



(10) 授权公告号 CN 112566642 B

(45) 授权公告日 2025. 01. 17

(21) 申请号 201980031623.6

(22) 申请日 2019.03.13

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112566642 A

(43) 申请公布日 2021.03.26

(30) 优先权数据
62/643,141 2018.03.14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.11.10

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/022037 2019.03.13

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/178218 EN 2019.09.19

(73) 专利权人 纪念斯隆凯特琳癌症中心
地址 美国纽约

(72) 发明人 王琳琳 吴志浩 M·阿赫麦德
S·M·切尔 S·M·拉森 张乃刚

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.
A61K 31/7105 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 107759700 A, 2018.03.06
US 2017029526 A1, 2017.02.02
审查员 田颖

(54) 发明名称

抗聚唾液酸抗体及其用途

(57) 摘要

本公开文本总体上涉及可以与聚唾液酸结合并中和其活性的免疫球蛋白相关组合物(例如,抗体或其抗原结合片段)。本技术的抗体可用于在有需要的受试者中检测和治疗聚唾液酸相关癌症的方法。

肿瘤类型	细胞系	RSV	剂量
神经母细胞瘤	IMR32	5	3993
神经母细胞瘤	BE(2)S	5	2550
神经母细胞瘤	NGP	5	1585
小细胞肺癌	HTB-180 NCI-H345	5	1116
神经母细胞瘤	BE(2)C	5	1067
神经母细胞瘤	BE(2)S	6	1055
小细胞肺癌	NCI-H347	5	996
神经母细胞瘤	LS	5	945
神经母细胞瘤	LAN-5	5	879
小细胞肺癌	NCI-N417	5	822
急性骨髓性白血病	M-07E	5	781
神经母细胞瘤	BE(2)M17	5	770
神经母细胞瘤	BE(2)S	6	651
急性骨髓性白血病	MOLM-13	5	644
神经母细胞瘤	66N	5	609
神经母细胞瘤	NB1691	5	449
黑色素瘤	M14 LUC	5	429
小细胞肺癌	NCI-H324	5	408
小细胞肺癌	DMS 79	5	387
神经母细胞瘤	NB5	5	348
神经母细胞瘤	LAN-6	5	339
软骨肉瘤	CH2879	5	314
神经母细胞瘤	6S	5	292
神经母细胞瘤	LAN-1	5	289
急性骨髓性白血病	EOH-1	6	275
小细胞肺癌	NCI-H2106	5	262
小细胞肺癌	NCI-N417	5	244
双表型B髓性骨髓细胞白血病	MV-4-11	5	228
小细胞肺癌	NCI-H328	6	221
小细胞肺癌	NCI-H347	5	151
乳腺癌	JIMT-1	5	132
骨肉瘤	CRL-1472 LUC-GFP	5	120
骨肉瘤	143B	5	129
间皮瘤	ME5C 10	6	89
小细胞肺癌	NCI-H124	5	68
神经母细胞瘤	KCN-R LUC	5	63
小细胞肺癌	DMS 454	5	52
恶性黑色素瘤	CRL-1424 G-361	5	46
恶性黑色素瘤	G-361	5	42
T细胞白血病	CME-11	5	40
小细胞肺癌	NCI-H316	5	38
小细胞肺癌	NCI-H326	5	34
非小细胞肺癌	LX22 CLWT	5	33

1. 一种包含第一重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)和第一轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)的双特异性抗体或其抗原结合片段,其中:

(a) 所述第一 V_H 包含RYYIH(SEQ ID NO:7)的 V_H -CDR1序列、WIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:2)的 V_H -CDR2序列以及GGKFAMDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)的 V_L -CDR 3序列;或

(b) 所述第一 V_H 包含GYIYH(SEQ ID NO:8)的 V_H -CDR1序列、SIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:10)的 V_H -CDR2序列以及GGKFAMDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)的 V_L -CDR 3序列;或

(c) 所述第一 V_H 包含NYIYH(SEQ ID NO:9)的 V_H -CDR1序列、RIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:11)的 V_H -CDR2序列以及GGKFAMDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)的 V_L -CDR 3序列;或

(d) 所述第一 V_H 包含GYIYH(SEQ ID NO:8)的 V_H -CDR1序列、CIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:12)的 V_H -CDR2序列以及GGKFAMDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)的 V_L -CDR 3序列;或

(e) 所述第一 V_H 包含DYYIH(SEQ ID NO:1)的 V_H -CDR1序列、RIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:11)的 V_H -CDR2序列以及GGKFAMDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSN GNTYLY(SEQ ID NO:4)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)的 V_L -CDR 3序列;或

(g) 所述第一 V_H 包含NYIYH(SEQ ID NO:9)的 V_H -CDR1序列、CIYP GSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:12)的 V_H -CDR2序列以及GGKFA MDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSN GNTYLY(SEQ ID NO:4)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)的 V_L -CDR 3序列;或

(h) 所述第一 V_H 包含DYYIH(SEQ ID NO:1)的 V_H -CDR1序列、WIY PGSGNTKYNEKFEG(SEQ ID NO:13)的 V_H -CDR2序列以及GGKFA MDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSN GNTYLY(SEQ ID NO:4)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYI(SEQ ID NO:21)的 V_L -CD R3序列;或

(i) 所述第一 V_H 包含DYYIH(SEQ ID NO:1)的 V_H -CDR1序列、CIYP GSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:12)的 V_H -CDR2序列以及GGKFA MDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSN GNTYLY(SEQ ID NO:4)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)的 V_L -CDR 3序列;或

(j) 所述第一 V_H 包含DYYIH(SEQ ID NO:1)的 V_H -CDR1序列、WIYP GSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:2)的 V_H -CDR2序列以及GGKFAM DY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3,且所述第一 V_L 包含RSSQLVHSN GNTYLY(SEQ ID NO:20)的 V_L -CDR1序列、RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)的 V_L -CDR 3序列;或

(k) 所述第一 V_H 包含DYYIH(SEQ ID NO:1)的 V_H -CDR1序列、WIY PGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID

NO:2)的V_H-CDR2序列以及GGKFA MDY (SEQ ID NO:3)的V_H-CDR3,且所述第一V_L包含RSSQSLVHSN GNTYLY (SEQ ID NO:4)的V_L-CDR1序列、RVSNRFS (SEQ ID NO:5)的V_L-CDR2序列以及FQGTHEPYT (SEQ ID NO:22)的V_L-CDR3序列;或

(l)所述第一V_H包含RYYIH (SEQ ID NO:7)的V_H-CDR1序列、RIYP GSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO:11)的V_H-CDR2序列以及GGKFA MDY (SEQ ID NO:3)的V_H-CDR3,且所述第一V_L包含RSSQSLVHSN GNTYLY (SEQ ID NO:4)的V_L-CDR1序列、RVSNRFS (SEQ ID NO:5)的V_L-CDR2序列以及FQGTHVPYT (SEQ ID NO:6)的V_L-CDR3序列;或

(m)所述第一V_H包含DYYIH (SEQ ID NO:1)的V_H-CDR1序列、WI YPGSGNTKYNQKFQG (SEQ ID NO:14)的V_H-CDR2序列以及GGKF AMDY (SEQ ID NO:3)的V_H-CDR3,且所述第一V_L包含RSSQSLVHS NGNTYLY (SEQ ID NO:4)的V_L-CDR1序列、RVSNRFS (SEQ ID NO:5)的V_L-CDR2序列以及FQGTHVPYT (SEQ ID NO:6)的V_L-CDR3序列;或

(n)所述第一V_H包含DYYIH (SEQ ID NO:1)的V_H-CDR1序列、WIY PGSGNTKYSQKFQG (SEQ ID NO:15)的V_H-CDR2序列以及GGKFA MDY (SEQ ID NO:3)的V_H-CDR3,且所述第一V_L包含RSSQSLVHSN GNTYLY (SEQ ID NO:4)的V_L-CDR1序列、RVSNRFS (SEQ ID NO:5)的V_L-CDR2序列以及FQGTHVPYT (SEQ ID NO:6)的V_L-CDR3序列;或

(o)所述第一V_H包含DYYIH (SEQ ID NO:1)的V_H-CDR1序列、WIY PGSGNTKYSEKFQG (SEQ ID NO:16)的V_H-CDR2序列以及GGKFA MDY (SEQ ID NO:3)的V_H-CDR3,且所述第一V_L包含RSSQSLVHSN GNTYLY (SEQ ID NO:4)的V_L-CDR1序列、RVSNRFS (SEQ ID NO:5)的V_L-CDR2序列以及FQGTHVPYT (SEQ ID NO:6)的V_L-CDR3序列;或

(p)所述第一V_H包含DYYIH (SEQ ID NO:1)的V_H-CDR1序列、WIY PGSGNTKYSQKFKG (SEQ ID NO:18)的V_H-CDR2序列以及GGKFA MDY (SEQ ID NO:3)的V_H-CDR3,且所述第一V_L包含RSSQSLVHSN GNTYLY (SEQ ID NO:4)的V_L-CDR1序列、RVSNRFS (SEQ ID NO:5)的V_L-CDR2序列以及FQGTHVPYT (SEQ ID NO:6)的V_L-CDR3序列,

其中所述双特异性抗体或抗原结合片段与具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)和(i)CD3或(ii)小分子DOTA半抗原结合。

2.根据权利要求1所述的双特异性抗体或抗原结合片段,其进一步包含选自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgD和IgE的同种型的Fc结构域。

3.根据权利要求2所述的双特异性抗体,其包含含有选自N297A和K322A的一个或多个氨基酸取代的IgG1恒定区。

4.根据权利要求2所述的双特异性抗体,其包含含有S228P突变的IgG4恒定区。

5.根据权利要求1所述的双特异性抗原结合片段,其中所述抗原结合片段选自Fab、F(ab')₂、Fab'、scF_v和F_v。

6.一种双特异性抗体,其包含分别选自以下的重链(HC)氨基酸序列和轻链(LC)氨基酸序列:

- a) SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:84(重人源化P35H8L3);
- b) SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:28(人源化P35 H1L2);
- c) SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:27(人源化P35 H1L1);
- d) SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:28(人源化P35 H2L2);
- e) SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27(人源化P35 H2L1);

f) SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:82(重人源化P35H1L1);
g) SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:82(重人源化P35H2L1);
h) SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:82(重人源化P35H3L1);
i) SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:82(重人源化P35H4L1);
j) SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:82(重人源化P35H5L1);
k) SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:82(重人源化P35H6L1);
l) SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:82(重人源化P35H7L1);
m) SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:82(重人源化P35H8L1);
n) SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:83(重人源化P35H1L2);
o) SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:83(重人源化P35H2L2);
p) SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:83(重人源化P35H3L2);
q) SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:83(重人源化P35H4L2);
r) SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:83(重人源化P35H5L2);
s) SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:83(重人源化P35H6L2);
t) SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:83(重人源化P35H7L2);
u) SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:83(重人源化P35H8L2);
v) SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:84(重人源化P35H1L3);
w) SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:84(重人源化P35H2L3);
x) SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:84(重人源化P35H3L3);
y) SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:84(重人源化P35H4L3);
z) SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:84(重人源化P35H5L3);
aa) SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:84(重人源化P35H6L3);和
bb) SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:84(重人源化P35H7L3),

其中所述双特异性抗体或抗原结合片段与具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)和(i)CD3或(ii)小分子DOTA半抗原结合。

7.一种双特异性抗体,其包含分别选自以下的重链(HC)氨基酸序列和轻链(LC)氨基酸序列:

SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:49(BC137);
SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:52(BC137 KS2);
SEQ ID NO:53和SEQ ID NO:54(BC137 KS34);
SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:49(BC137 DS47);
SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:49(BC137 DS54);
SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:49(BC137 DS47 D31R);
SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:49(BC137 DS54 D31R);
SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:50(BC137-2 DS47);
SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:50(BC137-2 DS54);
SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60(BC163)、

其中所述抗体或抗原结合片段与具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)和(i)CD3或(ii)小分子DOTA半抗原结合结合。

8. 根据权利要求6-7中任一项所述的双特异性抗体,其中所述抗体与包含至少三个连续的唾液酸残基的高DP的表位结合。

9. 一种编码根据权利要求6-8中任一项所述的双特异性抗体的重组核酸分子。

10. 根据权利要求9所述的重组核酸分子,其包含分别选自以下的重链核酸序列和轻链核酸序列:

SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:94;

SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:95;

SEQ ID NO:93和SEQ ID NO:94;

SEQ ID NO:93和SEQ ID NO:95;

SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97;

SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:98;

SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100;

SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102;

SEQ ID NO:103和SEQ ID NO:97;

SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:97;

SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:97;

SEQ ID NO:103和SEQ ID NO:98;

SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:98

SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:97;

SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:98;和

SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108。

11. 一种包含根据权利要求9或权利要求10所述的重组核酸分子的宿主细胞或载体。

12. 一种组合物,其包含根据权利要求1-8中任一项所述的双特异性抗体或抗原结合片段和药学上可接受的载体。

13. 根据权利要求12所述的组合物,其中所述抗体与选自以下的药剂缀合:同位素、染料、色原、造影剂、药物、放射性核素、金属、脂质体、纳米颗粒或其任何组合。

14. 根据权利要求13所述的组合物,其中所述药物包含毒素、细胞因子、酶、酶抑制剂、激素、激素拮抗剂、生长因子、RNA或DNA。

15. 根据权利要求1-4或6-8中任一项所述的双特异性抗体,其中所述抗体缺乏 α -1,6-岩藻糖修饰。

16. 根据权利要求1-8中任一项所述的双特异性抗体,其中所述双特异性抗体与T细胞结合。

17. 一种包含HC氨基酸序列和LC氨基酸序列的抗体在制造在有此需要的受试者中治疗表达高DP聚唾液酸(聚Sia)的癌症的药物中的用途,所述HC氨基酸序列和所述LC氨基酸序列各自分别包含选自以下的序列:

SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:49(BC137);

SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:52(BC137 KS2);

SEQ ID NO:53和SEQ ID NO:54(BC137 KS34);

SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:49(BC137 DS47);

SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:49 (BC137 DS54) ;
SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:49 (BC137 DS47 D31R) ;
SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:49 (BC137 DS54 D31R) ;
SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:50 (BC137-2 DS47) ;
SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:50 (BC137-2 DS54) ;
SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60 (BC163) ;

其中所述抗体与具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)结合。

18. 根据权利要求17所述的用途,其中所述表达高DP聚Sia的癌症是小细胞或非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、胰腺癌、垂体瘤、维尔姆斯瘤、横纹肌肉瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌或急性骨髓性白血病。

19. 根据权利要求17或18所述的用途,其中将所述抗体与另外的治疗剂分开地、顺序地或同时配制以给予至所述受试者。

20. 根据权利要求19所述的用途,其中所述另外的治疗剂是以下中的一种或多种:烷基化剂、铂剂、紫杉烷、长春花剂、抗雌激素药物、芳香酶抑制剂、卵巢抑制剂、VEGF/VEGFR抑制剂、EGF/EGFR抑制剂、PARP抑制剂、抑制细胞的生物碱、细胞毒性抗生素、抗代谢物、内分泌/激素剂、二膦酸盐治疗剂。

21. 根据权利要求6-8中任一项所述的双特异性抗体在制造用于在体内检测受试者中的肿瘤的试剂盒中的用途,

其中所述抗体被配置为定位于表达具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)的肿瘤,并且用放射性同位素标记。

22. 根据权利要求21所述的用途,其中所述受试者被诊断患有或怀疑患有癌症。

23. 根据权利要求21或22所述的用途,其中使用正电子发射断层摄影术或单光子发射计算机断层摄影术检测由所述抗体发射的放射性水平。

24. 根据权利要求21-23中任一项所述的用途,所述用途进一步包括免疫缀合物的给予,所述免疫缀合物包含与放射性核素缀合的根据权利要求8-15中任一项所述的抗体。

25. 根据权利要求24所述的用途,其中所述放射性核素是发射 α 粒子的同位素、发射 β 粒子的同位素、俄歇发射体或其任何组合。

26. 根据权利要求25所述的用途,其中所述发射 β 粒子的同位素选自 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Sr 、 ^{165}Dy 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{177}Lu 和 ^{67}Cu 。

27. 一种试剂盒,所述试剂盒包含根据权利要求1-8中任一项所述的双特异性抗体和使用说明书。

28. 根据权利要求27所述的试剂盒,其中所述抗体与选自放射性标记、荧光标记和发色标记的至少一种可检测标记偶联。

29. 根据权利要求27或28所述的试剂盒,其还包含与所述抗体特异性结合的二抗。

30. 一种包含权利要求7所述的双特异性抗体与放射性标记的DOTA半抗原的复合物,其中所述双特异性抗体与所述放射性标记的DOTA半抗原和高DP聚Sia结合。

31. 权利要求30所述的复合物在制造用于在有此需要的受试者中检测实体肿瘤的方法中使用的试剂盒中的用途,所述方法包括

(a) 向所述受试者给予有效量的所述复合物,其中所述复合物被配置为定位于表达高

DP聚Sia的实体肿瘤;并且

(b) 通过检测由所述复合物发射的高于参考值的放射性水平来检测所述受试者中实体肿瘤的存在。

32. 根据权利要求30所述的复合物在制造用于选择受试者进行预靶向放射免疫疗法的方法中使用的试剂盒中的用途,其中所述方法包括

(a) 向所述受试者给予有效量的所述复合物其中所述复合物被配置为定位于表达高DP聚Sia的实体肿瘤;

(b) 检测由所述复合物发射的放射性水平;并且

(c) 当由所述复合物发射的放射性水平高于参考值时,选择所述受试者进行预靶向放射免疫疗法。

33. 权利要求30所述的复合物在制造用于在被诊断为表达高DP聚Sia的癌症的受试者中增加肿瘤对放射疗法的敏感性的方法中使用的试剂盒中的用途,其中所述方法包括向所述受试者给予有效量的权利要求32所述的复合物,其中所述复合物被配置为定位于表达高DP聚Sia的肿瘤。

34. 权利要求30所述的复合物在制造用于在有此需要的受试者中治疗表达高DP聚Sia的癌症的方法中使用的试剂盒中的用途,其中所述方法包括向所述受试者给予有效量的所述复合物,其中所述复合物被配置为定位于表达高DP聚Sia的肿瘤。

35. 权利要求7所述的双特异性抗体与放射性标记的DOTA半抗原在制造用于在被诊断为表达高DP聚Sia的癌症的受试者中增加肿瘤对放射疗法的敏感性的方法中使用的试剂盒中的用途,其中所述方法包括

(a) 给予有效量的所述双特异性抗体,其中所述双特异性抗体被配置为定位于表达高DP聚Sia的肿瘤;并且

(b) 向所述受试者给予有效量的所述放射性标记的DOTA半抗原,其中所述放射性标记的DOTA半抗原被配置为结合所述双特异性抗体。

36. 权利要求7所述的双特异性抗体与放射性标记的DOTA半抗原在制造用于在有此需要的受试者中治疗表达高DP聚Sia的癌症的方法中使用的试剂盒中的用途,其中所述方法包括

(a) 给予有效量的所述双特异性抗体,其中所述双特异性抗体被配置为定位于表达高DP聚Sia的肿瘤;并且

(b) 向所述受试者给予有效量的所述放射性标记的DOTA半抗原,其中所述放射性标记的DOTA半抗原被配置为结合所述双特异性抗体。

37. 根据权利要求35或36所述的用途,其中所述方法进一步包括在给予所述放射性标记的DOTA半抗原之前,向所述受试者给予有效量的清除剂。

38. 根据权利要求31-37中任一项所述的用途,其中所述受试者是人。

39. 根据权利要求31-34中任一项所述的用途,其中将所述复合物通过静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、脑室内、口服或鼻内给予。

40. 根据权利要求31-39中任一项所述的用途,其中所述放射性标记的DOTA半抗原包含发射 α 粒子的同位素、发射 β 粒子的同位素或俄歇发射体。

41. 根据权利要求31-40中任一项所述的用途,其中所述放射性标记的DOTA半抗原包

含²¹³Bi、²¹¹At、²²⁵Ac、¹⁵²Dy、²¹²Bi、²²³Ra、²¹⁹Rn、²¹⁵Po、²¹¹Bi、²²¹Fr、²¹⁷At、²⁵⁵Fm、⁸⁶Y、⁹⁰Y、⁸⁹Sr、¹⁶⁵Dy、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁷⁷Lu、⁶⁷Cu、¹¹¹In、⁶⁷Ga、⁵¹Cr、⁵⁸Co、^{99m}Tc、^{103m}Rh、^{195m}Pt、¹¹⁹Sb、¹⁶¹Ho、^{189m}Os、¹⁹²Ir、²⁰¹Tl、²⁰³Pb、⁶⁸Ga、²²⁷Th或⁶⁴Cu。

42. 根据权利要求1-8中任一项所述的抗体或抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段募集T细胞以用于针对表达聚Sia的肿瘤细胞的T细胞依赖性细胞介导的细胞毒性(TDCC)。

43. 根据权利要求42所述的抗体或抗原结合片段, 其中所述表达聚Sia的肿瘤细胞对聚Sia特异性抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)具有抗性。

