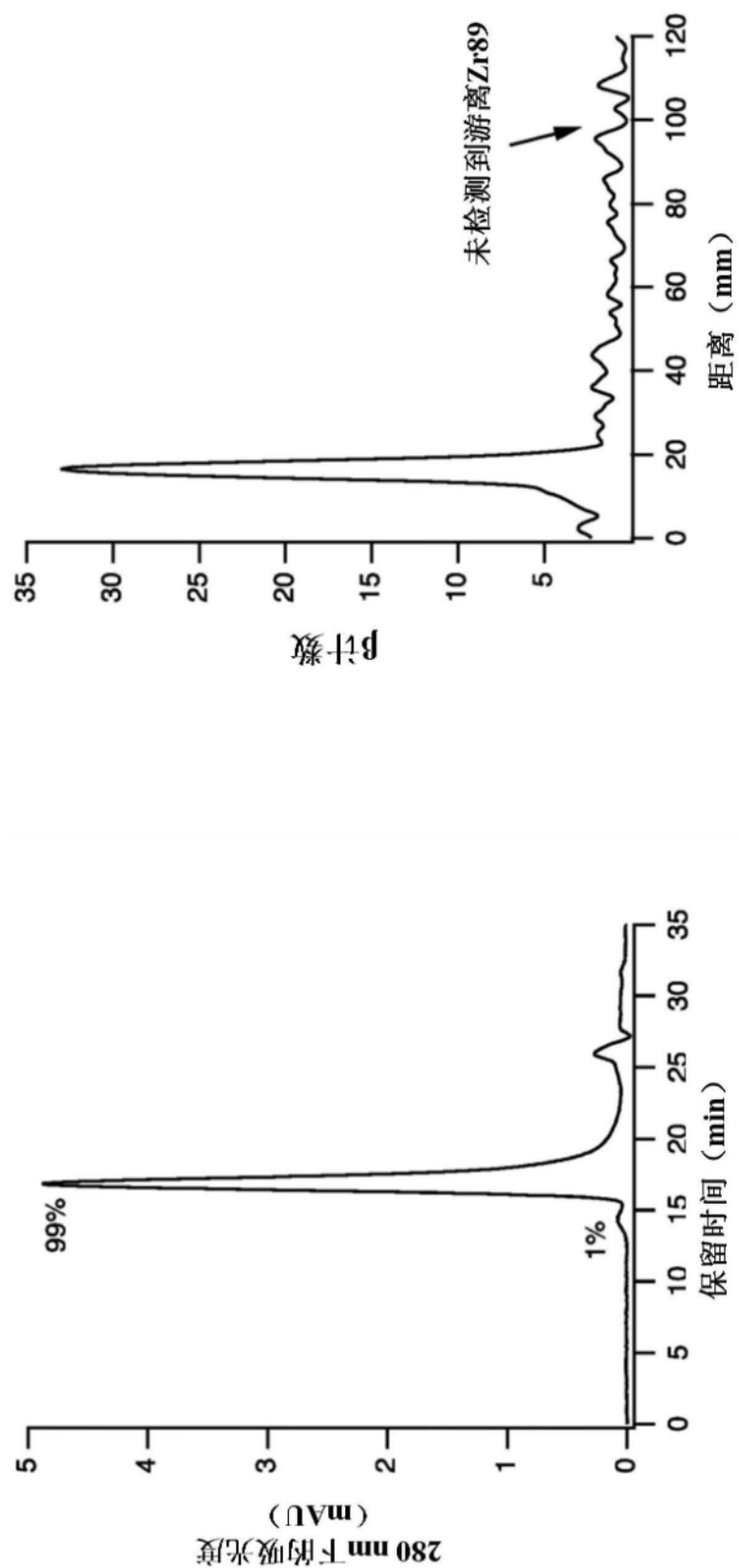


图5

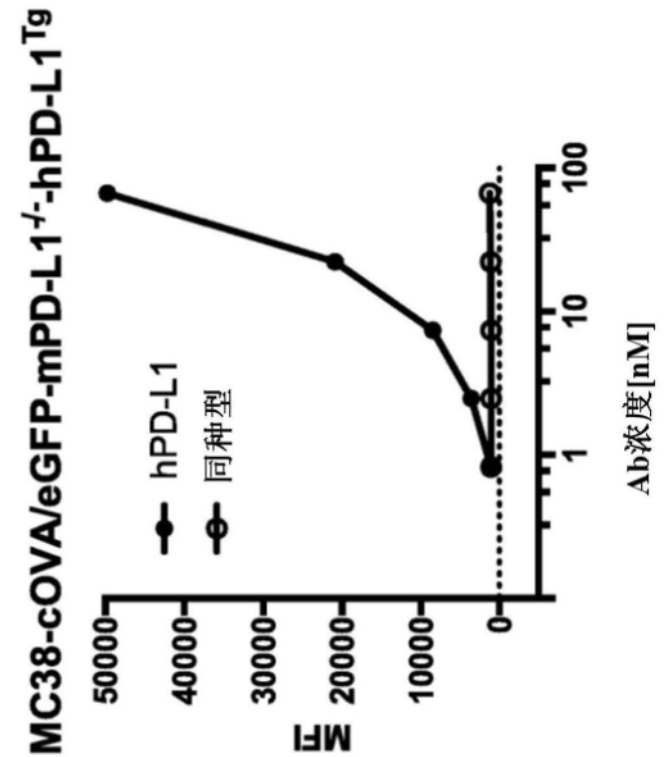


图6A

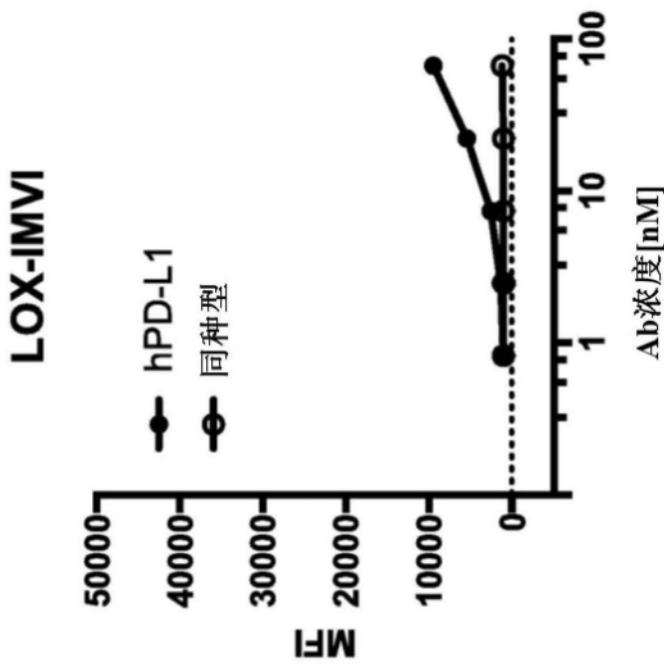


图6B

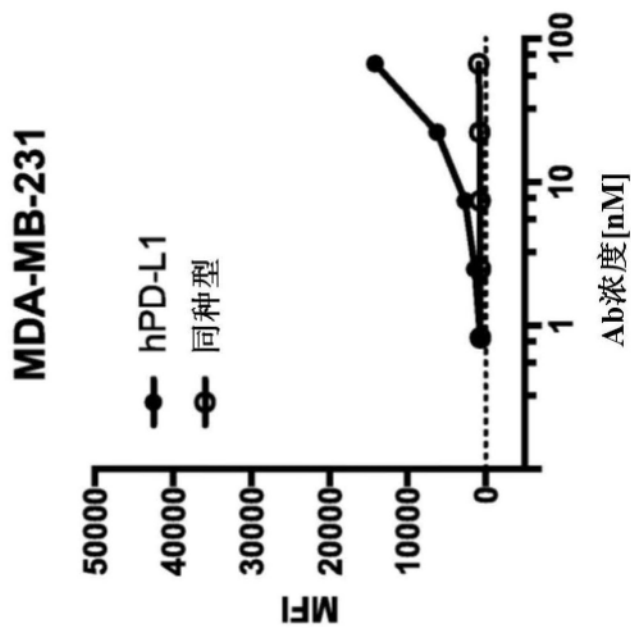


图6C

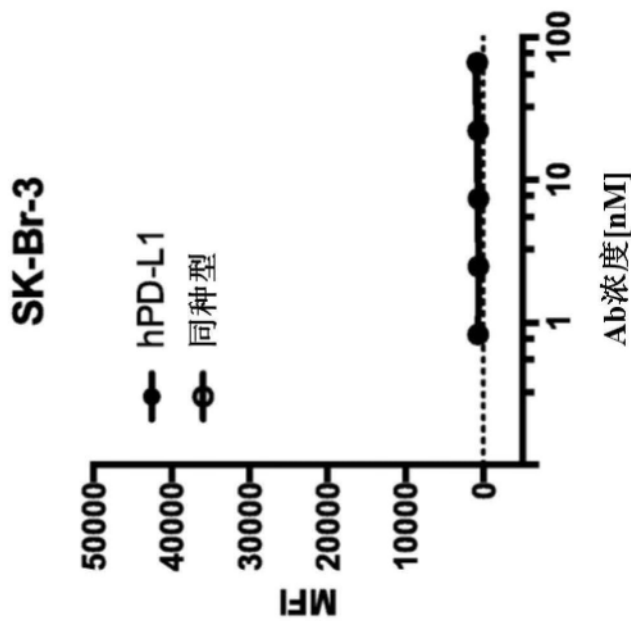