抗聚唾液酸抗体及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年3月14日提交的美国临时专利申请号62/643,141的权益和优先权,将其内容通过引用以其全文并入本文。

技术领域

[0003] 本技术总体上涉及特异性地结合聚唾液酸的免疫球蛋白相关组合物(例如,抗体或其抗原结合片段)的制备以及所述免疫球蛋白相关组合物的用途。具体地,本技术涉及聚唾液酸中和抗体的制备以及所述抗体在检测和治疗聚唾液酸相关癌症中的用途。

背景技术

[0004] 下文提供对本技术背景的说明仅仅是为了帮助理解本技术,并且不承认所述说明描述或构成针对本技术的现有技术。

[0005] 长期以来,异常糖基化一直被认为是癌症的标志(Hakomori, S. (1994) Prog Brain Res 101, 241-250)。肿瘤相关碳水化合物抗原已被证明与肿瘤的增殖、入侵、血管生成、转移和免疫相关。具体而言,唾液酸(也称为N-乙酰神经氨酸)是碳水化合物单元,所述碳水化合物单元已经显示出特别的相关性并且包含在几种癌症相关糖脂中,所述癌症相关糖脂包括神经节苷脂GD2、GD3、GM1、GM2和GM3(Daniotti, J.L., 等人(2013) Front Oncol 3, 306)。

发明内容

[0006] 在一方面,本公开文本提供了包含重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)和轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)的抗体或其抗原结合片段,其中(a)所述 V_H 包含选自DYYIH(SEQ ID NO:1)、RYYIH(SEQ ID NO:7)、GYIH(SEQ ID NO:8)和NYIH(SEQ ID NO:9)的 V_H -CDR1序列,选自WIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:2)、SIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:10)、RIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:11)、CIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:12)、WIYPGSGNTKYNEKFEG(SEQ ID NO:13)、WIYPGSGNTKYNQKFQG(SEQ ID NO:14)、WIYPGSGNTKYSQKFQG(SEQ ID NO:15)、WIYPGSGNTKYSEKFQG(SEQ ID NO:16)和WIYPGSGNTKYSQKFKG(SEQ ID NO:18)的 V_H -CDR2序列以及GGKFAMDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3序列;和/或(b)所述 V_L 包含选自RSSQSLVHSNGNTYLY(SEQ ID NO:4)和RSSQSLVHSNGKTYLY(SEQ ID NO:20)的 V_L -CDR1序列,RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及选自FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)、FQGTHVPYI(SEQ ID NO:21)和FQGTPEPYT(SEQ ID NO:22)的 V_L -CDR3序列。

[0007] 在一些实施方案中,本公开文本提供了包含重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)和轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)的抗体或其抗原结合片段,其中(a) V_H 包含SEQ ID NO:1的 V_H -CDR1序列、SEQ ID NO:2的 V_H -CDR2序列、SEQ ID NO:3的 V_H -CDR3序列;和/或(b) V_L 包含选自以下的 V_L -CDR1序列、 V_L -CDR2序列和 V_L -CDR3序列:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:22。

[0008] 在一些实施方案中,本公开文本提供了包含轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)和重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)的抗体或其抗原结合片段,其中(a) V_L 包含SEQ ID NO:4的 V_L -CDR1序列、SEQ ID NO:5的 V_L -CDR2序列、SEQ ID NO:6的 V_L -CDR3序列;和/或(b) V_H 包含选自以下的 V_H -CDR1序列、 V_H -CDR2序列和 V_H -CDR3序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3;以及SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:3。

[0009] 在一些实施方案中,本公开文本提供了包含重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)和轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)的抗体或其抗原结合片段,其中 V_H 包含 V_H -CDR1序列、 V_H -CDR2序列和 V_H -CDR3序列,并且 V_L 包含 V_L -CDR1序列、 V_L -CDR2序列和 V_L -CDR3序列,这些序列选自以下:a)分别为SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6;b)分别为SEQ ID NO:1、2、3、4、5和22;c)分别为SEQ ID NO:1、2、3、20、5和6;d)分别为SEQ ID NO:1、11、3、4、5和6;e)分别为SEQ ID NO:1、12、3、4、5和6;f)分别为SEQ ID NO:1、13、3、4、5和6;g)分别为SEQ ID NO:1、13、3、4、5和21;h)分别为SEQ ID NO:7、2、3、4、5和6;i)分别为7、11、3、4、5和6;j)分别为SEQ ID NO:8、10、3、4、5和6;k)分别为8、12、3、4、5和6;l)分别为SEQ ID NO:9、11、3、4、5和6;以及m)分别为SEQ ID NO:9、12、3、4、5和6。

[0010] 所述抗体可以进一步包含选自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgD和IgE的同种型的Fc结构域。在一些实施方案中,所述抗体包含含有选自N297A和K322A的一个或多个氨基酸取代的IgG1恒定区。另外地或可替代地,在一些实施方案中,所述抗体包含含有S228P突变的IgG4恒定区。在某些实施方案中,所述抗原结合片段选自Fab、F(ab')₂、Fab'、scFv和Fv。在一些实施方案中,所述抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体或双特异性抗体。在某些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段与具有高聚合度的聚Sia(高DP聚Sia)(例如约10-20个Sia单元、约20-30个Sia单元、约30-50个Sia单元、约50-70个Sia单元、约70-100个Sia单元、约100-200个Sia单元或约200-400个Sia单元的DP)结合。在一些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段与例如具有DP>10、DP>20、DP>50、DP>100或DP>200的高DP聚Sia结合。在一些实施方案中,所述表位是高DP聚Sia特有的构象表位。在一些实施方案中,所述构象表位包括3个或更多个Sia单元。在一些实施方案中,所述3个或更多个Sia单元可以是连续的单元。在一些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段与具有DP>10的聚Sia结合,并且对渐增的DP具有更高的亲和力。不希望受理论的束缚,假设基于mAb735 scFv的共晶体结构,本文公开的抗体或抗原结合片段以两个Fab臂与单个高DP聚Sia协同结合,所述共晶体结构显示两个scFv与一个八唾液酸结合,其中每个scFv与8个Sia单元中的3个接触(Nagae, M.等人J Biol Chem.288(47):33784-96(2013))。

[0011] 在另一方面,本公开文本提供了一种抗体,其包含含有SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:74、SEQ ID

NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81的重链(HC)氨基酸序列或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体,和/或含有SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84的轻链(LC)氨基酸序列或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体。

[0012] 在某些实施方案中,所述抗体包含分别选自以下的HC氨基酸序列和LC氨基酸序列:SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24(嵌合P35);SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:28(人源化P35 H1L2);SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:27(人源化P35 H1L1);SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:28(人源化P35 H2L2);SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27(人源化P35 H2L1);SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:49(BC137);SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:52(BC137 KS2);SEQ ID NO:53和SEQ ID NO:54(BC137 KS34);SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:49(BC137 DS47);SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:49(BC137 DS54);SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:49(BC137DS47 D31R);SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:49(BC137 DS54 D31R);SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:50(BC137-2 DS47);SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:50(BC137-2 DS54);SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60(BC163);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:82(重人源化P35H1L1);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:82(重人源化P35H2L1);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:82(重人源化P35H3L1);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:82(重人源化P35H4L1);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:82(重人源化P35H5L1);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:82(重人源化P35H6L1);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:82(重人源化P35H7L1);SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:82(重人源化P35H8L1);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:83(重人源化P35H1L2);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:83(重人源化P35H2L2);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:83(重人源化P35H3L2);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:83(重人源化P35H4L2);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:83(重人源化P35H5L2);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:83(重人源化P35H6L2);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:83(重人源化P35H7L2);SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:83(重人源化P35H8L2);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:84(重人源化P35H1L3);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:84(重人源化P35H2L3);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:84(重人源化P35H3L3);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:84(重人源化P35H4L3);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:84(重人源化P35H5L3);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:84(重人源化P35H6L3);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:84(重人源化P35H7L3);和SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:84(重人源化P35H8L3)。

[0013] 在一个方面,本公开文本提供了一种抗体,所述抗体包含(a)与SEQ ID NO:37、39、41、43、44、45、47、24、27、28、49、50、52、54、60、82、83或84中任何一个中存在的轻链免疫球蛋白可变结构域序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%相同的轻链免疫球蛋白可变结构域序列;和/或(b)与SEQ ID NO:30、31、32、33、34、35、36、38、40、42、46、23、25、26、29、48、51、53、55、56、57、58、59、74、75、76、77、78、79、80或81中任何一个中存在的重链免疫球蛋白可变结构域序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%相同的重链免疫球蛋白可变结构域序列。

[0014] 在另一个方面,本公开文本提供了一种抗体,所述抗体包含(a)与SEQ ID NO:24、27、28、49、50、52、54、60、82、83或84中任何一个中存在的LC序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%相同的LC序列;和/或(b)与SEQ ID NO:23、25、26、29、48、51、53、55、56、57、58、59、74、75、76、77、78、79、80或81中任何一个中存在的HC序列至少80%、至少

85%、至少90%、至少95%或至少99%相同的HC序列。

[0015] 在上述实施方案中的任何一个中,所述抗体是嵌合抗体、人源化抗体或双特异性抗体。另外地或可替代地,在一些实施方案中,所述抗体包含含有选自N297A和K322A的一个或多个氨基酸取代的IgG1恒定区。在某些实施方案中,本技术的抗体包含含有S228P突变的IgG4恒定区。在上述实施方案中的任何一个中,所述抗体与高DP聚Sia(例如约10-20个Sia单元、约20-30个Sia单元、约30-50个Sia单元、约50-70个Sia单元、约70-100个Sia单元、约100-200个Sia单元或约200-400个Sia单元的DP)结合。在一些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段与例如具有DP>10、DP>20、DP>50、DP>100或DP>200的高DP聚Sia结合。在一些实施方案中,所述表位是高DP聚Sia特有的构象表位。在一些实施方案中,所述构象表位包括3个或更多个Sia单元。在一些实施方案中,所述3个或更多个Sia单元可以是连续的单元。另外地或可替代地,在一些实施方案中,本技术的抗体缺乏 α -1,6-岩藻糖修饰。在某些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段募集T细胞以用于针对表达聚Sia的肿瘤细胞的T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)。在一些实施方案中,所述表达聚Sia的肿瘤细胞对聚Sia特异性抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)具有抗性。

[0016] 在一个方面,本公开文本提供了编码本文所述的任何抗体的重组核酸序列。在一些实施方案中,所述重组核酸序列选自SEQ ID NO:92-108。

[0017] 在另一个方面,本公开文本提供了包含本文公开的任何重组核酸序列的宿主细胞或载体。

[0018] 在一个方面,本公开文本提供了组合物,所述组合物包含本技术的抗体或抗原结合片段和药学上可接受的载体,其中所述抗体或抗原结合片段任选地与选自以下的药剂缀合:同位素、染料、色原(chromagen)、造影剂、药物、毒素、细胞因子、酶、酶抑制剂、激素、激素拮抗剂、生长因子、放射性核素、金属、脂质体、纳米颗粒、RNA、DNA或其任何组合。

[0019] 在本技术的双特异性抗体的一些实施方案中,所述双特异性抗体与T细胞、B细胞、骨髓细胞、浆细胞或肥大细胞结合。另外地或可替代地,在一些实施方案中,所述双特异性抗体与CD3、CD4、CD8、CD20、CD19、CD21、CD23、CD46、CD80、HLA-DR、CD74、CD22、CD14、CD15、CD16、CD123、TCR γ / δ 、Nkp46、KIR或小分子DOTA半抗原结合。所述小分子DOTA半抗原可以选自DOTA、DOTA-Bn、DOTA-去铁胺、DOTA-Phe-Lys(HSG)-D-Tyr-Lys(HSG)-NH₂、Ac-Lys(HSG)-D-Tyr-Lys(HSG)-Lys(Tscg-Cys)-NH₂、DOTA-D-Asp-D-Lys(HSG)-D-Asp-D-Lys(HSG)-NH₂; DOTA-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂、DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂、DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂、DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH₂、Ac-D-Phe-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-NH₂、Ac-D-Phe-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH₂、Ac-D-Phe-D-Lys(Bz-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(Bz-DTPA)-NH₂、Ac-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂、DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂、(Tscg-Cys)-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(DOTA)-NH₂、Tscg-D-Cys-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂、(Tscg-Cys)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂、Ac-D-Cys-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Ala-D-Lys(DOTA)-D-Cys-NH₂、Ac-D-Cys-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH₂、Ac-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂和Ac-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂。

[0020] 在另一个方面,本公开文本提供了一种在有需要的受试者中治疗聚Sia相关癌症的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的本文公开的任何一种抗体。在某些实施方案中,所述抗体包含分别选自以下的HC氨基酸序列和LC氨基酸序列:SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24(嵌合P35);SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:28(人源化P35 H1L2);SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:27(人源化P35 H1L1);SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:28(人源化P35 H2L2);SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27(人源化P35 H2L1);SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:49(BC137);SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:52(BC137 KS2);SEQ ID NO:53和SEQ ID NO:54(BC137 KS34);SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:49(BC137 DS47);SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:49(BC137 DS54);SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:49(BC137 DS47 D31R);SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:49(BC137 DS54 D31R);SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:50(BC137-2 DS47);SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:50(BC137-2 DS54);SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60(BC163);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:82(重人源化P35H1L1);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:82(重人源化P35H2L1);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:82(重人源化P35H3L1);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:82(重人源化P35H4L1);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:82(重人源化P35H5L1);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:82(重人源化P35H6L1);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:82(重人源化P35H7L1);SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:82(重人源化P35H8L1);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:83(重人源化P35H1L2);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:83(重人源化P35H2L2);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:83(重人源化P35H3L2);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:83(重人源化P35H4L2);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:83(重人源化P35H5L2);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:83(重人源化P35H6L2);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:83(重人源化P35H7L2);SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:83(重人源化P35H8L2);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:84(重人源化P35H1L3);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:84(重人源化P35H2L3);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:84(重人源化P35H3L3);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:84(重人源化P35H4L3);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:84(重人源化P35H5L3);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:84(重人源化P35H6L3);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:84(重人源化P35H7L3);和SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:84(重人源化P35H8L3),其中所述抗体特异性地结合聚Sia。

[0021] 在一些实施方案中,所述聚Sia相关癌症是小细胞或非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、胰腺癌、垂体瘤、维尔姆斯瘤、横纹肌肉瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌或急性骨髓性白血病。所述聚Sia相关癌症可以是转移性癌症。

[0022] 另外地或可替代地,在所述方法的一些实施方案中,将所述抗体与另外的治疗剂分开地、顺序地或同时给予至所述受试者。另外的治疗剂的例子包括以下中的一种或多种:烷基化剂、铂剂、紫杉烷、长春花剂、抗雌激素药物、芳香酶抑制剂、卵巢抑制剂、VEGF/VEGFR抑制剂、EGF/EGFR抑制剂、PARP抑制剂、抑制细胞的生物碱、细胞毒性抗生素、抗代谢物、内分泌/激素剂、二膦酸盐治疗剂。

[0023] 在另一个方面,本公开文本提供了一种用于在体内检测受试者中的肿瘤的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的本技术的抗体,其中所述抗体被配置为定位于表达高DP聚Sia的肿瘤,并用放射性同位素标记;并且(b)通过检测由所述抗体发射的高于参考值的放射性水平来检测所述受试者中肿瘤的存在。在一些实施方案中,所述受试者被诊断患有或怀疑患有癌症。可以使用正电子发射断层摄影术或单光子发射计算机断层摄影术检测由所述抗体发射的放射性水平。

[0024] 另外地或可替代地,在一些实施方案中,所述方法进一步包括向所述受试者给予有效量的免疫缀合物,所述免疫缀合物包含与放射性核素缀合的本技术的抗体。在一些实施方案中,所述放射性核素是发射 α 粒子的同位素、发射 β 粒子的同位素、俄歇(Auger)发射体或其任何组合。发射 β 粒子的同位素的例子包括 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Sr 、 ^{165}Dy 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{177}Lu 和 ^{67}Cu 。在所述方法的一些实施方案中,正常组织中非特异性FcR依赖性结合被消除或减少(例如,经由Fc区中的N297A突变,其导致去糖基化)。

[0025] 本文还公开了用于检测和/或治疗聚Sia相关癌症的试剂盒,所述试剂盒包含至少一种本技术的免疫球蛋白相关组合物(例如,本文所述的任何抗体或抗原结合片段)或其功能性变体(例如,取代变体)以及使用说明书。在某些实施方案中,所述免疫球蛋白相关组合物与一种或多种可检测标记偶联。在一个实施方案中,所述一种或多种可检测标记包括放射性标记、荧光标记或发色标记。

[0026] 另外地或可替代地,在一些实施方案中,所述试剂盒进一步包含与本文所述的抗聚Sia免疫球蛋白相关组合物特异性地结合的二抗。在一些实施方案中,所述二抗与选自放射性标记、荧光标记或发色标记的至少一种可检测标记偶联。

[0027] 在一个方面,本公开文本提供了用于在有需要的受试者中检测实体肿瘤的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的复合物,所述复合物包含放射性标记的DOTA半抗原以及与所述放射性标记的DOTA半抗原和聚Sia抗原结合的本技术的双特异性抗体,其中所述复合物被配置为定位于表达由所述复合物的双特异性抗体识别的聚Sia抗原的实体肿瘤;并且(b)通过检测由所述复合物发射的高于参考值的放射性水平来检测所述受试者中实体肿瘤的存在。

[0028] 在另一个方面,本公开文本提供了用于选择受试者进行预靶向放射免疫疗法的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的复合物,所述复合物包含放射性标记的DOTA半抗原以及与所述放射性标记的DOTA半抗原和聚Sia抗原结合的本技术的双特异性抗体,其中所述复合物被配置为定位于表达由所述复合物的双特异性抗体识别的聚Sia抗原的实体肿瘤;(b)检测由所述复合物发射的放射性水平;并且(c)当由所述复合物发射的放射性水平高于参考值时,选择所述受试者进行预靶向放射免疫疗法。

[0029] 在一个方面,本公开文本提供了用于在被诊断为聚Sia相关癌症的受试者中增加肿瘤对放射疗法的敏感性的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的复合物,所述复合物包含放射性标记的DOTA半抗原以及识别并结合所述放射性标记的DOTA半抗原和聚Sia抗原靶标的本技术的双特异性抗体,其中所述复合物被配置为定位于表达由所述复合物的双特异性抗体识别的聚Sia抗原靶标的肿瘤。

[0030] 在另一个方面,本公开文本提供了用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的复合物,所述复合物包含放射性标记的DOTA半抗原以及识别并结合所述放射性标记的DOTA半抗原和聚Sia抗原靶标的本技术的双特异性抗体,其中所述复合物被配置为定位于表达由所述复合物的双特异性抗体识别的聚Sia抗原靶标的肿瘤。

[0031] 在本文公开方法的上述实施方案中的任何一个中,将所述复合物通过静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、脑室内、口服或鼻内给予。在本文公开方法的一些实施方案中,受试者是人。另外地或可替代地,在本文公开方法的上述

实施方案中的任何一个中,所述放射性标记的DOTA半抗原包含 ^{213}Bi 、 ^{211}At 、 ^{225}Ac 、 ^{152}Dy 、 ^{212}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{219}Rn 、 ^{215}Po 、 ^{211}Bi 、 ^{221}Fr 、 ^{217}At 、 ^{255}Fm 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Sr 、 ^{165}Dy 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{177}Lu 、 ^{67}Cu 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{51}Cr 、 ^{58}Co 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{103\text{m}}\text{Rh}$ 、 $^{195\text{m}}\text{Pt}$ 、 ^{119}Sb 、 ^{161}Ho 、 $^{189\text{m}}\text{Os}$ 、 ^{192}Ir 、 ^{201}Tl 、 ^{203}Pb 、 ^{68}Ga 、 ^{227}Th 或 ^{64}Cu ,并且任选地包含发射 α 粒子的同位素、发射 β 粒子的同位素或俄歇发射体。

[0032] 在一个方面,本公开文本提供了用于在被诊断为聚Sia相关癌症的受试者中增加肿瘤对放射疗法的敏感性的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的本技术的抗DOTA双特异性抗体,其中所述抗DOTA双特异性抗体被配置为定位于表达聚Sia抗原靶标的肿瘤;并且(b)向所述受试者给予有效量的放射性标记的DOTA半抗原,其中所述放射性标记的DOTA半抗原被配置为结合所述抗DOTA双特异性抗体。在另一个方面,本公开文本提供了用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的本技术的抗DOTA双特异性抗体,其中所述抗DOTA双特异性抗体被配置为定位于表达聚Sia抗原靶标的肿瘤;并且(b)向所述受试者给予有效量的放射性标记的DOTA半抗原,其中所述放射性标记的DOTA半抗原被配置为结合所述抗DOTA双特异性抗体。在一些实施方案中,本技术的方法进一步包括在给予放射性标记的DOTA半抗原之前,向所述受试者给予有效量的清除剂。