图6D

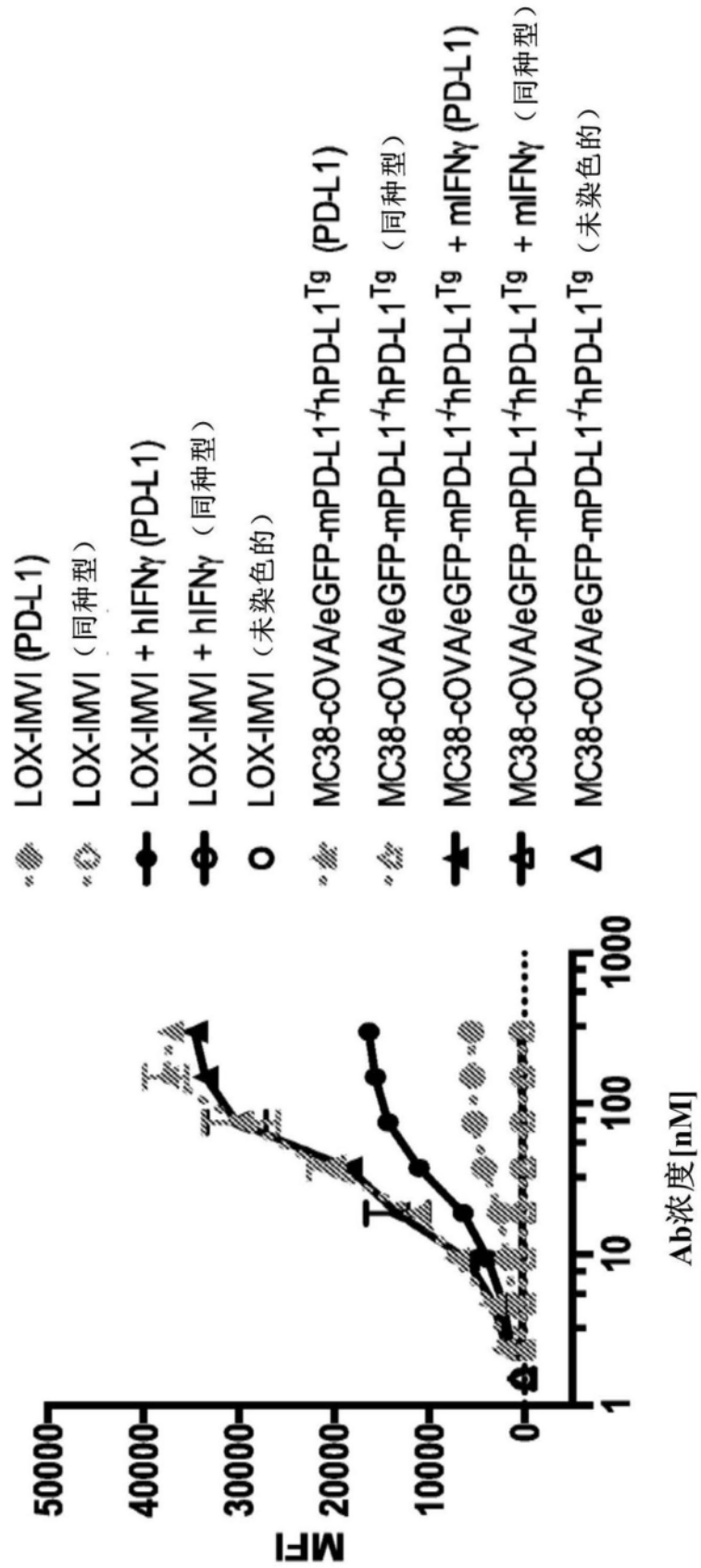


图7

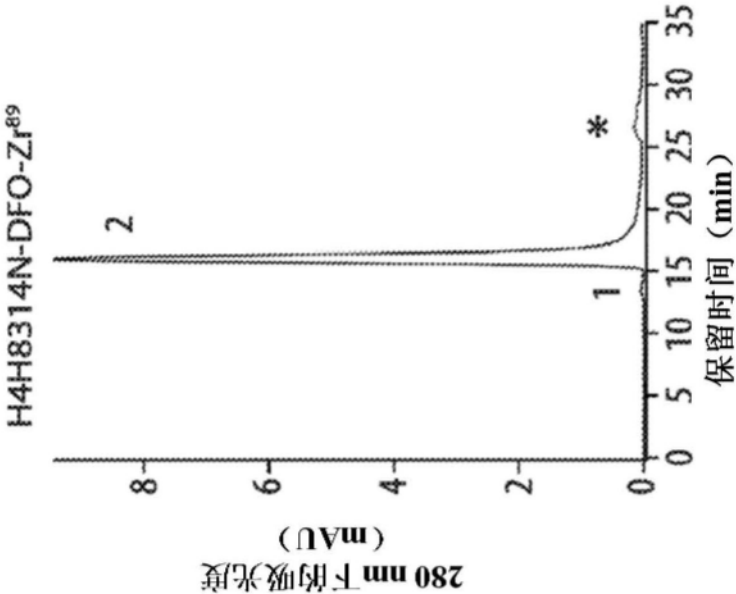


图8A