[0033] 另外地或可替代地,在本文公开方法的上述实施方案中的任何一个中,所述放射性标记的DOTA半抗原包含 ^{213}Bi 、 ^{211}At 、 ^{225}Ac 、 ^{152}Dy 、 ^{212}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{219}Rn 、 ^{215}Po 、 ^{211}Bi 、 ^{221}Fr 、 ^{217}At 、 ^{255}Fm 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Sr 、 ^{165}Dy 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{177}Lu 、 ^{67}Cu 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{51}Cr 、 ^{58}Co 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{103\text{m}}\text{Rh}$ 、 $^{195\text{m}}\text{Pt}$ 、 ^{119}Sb 、 ^{161}Ho 、 $^{189\text{m}}\text{Os}$ 、 ^{192}Ir 、 ^{201}Tl 、 ^{203}Pb 、 ^{68}Ga 、 ^{227}Th 或 ^{64}Cu ,并且任选地包含发射 α 粒子的同位素、发射 β 粒子的同位素或俄歇发射体。在本文公开方法的上述实施方案中的任何一个中,受试者是人。

附图说明

[0034] 图1(A)和1(B)示出了聚唾液酸在多种癌细胞系上的表达。

[0035] 图2示出了小细胞肺癌(SCLC)患者衍生的异种移植物用嵌合P35抗体染色的免疫组织化学结果。

[0036] 图3示出了神经母细胞瘤细胞系SK-N-BE(1)使用四种人源化抗聚Sia IgG1抗体的相对染色。

[0037] 图4(A)示出了处于IgG-scFv形式的聚Sia x CD3双特异性抗体的示意图。图4(B)示出了通过SEC-HPLC得出的聚Sia x CD3双特异性抗体BC137的纯度,其中主峰(16.0分钟)是完全配对的BsAb(分子量约210kDa)和盐缓冲液峰(25分钟)。

[0038] 图5(A)示出了在黑素瘤细胞系M14上用BC137进行的T细胞依赖性细胞毒性测定(TDCC)。图5(B)示出了在神经母细胞瘤细胞系IMR-32上用BC137进行的T细胞依赖性细胞毒性测定(TDCC)。

[0039] 图6示出了在具有用BC137和活化的T细胞(ATC)治疗的神经母细胞瘤IMR-32肿瘤的小鼠异种移植物研究中的肿瘤体积。

[0040] 图7(A)示出了基于具有两个带负电残基VH:D31和VH:D105的PDB 3WDB晶体结构,mAb735与结合的八唾液酸的结合口袋的静电势图。图7(B)示出了基于具有两个带负电残基VH:D31和VH:D105的PDB 3WDB晶体结构,mAb735与结合的八唾液酸的结合口袋的带状图的

侧视图。图7(C)示出了P35 H1L2 IgG1亲本和具有通过合理的工程化设计的突变的情况下的相对结合。

[0041] 图8(A)示出了基于合理的设计或使用直接筛选方法的酵母展示亲和力成熟,亲和成熟的克隆的结合动力学。图8(B)示出了在亲和力成熟的克隆中,氨基酸变化的位置。

[0042] 图9(A)示出了基于合理的设计或使用动力学筛选方法的酵母展示亲和力成熟,亲和成熟的克隆的结合动力学。图9(B)示出了在亲和力成熟的克隆中,氨基酸变化的位置。

[0043] 图10(A)示出了选择的BC137克隆在神经母细胞瘤IMR-32细胞上的TDCC测定。图10(B)示出了针对黑素瘤M14、神经母细胞瘤IMR-32和神经母细胞瘤SKNSH细胞,选择的BC137克隆的TDCC的EC50值。

[0044] 图11示出了在采用了用BC137和选择的亲和力成熟的变体治疗的神经母细胞瘤IMR-32肿瘤的小鼠异种移植物研究中的肿瘤体积。

[0045] 图12示出了处于IgG-scFv形式的聚Sia x DOTA双特异性抗体的示意图。

[0046] 图13(A)-13(E)示出了采用了用(0、0.25、0.5或1mg)BC137聚Sia x DOTA双特异性抗体BC163和¹⁷⁷Lu-Bn-DOTA治疗的神经母细胞瘤IMR-32肿瘤的小鼠异种移植物研究的结果。

[0047] 图14(A)和14(B)示出了人源化克隆的人种系含量。

[0048] 图15(A)和15(B)示出了嵌合P35-IgG1的重链和轻链的氨基酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24。CDR序列带有下列划线。

[0049] 图16(A)示出了人源化P35重链H1的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:92。图16(B)示出了人源化P35重链H2的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:93。CDR序列带有下列划线。

[0050] 图17(A)示出了人源化P35轻链L1的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:94。图17(B)示出了人源化P35轻链L2的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:95。CDR序列带有下列划线。

[0051] 图18(A)和18(B)示出了人源化P35 H1L2 IgG1抗体的重链和轻链的氨基酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:28。CDR序列带有下列划线。

[0052] 图19示出了具有D31R突变的人源化P35重链的合理设计的亲和力成熟的克隆的重链的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:29。CDR序列带有下列划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0053] 图20示出了DS45(人源化P35 H1L2的亲和力成熟的克隆)的重链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:30。CDR序列带有下列划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0054] 图21示出了DS47(人源化P35 H1L2的亲和力成熟的克隆)的重链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:31。CDR序列带有下列划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0055] 图22示出了DS51(人源化P35 H1L2的亲和力成熟的克隆)的重链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:32。CDR序列带有下列划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0056] 图23示出了DS53(人源化P35 H1L2的亲和力成熟的克隆)的重链可变结构域的氨

氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:33。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0057] 图24示出了DS54(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的重链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:34。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0058] 图25示出了DS55(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的重链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:35。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0059] 图26(A)和26(B)示出了KS2(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的重链和轻链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列分别对应于SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:37。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0060] 图27(A)和27(B)示出了KS10(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的重链和轻链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列分别对应于SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:39。

[0061] 图28(A)和28(B)示出了KS21(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的重链和轻链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列分别对应于SEQ ID NO:40和SEQ ID NO:41。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0062] 图29(A)和29(B)示出了KS23(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的重链和轻链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列分别对应于SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0063] 图30示出了KS26(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的轻链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:44。

[0064] 图31示出了KS30(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的轻链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:45。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0065] 图32(A)和32(B)示出了KS34(人源化P35 H1L2的亲合力成熟的克隆)的重链和轻链可变结构域的氨基酸序列。所述氨基酸序列分别对应于SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:47。CDR序列带有下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0066] 图33(A)和33(B)示出了聚Sia x CD3双特异性抗体BC137的重链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:96。Fc结构域中的N297A和K322A取代以粗体显示。图33(C)和33(D)示出了BC137的轻链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:97。所述CDR序列和GS接头加下划线。

[0067] 图34(A)和34(B)示出了用于聚Sia x CD3双特异性抗体中的经修饰轻链(BC137-2轻链)的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:50和SEQ ID NO:98。所述序列已经被修饰,以在抗CD3 hu0KT3 scFv部分进行两个Cys到Gly的取代,从而改变二硫键的稳定性。所述CDR序列和GS接头加下划线。所述修饰的Cys残基以粗体显示。

[0068] 图35(A)和35(B)示出了处于聚Sia x CD3 BsAb形式的亲合力成熟的克隆KS2的重链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:99。可变结构域中的经修饰残基和Fc结构域中的N297A和K322A取代以粗体显示。图35(C)和35(D)示出了轻链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:52和SEQ ID NO:100。所述CDR序列和

GS接头加下划线。

[0069] 图36A和36(B)示出了处于聚Sia x CD3 BsAb形式的亲和力成熟的克隆KS34的重链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:53和SEQ ID NO:101。可变结构域中的经修饰残基和Fc结构域中的N297A和K322A取代以粗体显示。图36(C)和36(D)示出了轻链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:102。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。

[0070] 图37(A)和37(B)示出了处于聚Sia x CD3 BsAb形式的亲和力成熟的克隆DS47的重链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:103。CDR序列带下划线。可变结构域中的经修饰残基和Fc结构域中的N297A和K322A取代以粗体显示。

[0071] 图38(A)和38(B)示出了处于聚Sia x CD3 BsAb形式的亲和力成熟的克隆DS54的重链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:104。CDR序列带下划线。可变结构域中的经修饰残基和Fc结构域中的N297A和K322A取代以粗体显示。

[0072] 图39(A)和39(B)示出了处于聚Sia x CD3 BsAb形式的带有D31R突变的亲和力成熟的克隆DS47的重链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:105。CDR序列带下划线。可变结构域中的经修饰残基和Fc结构域中的N297A和K322A取代以粗体显示。

[0073] 图40(A)和40(B)示出了处于聚Sia x CD3 BsAb形式的带有D31R突变的亲和力成熟的克隆DS54的重链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:106。CDR序列带下划线。可变结构域中的经修饰残基和Fc结构域中的N297A和K322A取代以粗体显示。

[0074] 图41(A)和41(B)示出了BC163(聚Sia x DOTA双特异性抗体)的重链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:107。可变结构域中的经修饰残基和Fc结构域中的N297A和K322A取代以粗体显示。图41(C)和41(D)示出了轻链的氨基酸和核苷酸序列,它们分别对应于SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:108。所述CDR序列和GS接头加下划线。

[0075] 图42示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆DS45的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:61。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0076] 图43示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆DS47的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:62。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0077] 图44示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆DS51的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:63。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0078] 图45示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆DS53的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:64。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0079] 图46示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆DS54的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:65。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0080] 图47示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆DS55的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:66。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0081] 图48示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆KS2的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:67。带下划线序列对应于GS接头序列。

[0082] 图49示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆KS10的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:68。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0083] 图50示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆KS21的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:69。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0084] 图51示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆KS23的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:70。带下划线序列对应于GS接头序列。

[0085] 图52示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆KS26的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:71。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0086] 图53示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆KS30的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:72。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0087] 图54示出了处于scFv形式的亲和力成熟的克隆KS34的氨基酸序列,对应于SEQ ID NO:73。带下划线序列对应于GS接头序列。所述CDR序列和GS接头加下划线。可变结构域中的修饰残基以粗体显示。

[0088] 图55示出了HC1(基于P35 H1L2的重人源化重链(re-humanized heavy chain))的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:74。CDR序列带下划线。

[0089] 图56示出了HC2(基于P35 H1L2的重人源化重链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:75。CDR序列带下划线。

[0090] 图57示出了HC3(基于P35 H1L2的重人源化重链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:76。CDR序列带下划线。

[0091] 图58示出了HC4(基于P35 H1L2 H1L2的重人源化重链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:77。CDR序列带下划线。

[0092] 图59示出了HC5(基于P35 H1L2的重人源化重链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:78。CDR序列带下划线。

[0093] 图60示出了HC6(基于P35 H1L2的重人源化重链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:79。CDR序列带下划线。

[0094] 图61示出了HC7(基于P35 H1L2的重人源化重链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:80。CDR序列带下划线。

[0095] 图62示出了HC8(基于P35 H1L2的重人源化重链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:81。CDR序列带下划线。

[0096] 图63示出了LC1(基于P35 H1L2的重人源化轻链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:82。CDR序列带下划线。

[0097] 图64示出了LC2 (基于P35 H1L2的重人源化轻链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:83。CDR序列带有下列划线。

[0098] 图65示出了LC3 (基于P35 H1L2的重人源化轻链)的氨基酸序列。所述氨基酸序列对应于SEQ ID NO:84。CDR序列带有下列划线。

[0099] 图66示出了在神经母细胞瘤细胞系IMR-32Luc上用人源化P35IgG1抗体进行的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 测定。

[0100] 图67示出了如通过流式细胞术确定的,本文公开的多种重人源化HP35克隆与M14黑素瘤细胞系 (聚唾液酸+) 的相对结合。

[0101] 图68示出了比较了本技术的多种重人源化抗聚Sia抗体相对于嵌合HP35聚Sia抗体的抗原结合特性和稳定性的热图。第1栏,MFI,基于经由以1 μ g/百万个细胞的流式细胞术得到的与M14黑素瘤细胞系的结合,低结合 (白色) 到高结合 (深灰色)。第2栏,结合亲和力,根据 K_D (M),所述 K_D 是从经由表面等离子体共振得到的与多聚乙酰神经氨酸 (colominic acid) 的结合获得的,低亲和力 (白色) 到高亲和力 (深灰色)。第3栏,稳定性,基于采用HPCL得到的在37 $^{\circ}$ C下孵育三周后的纯度,低纯度 (白色) 到高纯度 (深灰色)。由于对其抗原的高结合亲和力,选择克隆LC2+HC5进行体外和体内的进一步表征。

具体实施方式

[0102] 应当理解,下文以不同详细程度描述了本发明方法的某些方面、模式、实施方案、变化形式和特征,以提供对本技术的实质理解。

[0103] 本公开文本总体上提供了免疫球蛋白相关组合物 (例如,抗体或其抗原结合片段),所述免疫球蛋白相关组合物可特异性地结合聚Sia、特别是高DP聚Sia,并且可中和聚Sia、特别是高DP聚Sia的生物活性。本技术的免疫球蛋白相关组合物可用于在有需要的受试者中检测或治疗聚Sia相关癌症的方法。因此,本方法的各个方面涉及抗聚Sia抗体的制备、表征和操纵。本技术的免疫球蛋白相关组合物可单独使用或与用于治疗癌症的另外的治疗剂组合使用。在一些实施方案中,免疫球蛋白相关组合物是人源化抗体、嵌合抗体或双特异性抗体。

[0104] 在实践本发明方法时,使用了分子生物学、蛋白质生物化学、细胞生物学、免疫学、微生物学和重组DNA中的许多常规技术。参见例如,Sambrook和Russell编辑 (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual,第3版;丛书Ausubel等人编辑 (2007) Current Protocols in Molecular Biology;丛书Methods in Enzymology (Academic Press, Inc., 纽约);MacPherson等人 (1991) PCR 1: A Practical Approach (IRL Press at Oxford University Press);MacPherson等人 (1995) PCR 2: A Practical Approach;Harlow和Lane编辑 (1999) Antibodies, A Laboratory Manual;Freshney (2005) Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique,第5版;Gait编辑 (1984) Oligonucleotide Synthesis;美国专利号4,683,195;Hames和Higgins编辑 (1984) Nucleic Acid Hybridization;Anderson (1999) Nucleic Acid Hybridization;Hames和Higgins编辑 (1984) Transcription and Translation;Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press (1986));Perbal (1984) A Practical Guide to Molecular Cloning;Miller和Calos编辑 (1987) Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (Cold Spring Harbor

Laboratory);Makrides编辑(2003)Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells;Mayer和Walker编辑(1987)Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology(Academic Press,伦敦);以及Herzenberg等人编辑(1996)Weir's Handbook of Experimental Immunology。检测和测量多肽基因表达产物水平(即基因翻译水平)的方法是本领域中熟知的,并且包括使用多肽检测方法,如抗体检测和量化技术。(还参见,Strachan和Read,Human Molecular Genetics,第二版.(John Wiley and Sons,Inc.,纽约州,1999))。

[0105] 定义

[0106] 除非另外限定,否则在此所使用的所有技术和科技术语一般均具有如本技术所属的领域中的普通技术人员通常所理解的不同含义。如在本说明书和所附权利要求书中所用,单数形式“一种/一个”(“a”)、“一种/一个”(“an”)和“所述”(“the”)包括复数指示物,除非上下文另外明确说明。例如,对“一种/一个细胞”的提及包括两种/个或更多种/个细胞的组合,等等。通常,本文所用的命名和下文所述的细胞培养、分子遗传学、有机化学、分析化学和核酸化学和杂交中的实验室程序是本领域中熟知的和常用的那些。

[0107] 除非上下文另外说明或另外明显,否则如本文所用,关于数字的术语“约”通常视为包括落在所述数字任一方向(大于或小于)的1%、5%或10%范围内的数字(这样的数字低于可能值的0%或超过可能值的100%的情况除外)。

[0108] 如本文所用,向受试者“给予”药剂或药物包括向受试者引入或递送化合物以执行其预期功能的任何途径。给予可以通过任何合适的途径进行,所述合适的途径包括但不限于口服、鼻内、肠胃外(静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下)、直肠、鞘内、肿瘤内或局部。给予包括自我给予和由另一个人给予。

[0109] “佐剂”是指引起免疫系统刺激的一种或多种物质。在这种情况下,佐剂用于增强对一种或多种疫苗抗原或抗体的免疫应答。可以在疫苗的给予之前、与疫苗的给予组合或在疫苗的给予之后将佐剂给予至受试者。用作佐剂的化学化合物的例子包括铝化合物、油、嵌段聚合物、免疫刺激复合物、维生素和矿物质(例如,维生素E、维生素A、硒和维生素B12)、Quil A(皂苷)、细菌和真菌细胞壁组分(例如,脂多糖、脂蛋白和糖蛋白)、激素、细胞因子和共刺激因子。

[0110] 如本文所用,术语“抗体”共同地指免疫球蛋白或免疫球蛋白样分子,包括例如但不限于IgA、IgD、IgE、IgG和IgM、其组合,以及在任何脊椎动物中例如在哺乳动物(如人、山羊、兔子和小鼠)以及非哺乳动物物种中在免疫应答过程中产生的类似分子(如鲨鱼免疫球蛋白)。如本文所用,“抗体”(包括完整免疫球蛋白)和“抗原结合片段”与目的分子(或一组高度类似的目的分子)特异性地结合,而基本上排除与其他分子的结合(例如,对于目的分子的结合常数比对于生物样品中的其他分子的结合常数大至少 10^3M^{-1} 、大至少 10^4M^{-1} 或大至少 10^5M^{-1} 的抗体和抗体片段)。术语“抗体”还包括基因工程化形式如嵌合抗体(例如,人源化鼠抗体)、异源缀合抗体(如双特异性抗体)。还参见Pierce Catalog and Handbook,1994-1995(Pierce Chemical Co.,罗克福德,伊利诺伊州);Kuby,J.,Immunology,第3版,W.H.Freeman&Co.,纽约,1997。

[0111] 更具体地,抗体是指特异性地识别并结合抗原表位的至少包含轻链免疫球蛋白可变区或重链免疫球蛋白可变区的多肽配体。抗体由重链和轻链构成,它们各自具有可变区,

称为重链可变 (V_H) 区和轻链可变 (V_L) 区。 V_H 区和 V_L 区共同负责结合由抗体识别的抗原。通常,免疫球蛋白具有通过二硫键相互连接的重 (H) 链和轻 (L) 链。有两种类型的轻链,即 λ (lambda) 和 κ (kappa)。有五种主要的重链类别 (或同种型): IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE, 它们决定了抗体分子的功能活性。每条重链和轻链均含有恒定区和可变区 (所述区域也称为“结构域”)。组合的重链可变区和轻链可变区特异性地结合抗原。轻链可变区和重链可变区含有被三个高变区 (也称为“互补决定区”或“CDR”) 打断的“框架”区。已经定义了框架区和 CDR 的范围 (参见 Kabat 等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, U.S. Department of Health and Human Services, 1991, 其通过引用特此并入)。Kabat 数据库目前在线上维护。不同轻链或重链的框架区的序列在物种内相对保守。抗体的框架区 (即组成性轻链和重链的组合框架区) 主要采用 β -折叠构象, 并且 CDR 形成连接 β -折叠结构的环, 并且在一些情况下所述环形成 β -折叠结构的一部分。因此, 框架区起到形成支架的作用, 所述支架通过链间非共价相互作用使 CDR 以正确取向定位。

[0112] CDR 主要负责与抗原表位的结合。每条链的 CDR 通常称为 CDR1、CDR2 和 CDR3, 从 N 末端开始依次编号, 并且通常还依据其中定位特定 CDR 的链来标识。因此, V_H CDR3 位于发现它所在的抗体的重链的可变结构域中, 而 V_L CDR1 是来自发现它所在的抗体的轻链的可变结构域的 CDR1。结合聚 Sia 的抗体将具有特定的 V_H 区和 V_L 区序列, 从而具有特定的 CDR 序列。具有不同特异性 (即对于不同抗原的不同结合位点) 的抗体具有不同的 CDR。尽管不同的抗体之间 CDR 不同, 但 CDR 内仅有限数量的氨基酸位置直接参与抗原结合。CDR 内的这些位置称为特异性决定残基 (SDR)。如本文所用, “免疫球蛋白相关组合物” 是指抗体 (包括单克隆抗体、多克隆抗体、人源化抗体、嵌合抗体、重组抗体、多特异性抗体、双特异性抗体等) 以及抗体片段。抗体或其抗原结合片段与抗原特异性地结合。