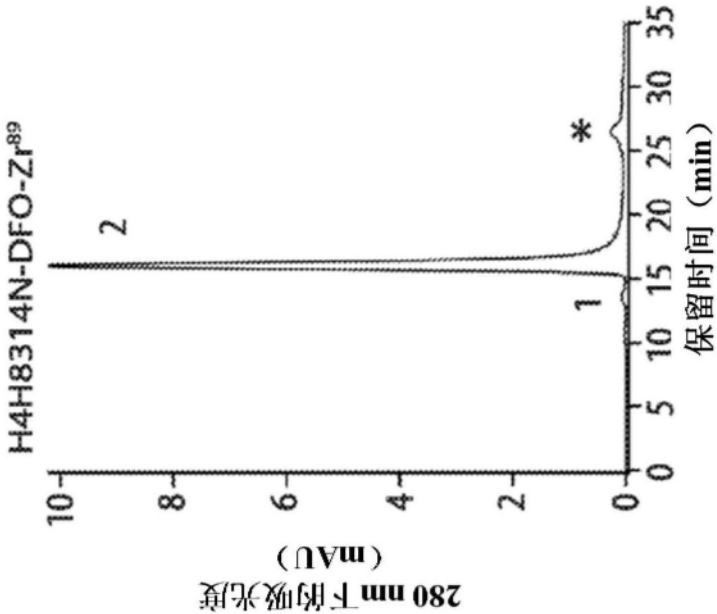


图8B

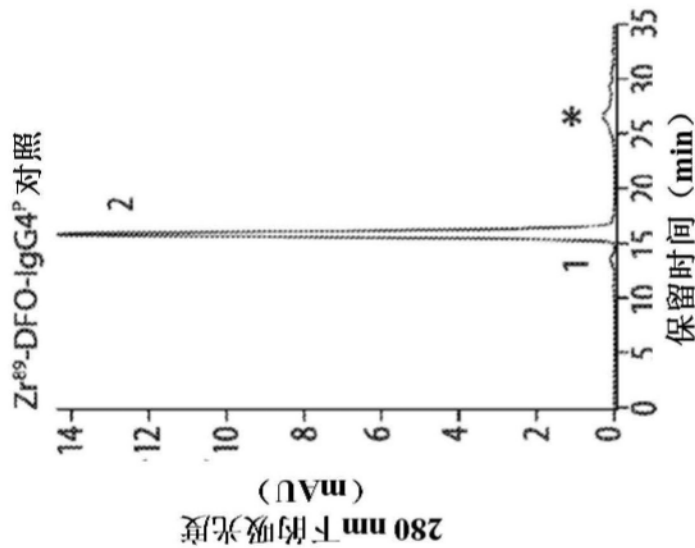


图8C

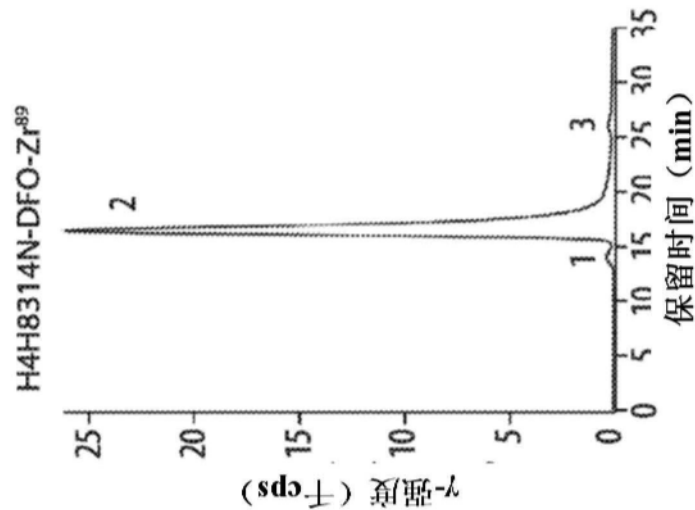


图8D

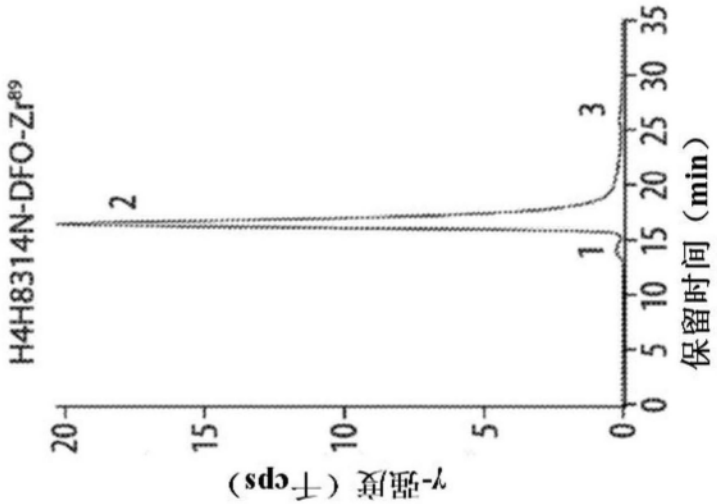


图8E

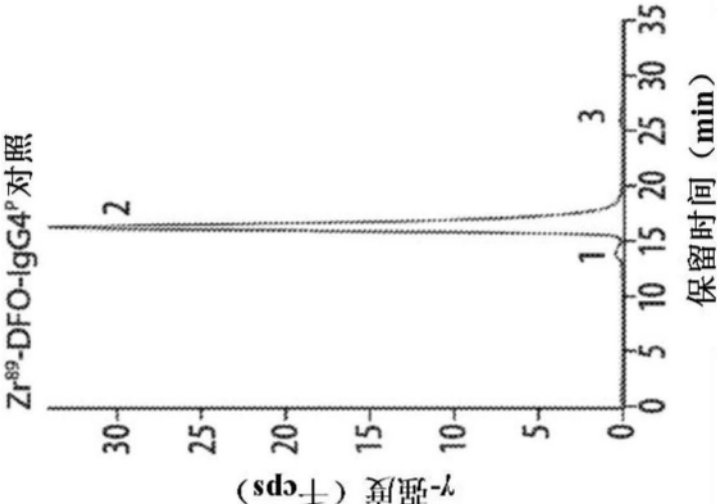