[0113] 如本文所用, 术语“抗体相关多肽” 意指包括单链抗体在内的抗原结合抗体片段, 其可以单独包含一个或多个可变区或包含一个或多个可变区与以下多肽要素中的全部或部分的组合: 抗体分子的铰链区、 CH_1 、 CH_2 和 CH_3 结构域。所述技术中还包括一个或多个可变区和铰链区、 CH_1 、 CH_2 和 CH_3 结构域的任何组合。可用于本方法中的抗体相关分子包括, 例如但不限于 Fab、Fab' 和 $F(ab')_2$ 、Fd、单链 Fv (scFv)、单链抗体、二硫键连接的 Fv (sdFv) 和包含 V_L 或 V_H 结构域的片段。例子包括: (i) Fab 片段, 即由 V_L 、 V_H 、 C_L 和 CH_1 结构域组成的单价片段; (ii) $F(ab')_2$ 片段, 即包含由铰链区的二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段; (iii) 由 V_H 和 CH_1 结构域组成的 Fd 片段; (iv) 由抗体单臂的 V_L 和 V_H 结构域组成的 Fv 片段; (v) dAb 片段 (Ward 等人, *Nature* 341:544-546, 1989), 其由 V_H 结构域组成; 和 (vi) 分离的互补决定区 (CDR)。因此, “抗体片段” 或 “抗原结合片段” 可以包含全长抗体的一部分, 通常是其抗原结合区或可变区。抗体片段或抗原结合片段的例子包括 Fab、Fab'、 $F(ab')_2$ 和 Fv 片段; 双抗体; 线性抗体; 单链抗体分子; 和从抗体片段形成的多特异性抗体。

[0114] 如本文所用, “双特异性抗体” 或 “BsAb” 是指可以同时与具有不同结构的两个靶标 (例如, 两个不同的靶抗原、同一靶抗原上的两个不同表位、或者半抗原和靶抗原或靶抗原上的表位) 结合的抗体。多种不同的双特异性抗体结构是本领域已知的。在一些实施方案中, 双特异性抗体中的每个抗原结合部分都包括 V_H 和/或 V_L 区; 在一些此类实施方案中, V_H 和/或 V_L 区是在特定单克隆抗体中发现的那些。在一些实施方案中, 双特异性抗体含有两个抗原结合部分, 每个抗原结合部分包括来自不同单克隆抗体的 V_H 和/或 V_L 区。在一些实施方

案中,双特异性抗体含有两个抗原结合部分,其中两个抗原结合部分中的一个包括具有 V_H 和/或 V_L 区的免疫球蛋白分子,所述 V_H 和/或 V_L 区含有来自第一单克隆抗体的CDR;并且另一个抗原结合部分包括具有 V_H 和/或 V_L 区的抗体片段(例如,Fab、F(ab')、F(ab')₂、Fd、Fv、dAB、scFv等),所述 V_H 和/或 V_L 区含有来自第二单克隆抗体的CDR。

[0115] 如本文所用,“清除剂”是与存在于受试者血液隔室中的过量双特异性抗体结合以促进经由肾脏的快速清除的试剂。在半抗原给予(例如DOTA)之前使用清除剂有助于在预靶向放射免疫疗法(PRIT)系统中获得更好的肿瘤与背景比。清除剂的例子包括500kD-葡聚糖-DOTA-Bn(Y)(Orcutt等人,Mol Cancer Ther.11(6):1365-1372(2012))、500kD氨基葡聚糖-DOTA缀合物、针对预靶向抗体的抗体等。

[0116] 如本文所用,术语“缀合的”是指通过本领域技术人员已知的任何方法使两个分子缔合。合适的缔合类型包括化学键和物理结合。化学键包括例如共价键和配位键。物理结合包括例如氢键、偶极相互作用、范德华力、静电相互作用、疏水性相互作用和芳环堆积。

[0117] 如本文所用,术语“双抗体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段,所述片段包含与同一多肽链(V_H - V_L)中的轻链可变结构域(V_L)连接的重链可变结构域(V_H)。通过使用过短而不允许在同一链上的两个结构域之间配对的接头,迫使所述结构域与另一条链的互补结构域配对,并产生两个抗原结合位点。双抗体更全面地描述于例如以下文献中:EP 404,097;WO 93/11161;和30Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993)。

[0118] 如本文所用,术语“单链抗体”或“单链Fv(scFv)”是指Fv片段的两个结构域 V_L 和 V_H 的抗体融合分子。单链抗体分子可以包含具有多个单独分子的聚合物,例如二聚体、三聚体或其他聚合物。此外,尽管Fv片段的两个结构域 V_L 和 V_H 由分开的基因编码,但是它们可以使用重组方法通过合成的接头进行连接,从而将它们制成单个蛋白质链,在所述单个蛋白质链中 V_L 和 V_H 区配对形成单价分子(称为单链Fv(scFv))。Bird等人(1988)Science 242:423-426和Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad Sci.USA 85:5879-5883。此类单链抗体可以通过重组技术或完整抗体的酶切割或化学切割来制备。

[0119] 任何上述抗体片段是使用本领域技术人员已知的常规技术获得的,并且以与完整抗体相同的方式针对结合特异性和中和活性筛选所述片段。

[0120] 如本文所用,“抗原”是指抗体(或其抗原结合片段)可以选择性结合的分子。靶抗原可以是蛋白质、碳水化合物、核酸、脂质、半抗原或其他天然存在的或合成的化合物。在一些实施方案中,靶抗原可以是碳水化合物(例如,聚Sia种类)。也可以将抗原给予至动物以在动物中产生免疫应答。

[0121] 术语“抗原结合片段”是指完整免疫球蛋白结构的片段,所述片段具有负责与抗原结合的多肽部分。可用于本技术中的抗原结合片段的例子包括scFv、(scFv)₂、scFvFc、Fab、Fab'和F(ab')₂,但不限于此。

[0122] “结合亲和力”意指分子(例如,抗体)的单个结合位点与分子的结合配偶体(例如,抗原或抗原肽)之间的总非共价相互作用的强度。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以由解离常数(K_D)表示。亲和力可以通过本领域已知的标准方法(包括本文所述的那些)测量。低亲和力复合物含有通常倾向于容易从抗原解离的抗体,而高亲和力复合物含有通常倾向于更长时间地保持与抗原结合的抗体。

[0123] 如本文所用,术语“生物样品”意指源自活细胞的样品材料。生物样品可以包括从受试者分离的组织、细胞、细胞的蛋白质或膜提取物、和生物流体(例如,腹水或脑脊液(CSF)),以及存在于受试者体内的组织、细胞和流体。本技术的生物样品包括但不限于取自以下的样品:乳腺组织、肾组织、子宫颈、子宫内膜、头或颈、胆囊、腮腺组织、前列腺、脑、脑下垂体、肾脏组织、肌肉、食道、胃、小肠、结肠、肝脏、脾脏、胰腺、甲状腺组织、心脏组织、肺组织、膀胱、脂肪组织、淋巴结组织、子宫、卵巢组织、肾上腺组织、睾丸组织、扁桃体、胸腺、血液、毛发、颊、皮肤、血清、血浆、CSF、精子、前列腺液、精液、尿、粪便、汗液、唾液、痰、粘液、骨髓、淋巴和泪液。生物样品也可以从内脏的活检或从癌症获得。生物样品可以从受试者获得以进行诊断或研究;或者可以从未患病的个体获得,作为对照或用于基础研究。样品可以通过标准方法获得,所述标准方法包括例如静脉穿刺和手术活检。在某些实施方案中,所述生物样品是通过针吸活检获得的乳房、肺、胰腺、肾上腺、脑、肾、神经或肌肉组织样品。手术活检样品可以源自手术时获得的新鲜样品或冷冻样品、患者来源的异种移植物或为手术样本建立的细胞系。

[0124] 如本文所用,术语“CDR移植抗体”意指这样的抗体,在所述抗体中“受体”抗体的至少一个CDR被来自“供体”抗体的具有所需抗原特异性的CDR“移植物”替代。

[0125] 如本文所用,术语“嵌合抗体”意指这样的抗体,在所述抗体中使用重组DNA技术将来自一个物种的单克隆抗体的Fc恒定区(例如,小鼠Fc恒定区)用来自另一物种的抗体的Fc恒定区(例如,人Fc恒定区)替代。一般参见,Robinson等人,PCT/US86/02269;Akira等人,欧洲专利申请184,187;Taniguchi,欧洲专利申请171,496;Morrison等人,欧洲专利申请173,494;Neuberger等人,WO 86/01533;Cabilly等人美国专利号4,816,567;Cabilly等人,欧洲专利申请0125,023;Better等人,Science 240:1041-1043,1988;Liu等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:3439-3443,1987;Liu等人,J.Immunol 139:3521-3526,1987;Sun等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:214-218,1987;Nishimura等人,Cancer Res 47:999-1005,1987;Wood等人,Nature 314:446-449,1885;以及Shaw等人,J.Natl.Cancer Inst.80:1553-1559,1988。

[0126] 如本文所用,术语“共有FR”意指共有免疫球蛋白序列中的框架(FR)抗体区域。抗体的FR区不与抗原接触。

[0127] 如本文所用,“对照”是实验中出于比较目的使用的替代样品。对照可以是“阳性”或“阴性”的。例如,在实验目的是确定治疗剂对特定类型疾病的治疗的功绩的相关性的情况下,通常使用阳性对照(已知展现出所需治疗效果的化合物或组合物)和阴性对照(不接受治疗或接受安慰剂的受试者或样品)。

[0128] 如本文所用,术语“有效量”是指足以实现期望的治疗和/或预防效果的量,例如导致预防或减少本文所述疾病或病症或者与本文所述疾病或病症相关的一种或多种体征或症状的量。在治疗或预防应用的情况下,给予至受试者的组合物的量将根据组合物、疾病的程度、类型和严重程度以及根据个体的特征(如一般健康状况、年龄、性别、体重和药物耐受性)而变化。技术人员将能够根据这些和其他因素确定适当的剂量。也可以将所述组合物与一种或多种另外的治疗化合物组合给予。在本文所述的方法中,可以将治疗组合物给予至具有本文所述疾病或病症的一种或多种体征或症状的受试者。如本文所用,组合物的“治疗有效量”是指其中疾病或病症的生理影响得到改善或消除的组合物水平。可以将治疗有效

量在一次或多次给药中给予。

[0129] 如本文所用,术语“效应细胞”意指参与免疫应答的效应阶段的免疫细胞,所述效应阶段与免疫应答的认知阶段和激活阶段相反。示例性的免疫细胞包括骨髓或淋巴来源的细胞,例如淋巴细胞(例如,B细胞和T细胞,包括细胞裂解性T细胞(CTL))、杀伤细胞、天然杀伤细胞、巨噬细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞、多形核细胞、粒细胞、肥大细胞和嗜碱性粒细胞。效应细胞表达特定的Fc受体并执行特定的免疫功能。效应细胞可以诱导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC),例如能够诱导ADCC的嗜中性粒细胞。例如,表达Fc α R的单核细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞参与靶细胞的特异性杀伤并向免疫系统的其他组分呈递抗原,或与呈递抗原的细胞结合。

[0130] 如本文所用,术语“表位”意指能够与抗体特异性地结合的抗原决定簇。表位通常由分子的化学活性表面基团(如氨基酸或糖侧链)组成并且通常具有特定的三维结构特征,以及特定的电荷特征。构象表位和非构象表位的差别在于:在变性溶剂的存在下,与构象表位而不是非构象表位的结合丧失。在一些实施方案中,聚Sia的“表位”是本技术的抗聚Sia抗体特异性结合的高DP聚Sia(例如,DP>10、DP>20、DP>50、DP>100或DP>200)特别采用的构象表位。为了筛选与表位结合的抗聚Sia抗体,可以进行常规的交叉阻断测定,如描述于以下文献中的测定:Antibodies, A Laboratory Manual, 冷泉港实验室, Harlow和David Lane编(1988)。此测定可用于确定抗聚Sia抗体是否与本技术的抗聚Sia抗体结合相同的位点或表位。可替代地或另外地,可以通过本领域已知的方法进行表位作图。例如,抗体序列可以如通过丙氨酸扫描被诱变,以鉴定接触残基。在不同的方法中,具有不同DP的聚Sia种类可以与多种测试抗体、或与一种测试抗体和一种具有经表征或已知的表位特异性的抗体一起用于竞争测定中。

[0131] 如本文所用,“表达”包括以下中的一项或多项:基因转录为前体mRNA;前体mRNA的剪接和其他加工以产生成熟mRNA;mRNA稳定性;成熟mRNA翻译成蛋白质(包括密码子使用和tRNA可用性);以及糖基化和/或翻译产物的其他修饰(如果适当的表达和功能需要)。

[0132] 如本文所用,术语“基因”意指含有用于RNA产物的经调节的生物合成的所有信息的DNA区段,包括启动子、外显子、内含子和控制表达的其他非翻译区。

[0133] “同源性”或“同一性”或“相似性”是指两个肽之间或两个核酸分子之间的序列相似性。可以通过比较每个序列中的位置来确定同源性,所述序列可以出于比较目的被比对。当所比较序列中的位置被相同的碱基或氨基酸占据时,则所述分子在该位置是同源的。序列之间的同源性程度随所述序列共享的匹配或同源位置数而变。多核苷酸或多核苷酸区域(或多肽或多肽区域)与另一序列具有一定百分比(例如,至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%)的“序列同一性”意味着,当比对时,在比较两个序列中,该百分比的碱基(或氨基酸)是相同的。可以使用本领域已知的软件程序确定此比对以及同源性或序列同一性百分比。在一些实施方案中,将默认参数用于比对。一种比对程序是BLAST,使用默认参数。具体而言,程序是BLASTN和BLASTP,使用以下默认参数:遗传密码=标准;过滤器=无;链=两条;截止值=60;期望=10;矩阵=BL0SUM62;描述=50个序列;排序方式=高得分(HIGH SCORE);数据库=非冗余,GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+GenBank CDS翻译+SwissProtein+SPupdate+PIR。这些程序的详细信息可以在国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)找到。生物学上等同的多核苷酸是

具有指定同源性百分比并编码具有相同或相似生物活性的多肽的那些多核苷酸。如果两个序列彼此共享小于40%的同一性或小于25%的同一性,则将所述序列视为“无关的”或“非同源的”。

[0134] 如本文所用,术语非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合抗体,其含有衍生自非人免疫球蛋白的最小序列。对于大部分,人源化抗体是人免疫球蛋白,其中受体的高变区残基被来自非人物种(如小鼠、大鼠、兔子或非人灵长类动物)的具有所需的特异性、亲和力和能力的高变区残基(供体抗体)替代。在一些实施方案中,人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基被相应的非人残基替代。此外,人源化抗体可以包含在受体抗体或供体抗体中未发现的残基。进行这些修饰以进一步完善抗体性能如结合亲和力。通常,人源化抗体将包含至少一个、通常两个可变结构域(例如,Fab、Fab'、F(ab')₂或Fv)的基本上全部,其中全部或基本上全部的高变环对应于非人免疫球蛋白的那些高变环,并且全部或基本上全部的FR区是人免疫球蛋白共有FR序列的那些FR区,但所述FR区可以包括改善结合亲和力的一个或多个氨基酸取代。FR中这些氨基酸取代的数量通常在H链中不超过6个,并且在L链中不超过3个。所述人源化抗体任选地也可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。关于进一步的细节,参见Jones等人,Nature 321:522-525(1986); Reichmann等人,Nature 332:323-329(1988);以及Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。参见例如,Ahmed和Cheung,FEBS Letters 588(2):288-297(2014)。

[0135] 如本文所用,术语“高变区”是指抗体中负责抗原结合的氨基酸残基。高变区通常包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如,V_L中的残基24-34(L1)、50-56(L2)和89-97(L3)前后,以及V_H中的31-35B(H1)、50-65(H2)和95-102(H3)前后(Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版.Public Health Service,National Institutes of Health,贝塞斯达,马里兰州。(1991年))和/或来自“高变环”的那些残基(例如,V_L中的残基26-32(L1)、50-52(L2)和91-96(L3),以及V_H中的26-32(H1)、52A-55(H2)和96-101(H3)(Chothia和Lesk J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。

[0136] 如本文所用,当在两个或更多个核酸或多肽序列的上下文中使用时,术语“相同”或“同一性”百分比是指相同的两个或更多个序列或子序列或者具有指定百分比的相同氨基酸残基或核苷酸(即,当在比较窗口或特定区域上比较和比对以求最大对应时,在指定区域上(例如,编码本文所述抗体的核苷酸序列或本文所述抗体的氨基酸序列)约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性)的两个或更多个序列或子序列,如使用采用下文所述默认参数的BLAST或BLAST 2.0序列比较算法或通过手动比对和视觉检查(例如NCBI网站)测量的。则将此序列称为“基本上相同”。此术语也指或可以适用于测试序列的互补体。所述术语还包括具有缺失和/或添加的序列,以及具有取代的那些序列。在一些实施方案中,在长度为至少约25个氨基酸或核苷酸或长度为50-100个氨基酸或核苷酸的区域中存在同一性。

[0137] 如本文所用,术语“完整抗体”或“完整免疫球蛋白”意指具有通过二硫键相互连接的至少两个重(H)链多肽和两个轻(L)链多肽的抗体。每条重链由重链可变区(本文缩写为HCVR或V_H)和重链恒定区构成。重链恒定区由三个结构域CH₁、CH₂和CH₃构成。每条轻链由轻链可变区(本文缩写为LCVR或V_L)和轻链恒定区构成。轻链恒定区由一个结构域C_L构成。V_H和V_L区可以进一步细分为具有高变性的区域,称为互补决定区(CDR),散布有更保守的区域,

称为框架区 (FR)。每个 V_H 和 V_L 由三个CDR和四个FR组成,从氨基末端到羧基末端的排列顺序如下:FR₁、CDR₁、FR₂、CDR₂、FR₃、CDR₃、FR₄。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,所述宿主组织或因子包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)。

[0138] 如本文所用,术语“个体”、“患者”或“受试者”可以是单独生物体、脊椎动物、哺乳动物或人。在一些实施方案中,所述个体、患者或受试者是人。

[0139] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指从基本同质的抗体群体获得的抗体,即,除了可能少量存在的可能自然发生的突变之外,构成所述群体的单独抗体是相同的。例如,单克隆抗体可以是源自单一克隆(包括任何真核、原核或噬菌体克隆)而不是产生它的方法的抗体。单克隆抗体组合物对特定表位展示出单一结合特异性和亲和力。单克隆抗体针对单一抗原位点具有高度特异性。此外,与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的常规(多克隆)抗体制剂相比,每种单克隆抗体是针对抗原上的单一决定簇。修饰语“单克隆的”指示抗体的特征为是从基本上同质的抗体群体获得的,并且不应解释为需要通过任何特定方法产生所述抗体。可以使用本领域已知的多种技术来制备单克隆抗体,所述多种技术包括例如但不限于杂交瘤、重组和噬菌体展示技术。例如,待根据本发明方法使用的单克隆抗体可以通过最初由Kohler等人,Nature 256:495(1975)描述的杂交瘤方法制备,或者可以通过重组DNA方法(参见例如,美国专利号4,816,567)制备。例如,“单克隆抗体”也可以使用Clackson等人,Nature 352:624-628(1991)和Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1991)中描述的技术从噬菌体抗体文库分离。

[0140] 如本文所用,术语“药学上可接受的载体”旨在包括与药物给予相容的任何和全部溶剂、分散介质、包衣、抗菌化合物和抗真菌化合物、等渗化合物和吸收延迟化合物等。药学上可接受的载体及其配制品是本领域技术人员已知的,并且描述于例如Remington's Pharmaceutical Sciences(第20版,A.Gennaro,2000,Lippincott编,Williams&Wilkins,费城,宾夕法尼亚州)中。

[0141] 如本文所用,术语“多克隆抗体”意指源自至少两(2)种不同的产抗体细胞系的抗体的制剂。此术语的使用包括至少两(2)种抗体的制剂,所述制剂含有与抗原的不同表位或区域特异性地结合的抗体。

[0142] 如本文所用,术语“多核苷酸”或“核酸”意指任何RNA或DNA,其可以是未修饰的或修饰的RNA或DNA。多核苷酸包括但不限于单链和双链DNA、作为单链和双链区域的混合物的DNA、单链和双链RNA、作为单链和双链区域的混合物的RNA以及包含DNA和RNA的杂交分子,所述DNA和RNA可以是单链的或更通常是双链的或者单链和双链区域的混合物。此外,多核苷酸是指包含RNA或DNA或者RNA和DNA两者的三链区域。术语多核苷酸还包括含有一个或多个修饰碱基的DNA或RNA,以及出于稳定性或其他原因对骨架进行修饰的DNA或RNA。

[0143] 如本文所用,术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文可互换使用,意指包含通过肽键或经修饰的肽键(即肽电子等排体)彼此连接的两个或更多个氨基酸的聚合物。多肽既是指通常称为肽、糖肽或寡聚物的短链,也是指通常称为蛋白质的较长链。多肽可以含有除了20种基因编码的氨基酸之外的氨基酸。多肽包括通过天然过程(如翻译后加工)或通过本领域熟知的化学修饰技术修饰的氨基酸序列。此类修饰充分描述于基础教材和更详细的专题论文以及长篇研究文献中。

[0144] 如本文所用,“PRIT”或“预靶向放射免疫疗法”是指解决肿瘤靶向抗体的缓慢血液清除的多步骤过程,所述缓慢血液清除导致对正常组织如骨髓的不希望的毒性。在预靶向中,放射性核素或其他诊断或治疗剂附接至小型半抗原。首先给予具有针对半抗原以及靶抗原的结合位点的预靶向双特异性抗体。然后允许未结合的抗体从循环中清除,并且随后给予半抗原。