图8F

H4H8314N-DFO-Zr⁸⁹在从PD-1^{hu/hu}PD-L1^{hu/hu}小鼠收集的生物分布

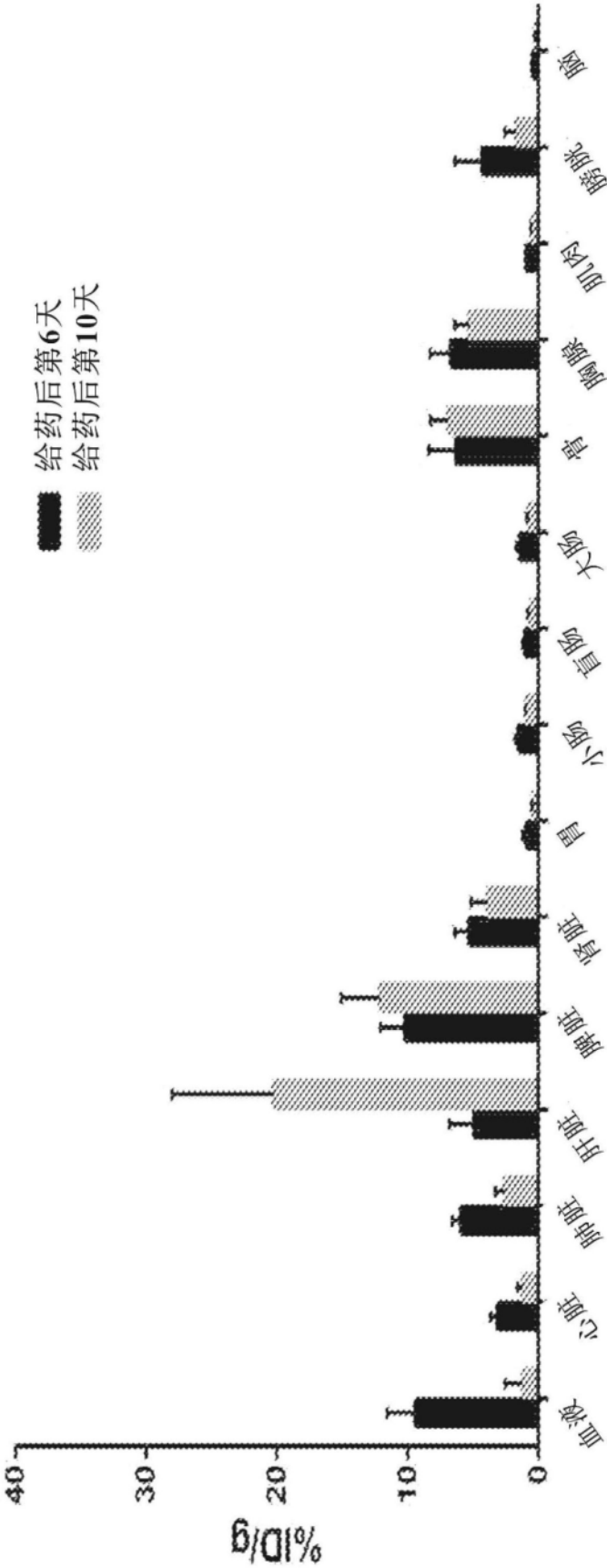


图9