[0145] 如本文所用,术语“重组”当关于例如细胞或核酸、蛋白质或载体使用时,指示所述细胞、核酸、蛋白质或载体已通过引入异源核酸或蛋白质或者改变天然核酸或蛋白质而被修饰,或指示所述材料源自经如此修饰的细胞。因此,例如,重组细胞表达在所述细胞的天然(非重组)形式内未发现的基因,或者表达原本异常表达、表达不足或完全不表达的天然基因。

[0146] 如本文所用,术语“分开的”治疗使用是指通过不同途径同时或基本上同时给予至少两种活性成分。

[0147] 如本文所用,术语“顺序的”治疗使用是指在不同时间给予至少两种活性成分,给予途径相同或不同。更具体地,顺序使用是指一种活性成分的整个给予在另外一种或多种活性成分的给予开始之前进行。因此,可以在给予一种或多种活性成分之前几分钟、几小时或几天内给予另一种活性成分。在这种情况下,没有同时治疗。

[0148] 如本文所用,“特异性地结合”是指识别并结合另一个分子(例如抗原)但基本上不识别并结合其他分子的分子(例如抗体或其抗原结合片段)。如本文所用,术语“特异性结合”、“特异性地结合”或“特异于”特定分子(例如,碳水化合物抗原或碳水化合物抗原上的表位)可以例如通过一种分子对于其所结合的分子具有约 10^{-4}M 、 10^{-5}M 、 10^{-6}M 、 10^{-7}M 、 10^{-8}M 、 10^{-9}M 、 10^{-10}M 、 10^{-11}M 或 10^{-12}M 的 K_D 来展现。术语“特异性地结合”也可以指这样的结合,其中分子(例如,抗体或其抗原结合片段)与特定抗原(例如,高DP聚Sia)结合,而基本上不与任何其他抗原或抗原形式(例如,低DP聚Sia)结合。

[0149] 如本文所用,术语“同时的”治疗使用指通过相同的途径并且同时或基本上同时给予至少两种活性成分。

[0150] 如本文所用,术语“治疗剂”旨在意指当以有效量存在时对有需要的受试者产生期望的治疗效果的化合物。

[0151] 如本文所用,“治疗”(“treating”或“treatment”)涵盖治疗受试者如人中的本文所述疾病或障碍,并且包括:(i)抑制疾病或障碍,即阻止其发展;(ii)缓解疾病或障碍,即引起所述障碍的消退;(iii)减缓所述障碍的进展;和/或(iv)抑制、缓解或减缓所述疾病或障碍的一种或多种症状的进展。在一些实施方案中,治疗意指与疾病相关的症状例如得到减轻、降低、治愈或处于缓解状态。

[0152] 还应理解,如本文所述的障碍的各种治疗方式旨在意指“基本上的”,其包括完全治疗但也不到完全治疗,并且其中实现了一些生物学或医学有关的结果。治疗可以是针对慢性疾病的连续长期治疗,或者是治疗急性病症的单次或几次给予。

[0153] 考虑了本文描述的抗聚Sia抗体的一种或多种氨基酸序列修饰。例如,可能希望改善抗体的结合亲和力和/或其他生物学特性。通过将适当的核苷酸变化引入抗体核酸中或通过肽合起来制备抗聚Sia抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如抗体氨基酸序列内的残基缺失和/或插入和/或取代。只要获得的抗体具有所需的特性,就可以进行缺失、插入

和取代的任何组合以获得目的抗体。修饰还包括蛋白质糖基化模式的变化。进行取代诱变的最感兴趣的位点包括高变区,但是也考虑FR改变。“保守取代”显示在下表中。

表1.氨基酸取代		
原始残基	示例性取代	保守取代
Ala (A)	val ; leu ; ile	Val
Arg (R)	lys ; gln ; asn	lys
Asn (N)	gln ; his ; asp、lys ; arg	gln
Asp (D)	glu ; asn	glu
Cys (C)	ser ; ala	ser
Gln (Q)	asn ; glu	asn
Glu (E)	asp ; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn ; gln ; lys ; arg	arg
[0154] Ile (I)	leu ; val ; met ; ala ; phe ; 正亮氨酸	leu
Leu (L)	正亮氨酸 ; ile ; val ; met ; ala ; phe	ile
Lys (K)	arg ; gln ; asn	arg
Met (M)	leu ; phe ; ile	leu
Phe (F)	leu ; val ; ile ; ala ; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr ; phe	tyr
Tyr (Y)	trp ; phe ; thr ; ser	phe
Val (V)	ile ; leu ; met ; phe ; ala ; 正亮氨酸	leu

[0155] 一个类型的取代变体涉及取代亲本抗体的一个或多个高变区残基。用于生成此类取代变体的一种便利方法涉及使用噬菌体展示的亲合力成熟。特别地,使数个高变区位点(例如6-7个位点)突变,以在每个位点产生所有可能的氨基酸取代。将如此产生的抗体变体从丝状噬菌体颗粒以单价方式展示为与包装在每个颗粒中的M13的基因III产物的融合物。然后针对其生物活性(例如,结合亲和力)筛选噬菌体展示的变体,如本文所公开。为了鉴定用于修饰的候选高变区位点,可进行丙氨酸扫描诱变以鉴定对抗原结合有显著贡献的高变区残基。可替代地或另外地,分析抗原-抗体复合物的晶体结构以鉴定抗体和抗原之间的接

触点可能是有益的。根据本文详述的技术,此类接触残基及邻近残基是取代的候选物。一旦产生了此类变体,就对这组变体进行如本文所述的筛选,并且可以选择在一种或多种相关测定中具有相似或更优特性的抗体进行进一步开发。

[0156] 聚唾液酸

[0157] 发现唾液酸本身也能以多达200个残基的长链连接在一起,称为聚唾液酸(聚Sia),它们经由 α 2-8键连接,并且主要发现于神经细胞粘附分子(NCAM)以及其他蛋白质的N-连接的寡糖的外链上(Finne, J., 等人Biochem Biophys Res Commun 112,482-487 (1983))。NCAM在神经外胚层起源的细胞上表达,并且在神经组织发育和再生中发挥作用(Sadoul, R., 等人Nature 304,347-349(1983))。聚Sia调节NCAM分子之间的同嗜性相互作用以及与其他粘附分子的异嗜性相互作用(Schreiber, S.C., 等人Gastroenterology 134,1555-1566 (2008))。聚Sia的生物学特性取决于聚合度(DP),所述聚合度在胚胎发育中较高,但是在成年组织中较低(Rutishauser, U. Nat Rev Neurosci 9,26-35(2008))。高DP聚Sia示出了对细胞粘附的抑制作用(Muhlenhoff, M., 等人Curr Opin Struct Biol 8,558-564(1998); Johnson, C.P., 等人J Biol Chem 280,137-145(2005)),并且在几种转移性癌症上表达,所述转移性癌症包括小细胞和非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、胰腺癌、垂体瘤、维尔姆斯瘤、横纹肌肉瘤(Falconer, R.A., 等人Curr Cancer Drug Targets 12,925-939 (2012))、胶质母细胞瘤(Amoureux, M.C., 等人BMC Cancer 10,91 (2010))和乳腺癌(Wang, X., 等人Int J Mol Med 37,197-206(2016))。在神经母细胞瘤中,聚Sia的DP大于55个Sia单元(Livingston, B.D., 等人J Biol Chem 263,9443-9448(1988))。由于聚Sia在多种肿瘤类型中广泛表达,并且在大多数成年组织中几乎不存在,因此聚Sia是癌症免疫疗法的靶标。

[0158] 针对单唾液酸和二唾液酸(1-2个Sia单元)、寡唾液酸(3-5个Sia单元)和聚Sia(至少8个Sia单元),已经开发了几种单克隆抗体。参见Sato, C., and Kitajima, K. J Biochem 154,115-136(2013)。其中只有鼠mAb735(Bitter-Suermann, D., and Roth, J. Immunol Res 6,225-237(1987))被描述为对高DP的聚Sia(需要至少11个Sia单元)具有最高的特异性(Sato, C., 和Kitajima, K. J Biochem 154,115-136(2013))。对mAb735的结合动力学的进一步研究表明,对具有高DP的聚Sia(约200个Sia单元)具有高亲和力(亚纳摩尔解离常数 K_D),并且对较低聚合度的亲和力逐渐减弱(Hayrinen, J., 等人Mol Immunol 39,399-411 (2002))。

[0159] 本技术的免疫球蛋白相关组合物

[0160] 本技术描述了用于产生和使用抗聚Sia免疫球蛋白相关组合物(例如,抗聚Sia抗体或其抗原结合片段)的方法和组合物。本公开文本的抗聚Sia免疫球蛋白相关组合物可用于诊断或治疗聚Sia相关癌症。在本技术范围内的抗聚Sia免疫球蛋白相关组合物包括但不限于特异性地结合聚Sia、其同源物、衍生物或片段的单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体和双抗体。在本技术范围内的抗聚Sia免疫球蛋白相关组合物还包括双特异性抗体形式的组合物,以增强抗肿瘤效力(例如,经由T细胞募集或有效载荷递送)。本公开文本还提供本文公开的任何抗聚Sia抗体的抗原结合片段,其中所述抗原结合片段选自Fab、F(ab)'₂、Fab'、scF_v和F_v。根据Kabat系统定义本文公开的免疫球蛋白相关组合物的CDR区的氨基酸序列。

[0161] 在一方面,本发明技术提供了包含重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)和轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)的抗体或其抗原结合片段,其中(a)所述 V_H 包含选自DYYIH(SEQ ID NO:1)、RYYIH(SEQ ID NO:7)、GYIH(SEQ ID NO:8)和NYIH(SEQ ID NO:9)的 V_H -CDR1序列,选自WIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:2)、SIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:10)、RIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:11)、CIYPGSGNTKYNEKFKG(SEQ ID NO:12)、WIYPGSGNTKYNEKFEG(SEQ ID NO:13)、WIYPGSGNTKYNQKFQG(SEQ ID NO:14)、WIYPGSGNTKYSQKFQG(SEQ ID NO:15)、WIYPGSGNTKYSEKFQG(SEQ ID NO:16)和WIYPGSGNTKYSQKFKG(SEQ ID NO:18)的 V_H -CDR2序列以及GGKFAMDY(SEQ ID NO:3)的 V_H -CDR3序列;和/或(b)所述 V_L 包含选自RSSQSLVHSNGNTYLY(SEQ ID NO:4)和RSSQSLVHSNGKTYLY(SEQ ID NO:20)的 V_L -CDR1序列,RVSNRFS(SEQ ID NO:5)的 V_L -CDR2序列以及选自FQGTHVPYT(SEQ ID NO:6)、FQGTHVPYI(SEQ ID NO:21)和FQGTPEPYT(SEQ ID NO:22)的 V_L -CDR3序列。

[0162] 在一些实施方案中,本公开文本提供了包含重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)和轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)的抗体或其抗原结合片段,其中(a) V_H 包含SEQ ID NO:1的 V_H -CDR1序列、SEQ ID NO:2的 V_H -CDR2序列、SEQ ID NO:3的 V_H -CDR3序列;和/或(b) V_L 包含选自以下的 V_L -CDR1序列、 V_L -CDR2序列和 V_L -CDR3序列:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6;SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:22。

[0163] 在一些实施方案中,本公开文本提供了包含轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)和重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)的抗体或其抗原结合片段,其中(a) V_L 包含SEQ ID NO:4的 V_L -CDR1序列、SEQ ID NO:5的 V_L -CDR2序列、SEQ ID NO:6的 V_L -CDR3序列;和/或(b) V_H 包含选自以下的 V_H -CDR1序列、 V_H -CDR2序列和 V_H -CDR3序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3;以及SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:3。

[0164] 在一些实施方案中,本公开文本提供了包含重链免疫球蛋白可变结构域(V_H)和轻链免疫球蛋白可变结构域(V_L)的抗体或其抗原结合片段,其中 V_H 包含 V_H -CDR1序列、 V_H -CDR2序列和 V_H -CDR3序列,并且 V_L 包含 V_L -CDR1序列、 V_L -CDR2序列和 V_L -CDR3序列,这些序列选自以下:a)分别为SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6;b)分别为SEQ ID NO:1、2、3、4、5和22;c)分别为SEQ ID NO:1、2、3、20、5和6;d)分别为SEQ ID NO:1、11、3、4、5和6;e)分别为SEQ ID NO:1、12、3、4、5和6;f)分别为SEQ ID NO:1、13、3、4、5和6;g)分别为SEQ ID NO:1、13、3、4、5和21;h)分别为SEQ ID NO:7、2、3、4、5和6;i)分别为7、11、3、4、5和6;j)分别为SEQ ID NO:8、10、3、4、5和6;k)分别为8、12、3、4、5和6;l)分别为SEQ ID NO:9、11、3、4、5和6;以及m)分别为SEQ ID NO:9、12、3、4、5和6。

[0165] 在一些实施方案中,所述抗体进一步包含任何同种型的Fc结构域,所述同种型例如但不限于IgG(包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)、IgA(包括IgA₁和IgA₂)、IgD、IgE或IgM和IgY。

恒定区序列的非限制性例子包括:

[0166] 人IgD恒定区,Uniprot:P01880(SEQ ID NO:85)

[0167] APTKAPDVFPIISGCRHPKDNSPVVLA CLITGYHPTSVTVTWYMGTSQSPQRTFPEIQRRDSYYMTSSQ
LSTPLQQWRQGEYKCVVQHTASKSKKEIFRWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEK
EKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERH
SNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFS
PPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSyv
TDHGPMK

[0168] 人IgG1恒定区,Uniprot:P01857(SEQ ID NO:86)

[0169] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0170] 人IgG2恒定区,Uniprot:P01859(SEQ ID NO:87)

[0171] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSNFGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0172] 人IgG3恒定区,Uniprot:P01860(SEQ ID NO:88)

[0173] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPE
PKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMEALHNHRTQKSLSLSPGK

[0174] 人IgM恒定区,Uniprot:P01871(SEQ ID NO:89)

[0175] GSASAPTLFPLVSCENSPTSSTSSAVGCLAQDFLPDSITLSWKYKNNSDISSTRGFPSVLRGGKYAATS
QVLLPSKDVMTGTDEHVCKVQHPNGNKEKNVLPVIAELPPKVSFVPPRDGFFGNPRKSKLICQATGFSRQIQV
SWLREGKQVGSVTTDQVQAEAKESGPTTYKVSTLTIKESDWLGQSMFTCRVDHRGLTFQQNASSMCVPDQDQTAIR
VFAIPPSFASIFLTKSTKLTLCLVDTLTYDSVTISWTRQNGEAVKHTHTNISESHPNATFSAVGEASICEDDWNNGER
FTCTVTHTDLPSPKQTISRPKGVALHRPDVYLLPPAREQLNLRESATITCLVTGFSPADVFVQWMQRGQPLSPEKY
VTSAPMPEPQAPGRYFAHSILTVSEEEWNTGETYTCAHEALPNRVTERTVDKSTGKPTLYNVSLVMSDTAGTCY

[0176] 人IgG4恒定区,Uniprot:P01861(SEQ ID NO:90)

[0177] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0178] 人IgA1恒定区,Uniprot:P01876(SEQ ID NO:91)

[0179] ASPTSPKVFPLSLCSTQPDGNVVIACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQGVNTARNFPPSQDASGDLYTTSSQ
LTLPATQCLAGKSVTCHVKHYTNPSQDVTVPVPCVPSTPPTPSPSTPPTPSPSCCHPRLSLHRPALEDLLLGEANLT
CTLTGLRDASGVTFTWTPSSGKSAVQGPPERDLGCGYSVSSVLPGCAEPWNHGKTFTCTAAYPESKTPLTATLSKSG
NTFRPEVHLLPPPSEELALNELVTLTCLARGFSPKDVLRWLQGSQELPREKYLTWASRQEPSQGTTTTFAVTSILRV
AAEDWKKGDTFSCMVGHEALPLAFTQKTIDRLAGKPETHVNVSVVMAEVDGTCY

[0180] 人IgA2恒定区,Uniprot:P01877(SEQ ID NO:17)

[0181] ASPTSPKVFPLSLDSTPQDGNVVVACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQNVNTARNFPPSQDASGDLYTTSSQ
LTLPATQCPDGKSVTCHVKHYTNPSQDVTVPVPPPPPCCHPRLSLHRPALEDLLGSEANLTCTLTGLRDASGAT
FTWTPSSGKSAVQGPPERDLGCGYSVSSVLPGCAQPWNHGETFTCTAAHPELKTPLTANITKSGNTFRPEVHLLPPP
SEELALNELVTLTCLARGFSPKDVLRWLQGSQELPREKYLTWASRQEPSQGTTTTFAVTSILRVAEDWKKGDTFSC
MVGHEALPLAFTQKTIDRMAGKPETHVNVSVVMAEVDGTCY

[0182] 人Igκ恒定区,Uniprot:P01834(SEQ ID NO:19)

[0183] TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLS
TLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0184] 在一些实施方案中,本技术的免疫球蛋白相关组合物包含与SEQ ID NO:17或85-91至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少99%或100%相同的重链恒定区。另外地或可替代地,在一些实施方案中,本技术的免疫球蛋白相关组合物包含与SEQ ID NO:19至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少99%或100%相同的轻链恒定区。在一些实施方案中,本技术的免疫球蛋白相关组合物与高DP聚Sia(例如约10-20个Sia单元、约20-30个Sia单元、约30-50个Sia单元、约50-70个Sia单元、约70-100个Sia单元、约100-200个Sia单元或约200-400个Sia单元的DP)结合。在一些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段与例如具有DP>10、DP>20、DP>50、DP>100或DP>200的高DP聚Sia结合。在一些实施方案中,所述表位是高DP聚Sia特有的构象表位。在一些实施方案中,所述构象表位包括3个或更多个Sia单元。在一些实施方案中,所述3个或更多个Sia单元可以是连续的单元。

[0185] 在另一方面,本公开文本提供了分离的免疫球蛋白相关组合物(例如,抗体或其抗原结合片段),其包含含有SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81的重链(HC)氨基酸序列或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体。

[0186] 另外地或可替代地,在一些实施方案中,本技术的免疫球蛋白相关组合物包含含有SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84的轻链(LC)氨基酸序列或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体。

[0187] 在一些实施方案中,本技术的免疫球蛋白相关组合物包含分别选自以下的HC氨基酸序列和LC氨基酸序列:SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24(嵌合P35);SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:28(人源化P35 H1L2);SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:27(人源化P35 H1L1);SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:28(人源化P35 H2L2);SEQ ID NO:26和SEQ ID NO:27(人源化P35 H2L1);SEQ

ID NO:48和SEQ ID NO:49(BC137);SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:52(BC137 KS2);SEQ ID NO:53和SEQ ID NO:54(BC137 KS34);SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:49(BC137 DS47);SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:49(BC137DS54);SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:49(BC137 DS47 D31R);SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:49(BC137 DS54 D31R);SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:50(BC137-2 DS47);SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:50(BC137-2 DS54);SEQ ID NO:59和SEQ ID NO:60(BC163);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:82(重人源化P35H1L1);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:82(重人源化P35H2L1);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:82(重人源化P35H3L1);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:82(重人源化P35H4L1);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:82(重人源化P35H5L1);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:82(重人源化P35H6L1);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:82(重人源化P35H7L1);SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:82(重人源化P35H8L1);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:83(重人源化P35H1L2);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:83(重人源化P35H2L2);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:83(重人源化P35H3L2);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:83(重人源化P35H4L2);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:83(重人源化P35H5L2);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:83(重人源化P35H6L2);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:83(重人源化P35H7L2);SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:83(重人源化P35H8L2);SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:84(重人源化P35H1L3);SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:84(重人源化P35H2L3);SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:84(重人源化P35H3L3);SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:84(重人源化P35H4L3);SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:84(重人源化P35H5L3);SEQ ID NO:79和SEQ ID NO:84(重人源化P35H6L3);SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:84(重人源化P35H7L3);和SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:84(重人源化P35H8L3)。

[0188] 在免疫球蛋白相关组合物的上述实施方案中的任何一个中,所述HC和LC免疫球蛋白可变结构域序列形成抗原结合位点,所述抗原结合位点与高DP聚Sia(例如约10-20个Sia单元、约20-30个Sia单元、约30-50个Sia单元、约50-70个Sia单元、约70-100个Sia单元、约100-200个Sia单元或约200-400个Sia单元的DP)结合。在一些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段与例如具有DP>10、DP>20、DP>50、DP>100或DP>200的高DP聚Sia结合。在一些实施方案中,所述表位是高DP聚Sia特有的构象表位。在一些实施方案中,所述构象表位包括3个或更多个Sia单元。在一些实施方案中,所述3个或更多个Sia单元可以是连续的单元。

[0189] 在一些实施方案中,HC和LC免疫球蛋白可变结构域序列是同一多肽链的组分。在其他实施方案中,HC和LC免疫球蛋白可变结构域序列是不同多肽链的组分。在某些实施方案中,所述抗体是全长抗体。

[0190] 在一些实施方案中,本技术的免疫球蛋白相关组合物与聚Sia特异性地结合。在一些实施方案中,本技术的免疫球蛋白相关组合物以约 10^{-3} M、 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M或 10^{-12} M的解离常数(K_D)结合高DP聚Sia。在某些实施方案中,免疫球蛋白相关组合物是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体或双特异性抗体。在一些实施方案中,所述抗体包含人抗体框架区。

[0191] 在某些实施方案中,所述免疫球蛋白相关组合物包括一种或多种以下特征:(a)与SEQ ID NO:37、39、41、43、44、45、47、24、27、28、49、50、52、54、60、82、83或84中任何一个中存在的轻链免疫球蛋白可变结构域序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%相同的轻链免疫球蛋白可变结构域序列;和/或(b)与SEQ ID NO:30、31、32、33、34、35、

36、38、40、42、46、23、25、26、29、48、51、53、55、56、57、58、59、74、75、76、77、78、79、80或81中任何一个中存在的重链免疫球蛋白可变结构域序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%相同的重链免疫球蛋白可变结构域序列。在另一个方面,本文提供的免疫球蛋白相关组合物中的一个或多个氨基酸残基被另一个氨基酸取代。取代可以是如本文所定义的“保守取代”。

[0192] 在一些实施方案中,所述免疫球蛋白相关组合物包含具有SEQ ID NO:61-73中任一个的氨基酸序列的scFv。

[0193] 在一些实施方案中,所述免疫球蛋白相关组合物包含(a)与SEQ ID NO:24、27、28、49、50、52、54、60、82、83或84中任何一个中存在的LC序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%相同的LC序列;和/或(b)与SEQ ID NO:23、25、26、29、48、51、53、55、56、57、58、59、74、75、76、77、78、79、80或81中任何一个中存在的HC序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%相同的HC序列。

[0194] 在某些实施方案中,免疫球蛋白相关组合物包含含有选自N297A和K322A的一个或多个氨基酸取代的IgG1恒定区。另外地或可替代地,在一些实施方案中,免疫球蛋白相关组合物包含含有S228P突变的IgG4恒定区。

[0195] 示例性抗聚Sia免疫球蛋白相关组合物的氨基酸和核苷酸序列在例如图15-65中示出。

[0196] 在一些方面,本文描述的抗聚Sia免疫球蛋白相关组合物含有结构修饰以促进快速结合和细胞吸收和/或缓慢释放。在一些方面,本技术的抗聚Sia免疫球蛋白相关组合物(例如,抗体)可以在CH2恒定重链区中含有缺失,以促进快速结合和细胞吸收和/或缓慢释放。在一些方面,Fab片段用于促进快速结合和细胞吸收和/或缓慢释放。在一些方面,F(ab)₂片段用于促进快速结合和细胞吸收和/或缓慢释放。

[0197] 在一个方面,本技术提供了编码本文所述的免疫球蛋白相关组合物的重链或轻链的核酸序列。本文还公开了编码本文所述任何抗体的重组核酸序列。在一些实施方案中,所述核酸序列选自SEQ ID NO:92-108。在另一个方面,本技术提供了宿主细胞,其表达编码本文所述的免疫球蛋白相关组合物的重链或轻链的任何核酸序列。

[0198] 本技术的免疫球蛋白相关组合物(例如,抗聚Sia抗体)可以是单特异性的、双特异性的、三特异性的或具有更大的多特异性。多特异性抗体可以对具有不同聚合度的聚Sia具有特异性,或者可以对聚Sia以及对异源组合物(如异源多肽或固体支持物材料)两者均具有特异性。参见例如,WO 93/17715;WO 92/08802;WO 91/00360;WO 92/05793;Tutt等人,J. Immunol. 147:60-69(1991);美国专利号5,573,920、4,474,893、5,601,819、4,714,681、4,925,648;6,106,835;Kostelny等人,J. Immunol. 148:1547-1553(1992)。在一些实施方案中,免疫球蛋白相关组合物是嵌合的。在某些实施方案中,免疫球蛋白相关组合物是人源化的。

[0199] 本技术的免疫球蛋白相关组合物可以进一步在N-末端或C-末端与异源多肽重组融合,或者与多肽或其他组合物化学缀合(包括共价和非共价缀合)。例如,本技术的免疫球蛋白相关组合物可以与可用作检测测定中的标记的分子和效应分子(如异源多肽、药物或毒素)重组融合或缀合。参见例如,WO 92/08495;WO 91/14438;WO 89/12624;美国专利号5,314,995;以及EP 0 396 387。

[0200] 在本技术的免疫球蛋白相关组合物的上述实施方案中的任何一个中,抗体或抗原结合片段可以任选地与选自以下的药剂缀合:同位素、染料、色原、造影剂、药物、毒素、细胞因子、酶、酶抑制剂、激素、激素拮抗剂、生长因子、放射性核素、金属、脂质体、纳米颗粒、RNA、DNA或其任何组合。对于化学键或物理结合,免疫球蛋白相关组合物上的官能团通常与药剂上的官能团缔合。可替代地,药剂上的官能团与免疫球蛋白相关组合物上的官能团缔合。

[0201] 药剂上的官能团和免疫球蛋白相关组合物上的官能团可以直接缔合。例如,药剂上的官能团(例如巯基)可以与免疫球蛋白相关组合物上的官能团(例如巯基)缔合以形成二硫键。可替代地,官能团可以通过交联剂(即,接头)缔合。交联剂的一些例子描述如下。交联剂可以附接至药剂或免疫球蛋白相关组合物。缀合物中的药剂或免疫球蛋白相关组合物的数量也受到对方上存在的官能团数量的限制。例如,与缀合物缔合的药剂的最大数量取决于免疫球蛋白相关组合物上存在的官能团的数量。可替代地,与药剂缔合的免疫球蛋白相关组合物的最大数量取决于药剂上存在的官能团的数量。

[0202] 在又一个实施方案中,缀合物包含与一种药剂缔合的一种免疫球蛋白相关组合物。在一个实施方案中,缀合物包含与至少一种免疫球蛋白相关组合物化学键合(例如缀合)的至少一种药剂。可以通过本领域技术人员已知的任何方法将药剂与免疫球蛋白相关组合物化学键合。例如,药剂上的官能团可以直接附接至免疫球蛋白相关组合物上的官能团。合适的官能团的一些例子包括例如氨基、羧基、巯基、马来酰亚胺、异氰酸酯、异硫氰酸酯和羟基。

[0203] 也可以通过交联剂(如二醛、碳二亚胺、二马来酰亚胺等)将药剂与免疫球蛋白相关组合物化学键合。交联剂可以例如从伊利诺伊州罗克福德的Pierce Biotechnology, Inc.获得。Pierce Biotechnology, Inc.网站可以提供帮助。另外的交联剂包括以下文献中描述的铂交联剂:荷兰阿姆斯特丹的Kreatech Biotechnology, B.V.的美国专利号5,580,990;5,985,566;和6,133,038。

[0204] 可替代地,药剂和免疫球蛋白相关组合物上的官能团可以是相同的。同双官能交联剂通常用于交联相同的官能团。同双官能交联剂的例子包括EGS(即乙二醇双[琥珀酰亚胺基琥珀酸酯])、DSS(即二琥珀酰亚胺基辛二酸酯)、DMA(即己二亚胺酸二甲酯·2HCl)、DTSSP(即3,3'-二硫代双[磺基琥珀酰亚胺基丙酸酯])、DPDPB(即1,4-二-[3'-(2'-吡啶基二硫代)-丙酰胺基]丁烷)和BMH(即双马来酰亚胺己烷)。此类同双官能交联剂也可从Pierce Biotechnology, Inc.获得。

[0205] 在其他情况下,从免疫球蛋白相关组合物切割药剂可能是有益的。上述Pierce Biotechnology, Inc.的网站还可以为本领域技术人员在选择合适的交联剂方面提供帮助,所述交联剂可以通过例如细胞中的酶切割。由此,可以将药剂与免疫球蛋白相关组合物分离。可切割的接头的例子包括SMPT(即4-琥珀酰亚胺基氧基羰基-甲基- α -[2-吡啶基二硫代]甲苯)、磺基-LC-SPDP(即磺基琥珀酰亚胺基6-(3-[2-吡啶基二硫代]-丙酰胺基)己酸酯)、LC-SPDP(即琥珀酰亚胺基6-(3-[2-吡啶基二硫代]-丙酰胺基)己酸酯)、磺基-LC-SPDP(例如磺基琥珀酰亚胺基6-(3-[2-吡啶基二硫代]-丙酰胺基)己酸酯)、SPDP(即N-琥珀酰亚胺基3-[2-吡啶基二硫代]-丙酰胺基己酸酯)和AEDP(即3-[(2-氨基乙基)二硫代]丙酸HCl)。

[0206] 在另一个实施方案中,缀合物包含与至少一种与免疫球蛋白相关组合物物理结合的至少一种药剂。可以采用本领域技术人员已知的任何方法将药剂与免疫球蛋白相关组合物物理结合。例如,可以通过本领域技术人员已知的任何方法将免疫球蛋白相关组合物和药剂混合。混合的顺序并不重要。例如,可以通过本领域技术人员已知的任何方法将药剂与免疫球蛋白相关组合物物理混合。例如,可以将免疫球蛋白相关组合物和药剂放置在容器中,并通过例如摇动容器进行搅拌,以混合免疫球蛋白相关组合物和药剂。

[0207] 免疫球蛋白相关组合物可以通过本领域技术人员已知的任何方法进行修饰。例如,如上所述,可以通过交联剂或官能团来修饰免疫球蛋白相关组合物。

[0208] A. 制备本技术的抗聚Sia抗体的方法

[0209] 概述。首先,选择靶聚Sia种类,可以针对所述靶聚Sia种类产生本技术的抗体。例如,可以针对例如具有DP>10、DP>20、DP>50、DP>100或DP>200的高DP聚Sia产生抗体。用于产生针对此类靶抗原的抗体的技术是本领域技术人员熟知的。此类技术的例子包括但不限于涉及展示文库、异种或人小鼠、杂交瘤等的技术。本文描述了对聚Sia具有特异性的抗体的制备。

[0210] 应当理解,针对聚Sia的重组工程化抗体和抗体片段(例如抗体相关多肽)适合根据本公开文本使用。

[0211] 可以经受本文所述技术的抗聚Sia抗体包括单克隆抗体和多克隆抗体,以及抗体片段(如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、scFv)、双抗体、抗体轻链、抗体重链和/或抗体片段。已经描述了可用于高产量产生含抗体Fv的多肽例如Fab'和F(ab')₂抗体片段的方法。参见美国专利号5,648,237。

[0212] 通常,抗体是从起源物种获得的。更特别地,获得了对靶抗原具有特异性的起源物种抗体的轻链、重链或两者的可变部分的核酸或氨基酸序列。起源物种是可用于产生本技术的抗体或抗体文库的任何物种,例如大鼠、小鼠、兔子、鸡、猴、人等。

[0213] 噬菌体或噬菌粒展示技术是可用于衍生本技术抗体的技术。用于产生和克隆单克隆抗体的技术是本领域技术人员熟知的。编码本技术的抗体的序列的表达可以在大肠杆菌中进行。

[0214] 由于核酸编码序列的简并性,编码与天然存在的蛋白质的那些氨基酸序列基本相同的氨基酸序列的其他序列可用于本技术的实践中。这些序列包括但不限于包括编码上述多肽的全部或部分核酸序列在内的核酸序列,所述核酸序列通过编码序列内功能等同氨基酸残基的不同密码子的取代而发生改变,从而产生沉默变化。应当理解,根据本技术的免疫球蛋白的核苷酸序列容许如通过标准方法计算的高达25%的序列同源性变化(“Current Methods in Sequence Comparison and Analysis,”Macromolecule Sequencing and Synthesis,Selected Methods and Applications,第127-149页,1998,Alan R.Liss, Inc.),只要这种变体形成识别聚Sia种类的有效抗体即可。例如,多肽序列内的一个或多个氨基酸残基可以被具有相似极性的另一个氨基酸取代,所述另一个氨基酸充当功能等同物,从而导致沉默改变。序列内氨基酸的取代基可以选自所述氨基酸所属的类别的其他成员。例如,非极性(疏水性)氨基酸包括丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和甲硫氨酸。极性中性氨基酸包括甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺。带正电的(碱性)氨基酸包括精氨酸、赖氨酸和组氨酸。带负电的(酸性)

氨基酸包括天冬氨酸和谷氨酸。在本技术范围内还包括蛋白质或其片段或衍生物,所述蛋白质或其片段或衍生物在翻译过程中或翻译后进行差异性修饰,例如通过糖基化、蛋白水解切割、与抗体分子或其他细胞配体的连接等来进行。另外,可以使编码免疫球蛋白的核酸序列在体外或体内突变,以产生和/或破坏序列的翻译、起始和/或终止,或者在编码区产生变异和/或形成新的限制性核酸内切酶位点或破坏先前存在的所述位点,以促进进一步的体外修饰。可以使用本领域中已知的任何诱变技术,包括但不限于体外定点诱变(J.Biol.Chem.253:6551)、使用Tab接头(Pharmacia)等。

[0215] 多克隆抗血清和免疫原的制备。产生本技术的抗体或抗体片段的方法通常包括用纯化的聚Sia靶标(例如,如具有DP>10、DP>20、DP>50、DP>100或DP>200的高DP聚Sia)或用表达高DP聚Sia的聚Sia(+)细胞系免疫受试者(通常是非人类受试者,例如小鼠或兔子)。适当的免疫原性制剂可以含有例如重组表达的聚Sia种类或化学合成的聚Sia种类。

[0216] 如有需要,可以通过与半抗原(如钥孔戚血蓝蛋白(KLH)或卵清蛋白(OVA))融合或缀合来提高聚Sia靶标的免疫原性。许多此类半抗原是本领域已知的。还可以将聚Sia靶标与常规佐剂(如弗氏完全或不完全佐剂)组合,以增强受试者对所述多肽的免疫反应。用于提高免疫应答的各种佐剂包括但不限于弗氏(完全和不完全)、矿物凝胶(例如氢氧化铝)、表面活性物质(例如溶血卵磷脂、普朗尼克多元醇、聚阴离子、肽、油乳剂、二硝基苯酚等)、人用佐剂(如卡介苗(Bacille Calmette-Guerin)和短小棒状杆菌(*Corynebacterium parvum*))或类似的免疫刺激化合物。这些技术在本领域中是标准的。

[0217] 在描述本技术时,免疫应答可以被描述为“初级”或“次级”免疫应答。初级免疫应答,也称为“保护性”免疫应答,是指由于初始暴露(例如,初始“免疫”)于特定抗原(例如高DP聚Sia)而在个体中产生的免疫应答。在一些实施方案中,可以通过用含有抗原的疫苗对个体进行疫苗接种来进行免疫。例如,所述疫苗可以是包含一种或多种高DP聚Sia种类的聚Sia疫苗。随着时间的推移,初级免疫应答可能会削弱或减弱,甚至可能消失或至少变得减弱到无法检测到。因此,本技术还涉及“次级”免疫应答,在此也称为“记忆免疫应答”。术语次级免疫应答是指在已经产生初级免疫应答之后在个体中引发的免疫应答。

[0218] 因此,可以引发次级免疫应答,例如以增强已经削弱或减弱的现有免疫应答,或者重新产生已经消失或无法再被检测到的先前免疫应答。次级或记忆免疫应答可以是体液(抗体)应答或细胞应答。在对首次呈递抗原时产生的记忆B细胞进行刺激后发生次级或记忆体液应答。迟发型超敏(DTH)反应是CD4⁺ T细胞介导的细胞次级或记忆免疫应答的类型。首次暴露于抗原启动免疫系统,并且另外的一次或多次暴露导致DTH。

[0219] 适当的免疫后,可以从受试者的血清制备抗聚Sia抗体。如果需要,可以从哺乳动物(例如从血液)分离针对聚Sia靶标的抗体分子,并通过熟知的技术如多肽A色谱进一步纯化以获得IgG级分。

[0220] 单克隆抗体。在本技术的一个实施方案中,抗体是抗聚Sia单克隆抗体。例如,在一些实施方案中,抗聚Sia单克隆抗体可以是人或小鼠抗聚Sia单克隆抗体。为了制备针对高DP聚Sia蛋白的单克隆抗体或其衍生物、片段、类似物或同源物,可以使用通过连续细胞系培养产生抗体分子的任何技术。此类技术包括但不限于杂交瘤技术(参见例如,Kohler和Milstein,1975.Nature 256:495-497);三源杂交瘤技术;人B细胞杂交瘤技术(参见例如,Kozbor等人,1983.Immunol.Today 4:72)和EBV杂交瘤技术来产生人单克隆抗体(参见例

如,Cole等人,1985.In:MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY,Alan R.Liss, Inc.,第77-96页)。人单克隆抗体可以用于本技术的实践中,并可以通过使用人杂交瘤(参见例如,Cote等人,1983.Proc.Natl.Acad.Sci.USA 80:2026-2030)或通过在体外用埃伯斯坦-巴尔(Epstein Barr)病毒转化人B细胞(参见例如,Cole等人,1985.In:MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY,Alan R.Liss,Inc.,第77-96页)产生。例如,可以分离编码抗体区域的核酸群。将利用衍生自编码抗体保守区的序列的引物的PCR用于从所述群体扩增编码抗体部分的序列,然后从扩增的序列重建编码抗体或其片段(如可变结构域)的DNA。此类扩增的序列也可以与编码其他蛋白质-例如噬菌体外壳或细菌细胞表面蛋白的DNA融合,以在噬菌体或细菌上表达和展示融合多肽。然后可以表达扩增的序列,并基于例如表达的抗体或其片段对高DP聚Sia或其衍生物、片段、类似物或同源物的亲和力来进行进一步选择或分离。可替代地,可以通过对受试者进行免疫并随后使用常规方法从受试者的脾脏分离杂交瘤来制备表达抗聚Sia单克隆抗体的杂交瘤。参见例如,Milstein等人(Galfre和Milstein,Methods Enzymol(1981)73:3-46)。使用标准方法筛选杂交瘤将产生具有不同特异性(即针对不同表位)和亲和力的单克隆抗体。可以使用如由杂交瘤表达的具有所需特性(例如,高DP聚Sia结合)的所选单克隆抗体,可以将其与分子(如聚乙二醇(PEG))结合以改变其特性,或者可将编码所述单克隆抗体的cDNA以各种方式进行分离、测序和操纵。其他操纵包括使得促成抗体在储存过程中或在给予至受试者后的不稳定性的特定氨基酸残基被取代或缺失,以及用以改善抗聚Sia抗体对高DP聚Sia的亲和力的亲和力成熟技术。

[0221] 杂交瘤技术。在一些实施方案中,本技术的抗体是由杂交瘤产生的抗聚Sia单克隆抗体,所述杂交瘤包括获自转基因非人动物(例如转基因小鼠)的B细胞,所述转基因非人动物具有包含与永生化细胞融合的人重链转基因和轻链转基因的基因组。杂交瘤技术包括本领域已知的并且在以下文献中传授的那些:Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,纽约州,349(1988); Hammerling等人,Monoclonal Antibodies And T-Cell Hybridomas,563-681(1981)。用于产生杂交瘤和单克隆抗体的其他方法是本领域技术人员熟知的。

[0222] 噬菌体展示技术。如上所述,可以通过应用重组DNA和噬菌体展示技术来产生本技术的抗体。例如,可以使用本领域已知的各种噬菌体展示方法来制备抗聚Sia抗体。在噬菌体展示方法中,功能性抗体结构域展示在噬菌体颗粒的表面上,所述噬菌体颗粒携带编码所述功能性抗体结构域的多核苷酸序列。通过直接用抗原(通常是结合或捕获到固体表面或珠粒上的抗原)选择,从库或组合抗体文库(例如人或鼠)选择具有所需结合特性的噬菌体。这些方法中使用的噬菌体通常是丝状噬菌体,其包括具有Fab、Fv或二硫键稳定的Fv抗体结构域的fd和M13,所述结构域与噬菌体基因III或基因VIII蛋白重组融合。此外,方法可以适用于Fab表达文库的构建(参见例如,Huse等人,.Science 246:1275-1281,1989),以允许快速且有效地鉴定对高DP聚Sia或其衍生物、片段、类似物或同源物具有所希望特异性的单克隆Fab片段。可以用于制造本技术的抗体的噬菌体展示方法的其他例子包括以下文献中所披露的那些:Huston等人,Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A.,85:5879-5883,1988; Chaudhary等人,Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A.,87:1066-1070,1990;Brinkman等人,J.Immunol.Methods 182:41-50,1995;Ames等人,J.Immunol.Methods 184:177-186,1995;

Kettleborough等人, Eur. J. Immunol. 24:952-958, 1994; Persic等人, Gene 187:9-18, 1997; Burton等人, Advances in Immunology 57:191-280, 1994; PCT/GB91/01134; WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; WO 96/06213; WO 92/01047 (医学研究委员会等人); WO 97/08320 (Morphosys); WO 92/01047 (CAT/MRC); WO 91/17271 (Affymax) 以及美国专利号5,698,426、5,223,409、5,403,484、5,580,717、5,427,908、5,750,753、5,821,047、5,571,698、5,427,908、5,516,637、5,780,225、5,658,727和5,733,743。Lohning的美国专利号6,753,136已经描述了可用于通过经由二硫键附接多肽而在噬菌体颗粒表面上展示多肽的方法。如上述参考文献中所述,在噬菌体选择后,可以分离来自噬菌体的抗体编码区,并且将其用于产生完整抗体(包括人抗体)或任何其他所需的抗原结合片段,并在任何所需宿主(包括哺乳动物细胞、昆虫细胞、植物细胞、酵母和细菌)中表达。例如,重组产生Fab、Fab'和F(ab')₂片段的技术也可以使用本领域已知的方法来利用,所述方法如以下文献中披露的那些:WO 92/22324; Mullinax等人, BioTechniques 12:864-869, 1992; 和Sawai等人, AJRI 34:26-34, 1995; 以及Better等人, Science 240:1041-1043, 1988。

[0223] 通常,可以针对适当抗原选择克隆到展示载体中的杂合抗体或杂合抗体片段,以鉴定保持良好结合活性的变体,因为所述抗体或抗体片段将存在于噬菌体或噬菌粒颗粒的表面上。参见例如,Barbas III等人, Phage Display, A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 纽约, 2001)。然而,其他载体形式可用于此过程,如将抗体片段文库克隆到裂解性噬菌体载体(经修饰的T7或Lambda Zap系统)中进行选择和/或筛选。

[0224] 重组抗聚Sia抗体的表达。如上所述,可以通过应用重组DNA技术来产生本技术的抗体。编码本技术的抗聚Sia抗体的重组多核苷酸构建体通常包括与抗聚Sia抗体链的编码序列可操作地连接的表达控制序列,所述表达控制序列包括天然缔合的或异源的启动子区域。因此,本技术的另一方面包括含有编码本技术的抗聚Sia抗体的一种或多种核酸序列的载体。对于一种或多种本技术的多肽的重组表达,通过本领域中熟知和如下详述的重组DNA技术将含有编码抗聚Sia抗体的核苷酸序列的全部或一部分的核酸插入适当的克隆载体或表达载体(即含有用于插入的多肽编码序列的转录和翻译的必要元件的载体)中。Lerner等人的美国专利号6,291,160和6,680,192已经描述了用于产生多种载体群体的方法。

[0225] 一般而言,可用于重组DNA技术中的表达载体通常呈质粒形式。在本公开文本中,“质粒”和“载体”可互换使用,因为质粒是最常用的载体形式。然而,本技术旨在包括在技术上不是质粒的、发挥同等功能的此类其他形式的表达载体,如病毒载体(例如,复制缺陷性逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。此类病毒载体允许感染受试者并在该受试者中表达构建体。在一些实施方案中,表达控制序列是在能够转化或转染真核宿主细胞的载体中的真核启动子系统。一旦将载体掺入适当的宿主中,就将宿主维持在适合于高水平表达编码抗聚Sia抗体的核苷酸序列以及收集和纯化抗聚Sia抗体(例如交叉反应的抗聚Sia抗体)的条件下。一般参见, U.S. 2002/0199213。这些表达载体通常可作为附加体或作为宿主染色体DNA的组成部分在宿主生物中复制。通常,表达载体含有选择标记物,例如氨苄青霉素抗性或潮霉素抗性,以允许检测那些用所需DNA序列转化的细胞。载体还可以编码可用于引导细胞外抗体片段的分泌的信号肽,例如果胶裂解酶。参见美国专利号5,576,195。

[0226] 本技术的重组表达载体包含编码具有聚Sia结合特性的蛋白质的核酸,所述重组表达载体呈适合于所述核酸在宿主细胞中表达的形式,这意味着所述重组表达载体包括根据用于表达的宿主细胞选择的一种或多种调节序列,所述一种或多种调节序列与待表达的核酸序列可操作地连接。在重组表达载体中,“可操作地连接”旨在意指,目的核苷酸序列以允许核苷酸序列表达(例如,在体外转录/翻译系统中或当将载体引入宿主细胞中时在宿主细胞中)的方式与一个或多个调节序列连接。术语“调节序列”旨在包括启动子、增强子和其他表达控制元件(例如,聚腺苷酸化信号)。此类调节序列描述于例如以下文献中:Goeddel, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY:METHODS IN ENZYMOLOGY 185,Academic Press,圣地亚哥,加利福尼亚州(1990)。调节序列包括在许多类型的宿主细胞中引导核苷酸序列组成型表达的那些和仅在某些宿主细胞中引导核苷酸序列表达的那些(例如组织特异性调节序列)。本领域技术人员将理解,表达载体的设计可取决于诸如以下等因素:待转化的宿主细胞的选择、所需多肽的表达水平等。可用作重组多肽(例如抗聚Sia抗体)表达的启动子的典型调节序列包括例如但不限于3-磷酸甘油酸激酶和其他糖酵解酶的启动子。诱导型酵母启动子尤其包括来自以下的启动子:醇脱氢酶、异细胞色素C、以及负责麦芽糖和半乳糖利用的酶。在一个实施方案中,编码本技术的抗聚Sia抗体的多核苷酸与ara B启动子可操作地连接并且在宿主细胞中是可表达的。参见美国专利5,028,530。可以将本技术的表达载体引入宿主细胞中,从而产生由本文所述的核酸编码的多肽或肽,包括融合多肽(例如,抗聚Sia抗体等)。

[0227] 本技术的另一方面涉及表达抗聚Sia抗体的宿主细胞,其含有编码一种或多种抗聚Sia抗体的核酸。本技术的重组表达载体可以被设计用于在原核或真核细胞中表达抗聚Sia抗体。例如,抗聚Sia抗体可以在细菌细胞(如大肠杆菌(*Escherichia coli*))、昆虫细胞(使用杆状病毒表达载体)、真菌细胞(例如酵母、酵母细胞)或哺乳动物细胞中表达。合适的宿主细胞进一步论述于以下文献中:Goeddel, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY:METHODS IN ENZYMOLOGY 185,Academic Press,圣地亚哥,加利福尼亚州(1990)。可替代地,可以例如使用T7启动子调节序列和T7聚合酶在体外转录和翻译重组表达载体。先前已经描述了可用于经由表达随机产生的多核苷酸序列来制备并筛选具有预定特性的多肽(例如抗聚Sia抗体)的方法。参见美国专利号5,763,192;5,723,323;5,814,476;5,817,483;5,824,514;5,976,862;6,492,107;6,569,641。

[0228] 多肽在原核生物中的表达最常在大肠杆菌中用含有引导融合或非融合多肽表达的组成型或诱导型启动子的载体进行。融合载体将许多氨基酸添加至其中编码的多肽,通常添加至重组多肽的氨基末端。此类融合载体通常具有三个目的:(i)增加重组多肽的表达;(ii)增加重组多肽的溶解度;以及(iii)通过充当亲和纯化中的配体来帮助重组多肽的纯化。通常,在融合表达载体中,在融合部分和重组多肽的连接处引入蛋白水解切割位点,以使得在纯化融合多肽之后能够从融合部分分离重组多肽。此类酶及其同源识别序列包括因子Xa、凝血酶和肠激酶。典型的融合表达载体包括pGEX(Pharmacia Biotech Inc;Smith和Johnson,1988.Gene 67:31-40)、pMAL(New England Biolabs,贝弗利,马萨诸塞州)和pRIT5(Pharmacia,皮斯卡塔韦,新泽西州),它们分别使谷胱甘肽S-转移酶(GST)、麦芽糖E结合多肽或多肽A与靶重组多肽融合。

[0229] 合适的诱导型非融合大肠杆菌表达载体的例子包括pTrc(Amr ann等人,(1988) Gene 69:301-315)和pET 11d(Studier等人,GENE EXP RESSION TECHNOLOGY:METHODS IN

ENZYMOLOGY 185, Academic Press, 圣地亚哥, 加利福尼亚州 (1990) 60-89)。Pack等人的美国专利号6,294,353;6,692,935已经描述了用于经由多肽融合来靶向组装不同活性肽或蛋白质结构域以产生多功能多肽的方法。一种最大化大肠杆菌中的重组多肽(例如抗聚Sia抗体)表达的策略是在以蛋白水解方式切割重组多肽的能力受损的宿主细菌中表达所述多肽。参见例如,Gottesman, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, 圣地亚哥, 加利福尼亚州 (1990) 119-128。另一种策略是改变要插入表达载体中的核酸的核酸序列,使得每个氨基酸的单独密码子是表达宿主(例如大肠杆菌)中优先使用的那些密码子(参见例如Wada等人,1992.Nucl.Acids Res.20:2111-2118)。本技术的核酸序列的这种改变可以通过标准的DNA合成技术来进行。

[0230] 在另一个实施方案中,抗聚Sia抗体表达载体是酵母表达载体。用于在酿酒酵母中表达的载体的例子包括pYepSec1 (Baldari等人,1987.EMBO J.6:229-234)、pMFa (Kurjan and Herskowitz,Cell 30:933-943,1982)、pJRY88 (Schultz等人,Gene 54:113-123,1987)、pYES2 (Invitrogen Corporation, 圣地亚哥, 加利福尼亚州) 和picZ (Invitrogen Corp, 圣地亚哥, 加利福尼亚州)。可替代地,可以使用杆状病毒表达载体在昆虫细胞中表达抗聚Sia抗体。可用于在培养的昆虫细胞(例如SF9细胞)中表达多肽(例如抗聚Sia抗体)的杆状病毒载体包括pAc系列 (Smith等人,Mol.Cell.Biol.3:2156-2165,1983) 和pVL系列 (Lucklow和Summers,1989.Virology 170:31-39)。

[0231] 在又一个实施方案中,使用哺乳动物表达载体在哺乳动物细胞中表达编码本技术的抗聚Sia抗体的核酸。哺乳动物表达载体的例子包括例如但不限于pCDM8 (Seed,Nature 329:840,1987) 和pMT2PC (Kaufman等人,EMBO J.6:187-195,1987)。当用于哺乳动物细胞时,表达载体的控制功能通常由病毒调节元件提供。例如,常用的启动子源自多瘤病毒、腺病毒2、巨细胞病毒和猿猴病毒40。关于可用于表达本技术的抗聚Sia抗体的原核和真核细胞两者的其他合适的表达系统,参见例如Sambrook等人,MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL.第2版,Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,纽约,1989的第16章和第17章。

[0232] 在另一个实施方案中,重组哺乳动物表达载体能够引导核酸在特定细胞类型中的表达(例如组织特异性调节元件)。组织特异性调节元件是本领域已知的。合适的组织特异性启动子的非限制性例子包括白蛋白启动子(肝特异性;Pinkert等人,Genes Dev.1:268-277,1987)、淋巴样特异性启动子 (Calame和Eaton,Adv.Immunol.43:235-275,1988)、T细胞受体 (Winoto和Baltimore,EMBO J.8:729-733,1989) 和免疫球蛋白 (Banerji等人,1983.Cell 33:729-740;Queen和Baltimore,Cell 33:741-748,1983。)的启动子、神经元特异性启动子(例如神经丝启动子;Byrne和Ruddle,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:5473-5477,1989)、胰腺特异性启动子 (Edlund等人,1985.Science 230:912-916) 和乳腺特异性启动子(例如乳清启动子;美国专利号4,873,316和欧洲申请公开号264,166)。还涵盖发育调节的启动子,例如鼠hox启动子 (Kessel和Gruss,Science 249:374-379,1990) 和甲胎蛋白启动子 (Campes和Tilghman,Genes Dev.3:537-546,1989)。

[0233] 本发明方法的另一个方面涉及宿主细胞,其中已经引入了本技术的重组表达载体。术语“宿主细胞”和“重组宿主细胞”在本文可互换使用。应当理解,此类术语不仅是指特定的受试者细胞,而且还指这种细胞的子代或潜在子代。因为在后代中由于突变或环境影

响可能发生某些修饰,这种子代可能在事实上与亲代细胞不同,但是仍然包括在如在此使用的所述术语的范围内。

[0234] 宿主细胞可以是任何原核或真核细胞。例如,抗聚Sia抗体可以在细菌细胞(如大肠杆菌)、昆虫细胞、酵母或哺乳动物细胞中表达。哺乳动物细胞是适合于表达编码免疫球蛋白或其片段的核苷酸区段的宿主。参见Winnacker, *From Genes To Clones*, (VCH Publishers, 纽约州, 1987)。在本领域中已经开发了许多能够分泌完整异源蛋白的合适的宿主细胞系,并且所述合适的宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系、各种COS细胞系、HeLa细胞、L细胞和骨髓瘤细胞系。在一些实施方案中,所述细胞是非人的。这些细胞的表达载体可以包括表达控制序列,如复制起点、启动子、增强子,以及必要的处理信息位点,如核糖体结合位点、RNA剪接位点、聚腺苷酸化位点和转录终止子序列。Queen等人, *Immunol. Rev.* 89: 49, 1986。说明性表达控制序列是源自内源基因、巨细胞病毒、SV40、腺病毒、牛乳头瘤病毒等的启动子。Co等人, *J Immunol.* 148: 1149, 1992。其他合适的宿主细胞是本领域技术人员已知的。

[0235] 可经由常规转化或转染技术将载体DNA引入原核或真核细胞中。如本文所用,术语“转化”和“转染”旨在是指用于将外源核酸(例如,DNA)引入宿主细胞中的各种本领域公认的技术,包括磷酸钙或氯化钙共沉淀、DEAE-葡聚糖介导的转染、脂质转染、电穿孔、基因枪或基于病毒的转染。用于转化哺乳动物细胞的其他方法包括使用聚凝胺、原生质体融合、脂质体、电穿孔和显微注射(通常参见Sambrook等人, *Molecular Cloning*)。用于转化或转染宿主细胞的合适方法可以在以下文献中找到:Sambrook等人(*MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL*, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 纽约, 1989)和其他实验室手册。取决于细胞宿主的类型,可以通过熟知的方法将含有目的DNA区段的载体转移到宿主细胞中。

[0236] 对于哺乳动物细胞的稳定转染,已知根据所用的表达载体和转染技术,只有小部分细胞可以将外源DNA整合到其基因组中。为了鉴定和选择这些整合体,通常将编码可选择标记物(例如,对抗生素的抗性)的基因与目的基因一起引入宿主细胞中。各种可选择标记物包括赋予对药物(如G418、潮霉素和甲氨蝶呤)的抗性的那些可选择标记物。可以将编码可选择标记物的核酸在与编码抗聚Sia抗体的载体相同的载体上引入宿主细胞中,或者可以在单独的载体上引入。可以通过药物选择来鉴定被引入的核酸稳定转染的细胞(例如,已掺入可选择标记基因的细胞将存活,而其他细胞死亡)。

[0237] 包括本技术的抗聚Sia抗体的宿主细胞(如培养中的原核或真核宿主细胞)可以用于产生(即表达)重组抗聚Sia抗体。在一个实施方案中,所述方法包括在合适的培养基中培养宿主细胞(已向其中引入了编码抗聚Sia抗体的重组表达载体),从而产生抗聚Sia抗体。在另一个实施方案中,所述方法进一步包括从培养基或宿主细胞分离抗聚Sia抗体的步骤。一旦表达,就从培养基和宿主细胞纯化抗聚Sia抗体,例如抗聚Sia抗体或抗聚Sia抗体相关多肽的收集物。可以根据本领域的标准程序(包括HPLC纯化、柱色谱、凝胶电泳等)纯化抗聚Sia抗体。在一个实施方案中,通过Boss等人,美国专利号4,816,397的方法在宿主生物体中产生抗聚Sia抗体。通常,抗聚Sia抗体链连同信号序列一起表达,并由此被释放到培养基中。然而,如果抗聚Sia抗体链不是由宿主细胞自然分泌的,则可以通过用温和的洗涤剂处理来释放抗聚Sia抗体链。重组多肽的纯化是本领域熟知的,并且包括硫酸铵沉淀、亲和色

谱纯化技术、柱色谱、离子交换纯化技术、凝胶电泳等(一般参见Scopes, Protein Purification(Springer-Verlag, 纽约, 1982))。

[0238] 可将编码抗聚Sia抗体的多核苷酸例如抗聚Sia抗体的编码序列掺入转基因中, 以便引入转基因动物的基因组中并随后在转基因动物的乳汁中表达。参见例如, 美国专利号 5,741,957、5,304,489 和 5,849,992。合适的转基因包括与来自乳腺特异性基因(如酪蛋白或 β -乳球蛋白)的启动子和增强子可操作连接的轻链和/或重链的编码序列。对于转基因动物的产生, 可以将转基因显微注射到受精的卵母细胞中, 或者可以将转基因掺入胚胎干细胞的基因组中, 并将此类细胞的核转移到无核的卵母细胞中。

[0239] 单链抗体。在一个实施方案中, 本技术的抗聚Sia抗体是单链抗聚Sia抗体。根据本技术, 技术可以适用于产生对聚Sia具有特异性的单链抗体(参见例如, 美国专利号 4,946,778)。可以用于产生本技术的单链Fv和抗体的技术的例子包括描述于以下文献中的那些: 美国专利号 4,946,778 和 5,258,498; Huston 等人, Methods in Enzymology, 203:46-88, 1991; Shu, L. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:7995-7999, 1993; 和 Skerra 等人, Science 240:1038-1040, 1988。

[0240] 嵌合和人源化抗体。在一个实施方案中, 本技术的抗聚Sia抗体是嵌合抗聚Sia抗体。在一个实施方案中, 本技术的抗聚Sia抗体是人源化抗聚Sia抗体。在本技术的一个实施方案中, 供体抗体和受体抗体是来自不同物种的单克隆抗体。例如, 受体抗体是人抗体(使其在人中的抗原性最小化), 在这种情况下所得的CDR移植抗体称为“人源化”抗体。

[0241] 包含人和非人部分的重组抗聚Sia抗体(如嵌合单克隆抗体和人源化单克隆抗体)可以使用标准重组DNA技术来制备, 并且在本技术范围内。对于某些用途, 包括本技术的抗聚Sia抗体在人体中的体内用途以及这些药剂在体外检测测定中的用途, 可以使用嵌合或人源化抗聚Sia抗体。此类嵌合单克隆抗体和人源化单克隆抗体可以通过本领域已知的重组DNA技术产生。此类有用的方法包括例如但不限于描述于以下文献中的方法: 国际申请号 PCT/US86/02269; 美国专利号 5,225,539; 欧洲专利号 184187; 欧洲专利号 171496; 欧洲专利号 173494; PCT 国际公开号 WO 86/01533; 美国专利号 4,816,567; 5,225,539; 欧洲专利号 1,250,233; Better 等人, 1988. Science 240:1041-1043; Liu 等人, 1987. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liu 等人, 1987. J. Immunol. 139:3521-3526; Sun 等人, 1987. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimura 等人, 1987. Cancer Res. 47:999-1005; Wood 等人, 1985. Nature 314:446-449; Shaw 等人, 1988. J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison (1985) Science 229:1202-1207; Oi 等人 (1986) BioTechniques 4:214; Jones 等人, 1986. Nature 321:552-525; Verhoeyan 等人, 1988. Science 239:1534; Morrison, Science 229:1202, 1985; Oi 等人, BioTechniques 4:214, 1986; Gillies 等人, J. Immunol. Methods, 125:191-202, 1989; 美国专利号 5,807,715; 和 Beidler 等人, 1988. J. Immunol. 141:4053-4060。例如, 可以使用多种技术将抗体人源化, 所述技术包括 CDR 移植 (EP 0 239 400; WO 91/09967; 美国专利号 5,530,101; 5,585,089; 5,859,205; 6,248,516; EP 460167)、镶面或表面重修 (EP 0 592 106; EP 0 519 596; Padlan E.A., Molecular Immunology, 28:489-498, 1991; Studnicka 等人, Protein Engineering 7:805-814, 1994; Roguska 等人, PNAS 91:969-973, 1994) 和链改组 (美国专利号 5,565,332)。在一个实施方案中, 用特异性选择的限制性内切酶消化编码鼠抗聚Sia单克隆抗体的

cDNA,以除去编码Fc恒定区的序列,并取代编码人Fc恒定区的cDNA的等效部分(参见Robinson等人,PCT/US86/02269;Akira等人,欧洲专利申请184,187;Taniguchi,欧洲专利申请171,496;Morrison等人,欧洲专利申请173,494;Neuberger等人,WO 86/01533;Cabilly等人美国专利号4,816,567;Cabilly等人,欧洲专利申请125,023;Better等人(1988)Science 240:1041-1043;Liu等人(1987)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:3439-3443;Liu等人(1987)J Immunol 139:3521-3526;Sun等人(1987)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:214-218;Nishimura等人(1987)Cancer Res 47:999-1005;Wood等人(1985)Nature 314:446-449;以及Shaw等人(1988)J.Natl.Cancer Inst.80:1553-1559;美国专利号6,180,370;美国专利号6,300,064;6,696,248;6,706,484;6,828,422。

[0242] 在一个实施方案中,本技术提供人源化抗聚Sia抗体的构建,所述人源化抗聚Sia抗体不太可能诱导人抗小鼠抗体(以下称为“HAMA”)应答,同时仍然具有有效的抗体效应子功能。如本文所用,关于抗体的术语“人”和“人源化”涉及预期在人受试者中引发治疗上可耐受的弱免疫原性应答的任何抗体。在一个实施方案中,本技术提供人源化抗聚Sia抗体、重链和轻链免疫球蛋白。

[0243] CDR抗体。在一些实施方案中,本技术的抗聚Sia抗体是抗聚Sia CDR抗体。通常,用于产生抗聚Sia CDR抗体的供体和受体抗体是来自不同物种的单克隆抗体;通常,受体抗体是人抗体(以使其在人中的抗原性最小化),在这种情况下所得的CDR移植抗体称为“人源化”抗体。移植物可以具有受体抗体的单个 V_H 或 V_L 内的单个CDR(或甚至单个CDR的一部分),或者可以具有 V_H 和 V_L 中的一个或两个内的多个CDR(或其部分)。通常,受体抗体的所有可变结构域中的所有三个CDR都将被相应的供体CDR替代,但只需要尽可能多的替代,以使所得的CDR移植抗体与聚Sia充分结合。用于产生CDR移植和人源化抗体的方法在以下文献中传授:Queen等人的美国专利号5,585,089;美国专利号5,693,761;美国专利号5,693,762;和Winter的U.S.5,225,539;和EP 0682040。可用于制备 V_H 和 V_L 多肽的方法在以下文献中传授:Winter等人,美国专利号4,816,397;6,291,158;6,291,159;6,291,161;6,545,142;EP 0368684;EP0451216;和EP0120694。

[0244] 选择来自相同家族和/或相同家族成员的合适的框架区候选物后,重链和轻链可变区中的一个或两个是通过将来自起源物种的CDR移植到杂合框架区中而产生的。可以使用本领域技术人员已知的常规方法来完成关于以上任一方面的具有杂合可变链区的杂合抗体或杂合抗体片段的组装。例如,可以通过寡核苷酸合成和/或PCR来产生编码本文所述的杂合可变结构域(即,基于靶物种的框架和来自起源物种的CDR)的DNA序列。也可以使用合适的限制酶从起源物种抗体分离编码CDR区的核酸,并通过用合适的连接酶连接而连接到靶物种框架中。可替代地,可以通过定点诱变来改变起源物种抗体的可变链的框架区。

[0245] 由于杂合体是从对应于每个框架区的多个候选物之间的选择构建的,因此存在适合于根据本文所述原理构建的许多序列组合。因此,可以组装杂合体的文库,其成员具有单独框架区的不同组合。此类文库可以是序列的电子数据库集合或杂合体的物理集合。

[0246] 此过程通常不会改变移植CDR侧翼的受体抗体的FR。然而,本领域技术人员有时可以通过替代给定FR的某些残基以使FR与供体抗体的相应FR更相似,来提高所得抗聚Sia CDR移植抗体的抗原结合亲和力。合适的取代位置包括与CDR相邻的氨基酸残基,或能够与CDR相互作用的氨基酸残基(参见例如,US 5,585,089,尤其是第12-16栏)。或者本领域技术

人员可以从供体FR开始并对其进行修饰以使其与受体FR或人共有FR更相似。用于进行这些修饰的技术是本领域已知的。特别是如果所得的FR符合该位置的人共有FR或者与这种共有FR至少90%或更多相同,则与具有完全人FR的相同抗体相比,这样做可能不会显著增加所得经修饰的抗聚Sia CDR移植抗体的抗原性。

[0247] 双特异性抗体(BsAb)。双特异性抗体是可以同时与具有不同结构的两个靶标(例如,两个不同的靶抗原、同一靶抗原上的两个不同表位或者半抗原和靶抗原或靶抗原上的表位)结合的抗体。BsAb可以例如通过组合识别相同或不同抗原的不同表位的重链和/或轻链来制备。在一些实施方案中,通过分子功能,双特异性结合剂在其两个结合臂中的一个结合臂(一个VH/VL对)上结合一个抗原(或表位),并在其第二个臂(不同的VH/VL对)上结合不同的抗原(或表位)。依据此定义,双特异性结合剂具有两个不同的抗原结合臂(特异性和CDR序列两者均不同),并且对于其结合的每种抗原是单价的。

[0248] 本技术的双特异性抗体(BsAb)和双特异性抗体片段(BsFab)具有与例如聚Sia特异性结合的至少一个臂和与第二靶抗原特异性结合的至少一个其他臂。在一些实施方案中,第二靶抗原是B细胞、T细胞、骨髓细胞、浆细胞或肥大细胞的抗原或表位。另外地或可替代地,在某些实施方案中,第二靶抗原选自CD3、CD4、CD8、CD20、CD19、CD21、CD23、CD46、CD80、HLA-DR、CD74、CD22、CD14、CD15、CD16、CD123、TCR γ/δ 、Nkp46和KIR。在某些实施方案中,BsAb能够与在细胞表面上表达聚Sia的肿瘤细胞结合。在一些实施方案中,BsAb已经工程化以通过将细胞毒性T细胞引导(或募集)到肿瘤部位来促进杀伤肿瘤细胞。其他示例性BsAb包括具有对聚Sia具有特异性的第一抗原结合位点和对于小分子半抗原(例如DTP A、IMP288、DOTA、DOTA-Bn、DOTA去铁胺、本文所述的其他DOTA螯合物、生物素、荧光素或Goodwin, D A.等人,1994, *Cancer Res.* 54(22):5937-5946中披露的那些)具有特异性的第二抗原结合位点的那些。

[0249] 使用分子工程化可以产生多种双特异性融合蛋白。例如,已经构建了利用完整的免疫球蛋白框架(例如IgG)、单链可变片段(scFv)或其组合的BsAb。在一些实施方案中,双特异性融合蛋白是二价的,其包含例如具有针对一种抗原的单一结合位点的scFv和具有针对第二抗原的单一结合位点的Fab片段。在其他实施方案中,双特异性融合蛋白是四价的,其包含例如具有针对一种抗原的两个结合位点的免疫球蛋白(例如IgG)和针对第二抗原的两个相同scFv。已经显示由两个串联的scFv单元构成的BsAb是临床上成功的双特异性抗体形式。在一些实施方案中,BsAb包含两个串联的单链可变片段(scFv),其被设计成使得结合肿瘤抗原(例如,聚Sia)的scFv连接至接合T细胞的scFv(例如,通过结合CD3)。以这种方式,T细胞被募集到肿瘤部位,使得它们可以介导肿瘤细胞的细胞毒性杀伤。参见例如,Dreier等人, *J. Immunol.* 170:4397-4402(2003); Bargou等人, *Science* 321:974-977(2008)。

[0250] 用于产生BsAb的最新方法包括工程化重组单克隆抗体,其具有另外的半胱氨酸残基,使得它们比更常见的免疫球蛋白同种型更牢固地交联。参见例如,FitzGerald等人, *Protein Eng.* 10(10):1221-1225(1997)。另一种方法是工程化重组融合蛋白,其连接具有所需的双重特异性的两种或更多种不同的单链抗体或抗体片段区段。参见例如,Coloma等人, *Nature Biotech.* 15:159-163(1997)。使用分子工程化可以产生多种双特异性融合蛋白。

[0251] 连接两种或更多种不同单链抗体或抗体片段的双特异性融合蛋白以类似的方式

产生。重组方法可以用于产生多种融合蛋白。在一些特定的实施方案中,根据本技术的BsAb包含含有重链和轻链的免疫球蛋白以及scFv。在一些特定的实施方案中,scFv与本文公开的任何抗聚Sia免疫球蛋白的重链的C末端连接。在一些特定的实施方案中,scFv与本文公开的任何抗聚Sia免疫球蛋白的轻链的C末端连接。在各个实施方案中,scFv经由接头序列与重链或轻链连接。通过PCR反应,将重链Fd与scFv进行框内连接所必需的适当接头序列引入 V_L 和 V_K 结构域中。然后将编码scFv的DNA片段连接至含有编码CH1结构域的DNA序列的分期(staging)载体中。切下所得的scFv-CH1构建体,并将其连接至含有编码抗聚Sia抗体的 V_H 区的DNA序列的载体中。所得载体可用于转染适当的宿主细胞,如哺乳动物细胞,以表达双特异性融合蛋白。

[0252] 在一些实施方案中,接头长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100个或更多个氨基酸。在一些实施方案中,接头的特征在于其倾向于不采用刚性三维结构,而是为多肽提供灵活性(例如,第一和/或第二抗原结合位点)。在一些实施方案中,基于赋予BsAb的特定的特性,例如稳定性增加,在本文所述的BsAb中采用接头。在一些实施方案中,本技术的BsAb包含 G_4S 接头。在一些特定的实施方案中,本技术的BsAb包含 $(G_4S)_n$ 接头,其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更多。

[0253] Fc修饰。在一些实施方案中,本技术的抗聚Sia抗体包含变体Fc区,其中所述变体Fc区包含相对于野生型Fc区(或亲本Fc区)的至少一个氨基酸修饰,使得所述分子对Fc受体(例如Fc γ R)的亲和力发生了改变,条件是基于Fc-Fc受体相互作用的晶体学和结构分析(如Sondermann等人,Nature,406:267-273(2000)所披露的那些),所述变体Fc区在与Fc受体直接接触的位置不具有取代。Fc区内与Fc受体(如Fc γ R)直接接触的位置的例子包括氨基酸234-239(铰链区)、氨基酸265-269(B/C环)、氨基酸297-299(C7E环)和氨基酸327-332(F/G)环。

[0254] 在一些实施方案中,本技术的抗聚Sia抗体对激活和/或抑制性受体具有改变的亲和力,其中的变体Fc区具有一个或多个氨基酸修饰,其中所述一个或多个氨基酸修饰是N297取代为丙氨酸或K322取代为丙氨酸。

[0255] 糖基化修饰。在一些实施方案中,本技术的抗聚Sia抗体具有Fc区,所述Fc区与亲本Fc区相比含有变体糖基化。在一些实施方案中,变体糖基化包括不存在岩藻糖;在一些实施方案中,在GnT1缺乏的CHO细胞中表达导致变体糖基化。

[0256] 在一些实施方案中,相对于与目的抗原(例如聚Sia)结合的适当参考抗体,本技术的抗体可以具有经修饰的糖基化位点,而不改变抗体的功能性,例如与抗原的结合活性。如本文所用,“糖基化位点”包括抗体中将与寡糖(即,含有连接在一起的两个或更多个单糖的碳水化合物)特异性和共价附接的任何特定氨基酸序列。

[0257] 寡糖侧链通常经由N连接或O连接与抗体的骨架连接。N连接的糖基化指寡糖部分附接至天冬酰胺残基的侧链。O连接的糖基化指寡糖部分附接至羟基氨基酸,例如丝氨酸、苏氨酸。例如,缺乏某些寡糖(包括岩藻糖)和末端N-乙酰葡萄糖胺的Fc-糖型可以在特殊的CHO细胞中产生,并展现出增强的ADCC效应子功能。

[0258] 在一些实施方案中,通过添加或缺失糖基化位点来修饰本文公开的免疫球蛋白相关组合物的碳水化合物含量。用于修饰抗体的碳水化合物含量的方法是本领域熟知的并且

包括在本技术内,参见例如美国专利号6,218,149;EP 0359096B1;美国专利公开号US 2002/0028486;国际专利申请公开WO 03/035835;美国专利公开号2003/0115614;美国专利号6,218,149;美国专利号6,472,511;所有这些参考文献均通过引用以其整体并入本文。在一些实施方案中,通过缺失抗体的一个或多个内源性碳水化合物部分来修饰抗体(或其相关部分或组分)的碳水化合物含量。在一些特定的实施方案中,本技术包括通过将位置297的天冬酰胺修饰为丙氨酸来缺失抗体Fc区的糖基化位点。

[0259] 工程化糖型可用于多种目的,包括但不限于增强或减弱效应子功能。工程化糖型可以通过本领域技术人员已知的任何方法产生,所述方法是例如通过使用工程化或变体表达菌株、通过与一种或多种酶(例如DI N-乙酰氨基葡萄糖转移酶III (GnTIII))共表达、通过在各种生物体或来自多种生物体的细胞系中表达包含Fc区的分子、或通过在已经表达包含Fc区的分子后修饰一种或多种碳水化合物。用于产生工程化糖型的方法是本领域已知的,并且包括但不限于描述于以下文献中的那些:Umana等人,1999,Nat.Biotechnol.17:176-180;Davies等人,2001,Biotechnol.Bioeng.74:288-294;Shields等人,2002,J.Biol.Chem.277:26733-26740;Shinkawa等人,2003,J.Biol.Chem.278:3466-3473;美国专利号6,602,684;美国专利申请序列号10/277,370;美国专利申请序列号10/113,929;国际专利申请公开WO 00/61739A1;WO 01/292246A1;WO 02/311140A1;WO 02/30954A1;POTILLEGENT™技术(Biowa,Inc.,普林斯顿,新泽西州);GLYCOMAB™糖基化工程技术(GLYCART biotechnology AG,苏黎士,瑞士);这些文献各自通过引用以其整体并入本文。参见例如,国际专利申请公开WO 00/061739;美国专利申请公开号2003/0115614;Okazaki等人,2004,JMB,336:1239-49。

[0260] 融合蛋白。在一个实施方案中,本技术的抗聚Sia抗体是融合蛋白。当与第二蛋白质融合时,本技术的抗聚Sia抗体可以用作抗原标签。可以与多肽融合的结构域的例子不仅包括异源信号序列,还包括其他异源功能区。融合不一定是直接的,而是可以通过接头序列进行。而且,本技术的融合蛋白也可以工程化以改善抗聚Sia抗体的特征。例如,可以将另外的氨基酸(特别是带电氨基酸)的区域添加至抗聚Sia抗体的N-末端以改善在从宿主细胞纯化或随后的处理和储存过程中的稳定性和持久性。另外,可以将肽部分添加到抗聚Sia抗体以促进纯化。可以在最终制备抗聚Sia抗体之前去除此类区域。添加肽部分以促进多肽的处理是本领域熟知的常规技术。可以将本技术的抗聚Sia抗体与标记序列(如促进融合多肽的纯化的肽)融合。在选择实施方案中,标记氨基酸序列是六组氨酸肽,尤其如在pQE载体(QIAGEN,Inc.,查茨沃斯(Chatsworth),加利福尼亚州)中提供的标签,许多所述六组氨酸肽是可商购的。如Gentz等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:821-824,1989中所述,例如,六组氨酸使得可便利地纯化融合蛋白。另一个可用于纯化的肽标签即“HA”标签对应于源自流感血凝素蛋白的表位。Wilson等人,Cell37:767,1984。

[0261] 因此,任何这些上述融合蛋白可以使用本技术的多核苷酸或多肽进行工程化。另外,在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白显示增加的体内半衰期。

[0262] 与单独的单体分泌的蛋白质或蛋白质片段相比,具有二硫键连接的二聚体结构(由于IgG)的融合蛋白可以更高效地结合和中和其他分子。Fountoulakis等人,J.Biochem.270:3958-3964,1995。

[0263] 类似地,EP-A-0 464 533(加拿大对应案2045869)公开了融合蛋白,其包含免疫球

蛋白分子恒定区的各个部分以及另一种人蛋白或其片段。在许多情况下,融合蛋白中的Fc部分在治疗和诊断中是有益的,因此可以导致例如改善的药代动力学特性。参见EP-A 0232 262。可替代地,可能需要在表达、检测和纯化融合蛋白后缺失或修饰Fc部分。例如,如果使用融合蛋白作为抗原用于免疫,则Fc部分可能妨碍治疗和诊断。在药物发现中,例如人蛋白(如hIL-5)已经与Fc部分融合,以用于高通量筛选测定以鉴定hIL-5的拮抗剂的目的。Bennett等人,J.Molecular Recognition 8:52-58,1995;Johanson等人,J.Biol.Chem., 270:9459-9471,1995。

[0264] 标记的抗聚Sia抗体。在一个实施方案中,本技术的抗聚Sia抗体与标记部分即可检测基团偶联。与抗聚Sia抗体缀合的特定标记或可检测基团不是本技术的关键方面,只要它不显著干扰本技术的抗聚Sia抗体与聚Sia的特异性结合即可。可检测基团可以是具有可检测的物理或化学特性的任何材料。此类可检测的标记在免疫测定和成像领域已经得到了很好的发展。一般而言,可用于此类方法中的几乎任何标记都可以应用于本技术。因此,标记是可通过光谱、光化学、生物化学、免疫化学、电学、光学或化学手段检测的任何组合物。在本技术的实践中有用的标记包括磁珠(例如,Dynabeads™)、荧光染料(例如,异硫氰酸荧光素、德克萨斯红、罗丹明等)、放射性标记(例如, ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{125}I 、 ^{121}I 、 ^{131}I 、 ^{112}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$)、其他成像剂如微泡(用于超声成像)、 ^{18}F 、 ^{11}C 、 ^{15}O (用于正电子发射断层摄影术)、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In (用于单光子发射断层摄影术)、酶(例如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶和ELISA中常用的其他酶)和量热标记如胶体金或有色玻璃或塑料(例如,聚苯乙烯、聚丙烯、乳胶等)珠粒。描述此类标记的用途的专利包括美国专利号3,817,837;3,850,752;3,939,350;3,996,345;4,277,437;4,275,149;和4,366,241,其每一个均通过引用以其整体并且出于所有目的并入本文。也参见Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals(第6版,Molecular Probes,Inc.,俄勒冈州尤金市)。

[0265] 可以根据本领域熟知的方法将标记直接或间接地与测定的所需组分偶联。如上所述,可以使用多种标记,标记的选择取决于诸如以下的因素:所需的灵敏度、与化合物缀合的简便性、稳定性要求、可用的仪器以及处置规定。

[0266] 非放射性标记通常通过间接方式附接。通常,配体分子(例如生物素)与分子共价结合。然后配体与抗配体(例如,链霉亲和素)分子结合,所述抗配体分子是固有地可检测的或者与信号系统共价结合,所述信号系统如可检测的酶、荧光化合物或化学发光化合物。可使用许多配体和抗配体。在配体(例如生物素、甲状腺素和皮质醇)具有天然抗配体的情况下,所述配体可与标记的天然存在的抗配体结合使用。可替代地,任何半抗原或抗原化合物可与抗体例如抗聚Sia抗体组合使用。

[0267] 分子还可以与产生信号的化合物直接缀合,例如通过与酶或荧光团缀合。作为标记的目的酶将主要是水解酶,特别是磷酸酶、酯酶和糖苷酶,或者是氧化还原酶,特别是过氧化物酶。可用作标记部分的荧光化合物包括但不限于例如荧光素及其衍生物、罗丹明及其衍生物、丹磺酰基、伞形酮等。可用作标记部分的化学发光化合物包括但不限于例如荧光素和2,3-二氢酞嗪二酮,例如鲁米诺。关于可以使用的各种标记或信号产生系统的综述,参见美国专利号4,391,904。

[0268] 检测标记的手段是本领域技术人员熟知的。因此,例如,在标记是放射性标记的情况下,检测手段包括闪烁计数器或胶片,如在放射自显影中。在标记是荧光标记的情况下,

它可以通过用适当波长的光激发荧光染料并检测产生的荧光来检测。荧光可以以目测形式、借助胶片、通过使用电子检测器如电荷耦合器件 (CCD) 或光电倍增管等来检测。类似地,酶标记可以通过提供酶的适当底物并检测所得反应产物来检测。最后,简单的比色标记可以通过观察与标记相关的颜色简单地检测。因此,在各种油尺测定中,缀合金经常呈粉色,而各种缀合的珠粒呈现珠粒的颜色。

[0269] 一些测定形式不需要使用标记的组分。例如,凝集测定可用于检测靶抗体例如抗聚Sia抗体的存在。在这种情况下,通过包含靶抗体的样品将抗原包被的颗粒凝集。在这种形式中,不需要标记任何组分,并且通过简单的目测检查来检测靶抗体的存在。

[0270] B. 鉴定并表征本技术的抗聚Sia抗体

[0271] 用于鉴定和/或筛选本技术的抗聚Sia抗体的方法。用于在针对聚Sia种类的抗体中鉴定和筛选对聚Sia具有所需特异性的抗体的方法包括本领域中已知的任何免疫介导的技术。可以通过本领域普通技术人员熟知的各种方法在体外检测免疫应答的组分。例如, (1) 可以将细胞毒性T淋巴细胞与放射性标记的靶细胞一起孵育,并通过放射性的释放来检测这些靶细胞的裂解; (2) 可以将辅助T淋巴细胞与抗原和抗原呈递细胞一起孵育,并通过标准方法测量细胞因子的合成和分泌 (Windhagen A等人, *Immunity*, 2:373-80, 1995); (3) 可以将抗原呈递细胞与全蛋白抗原一起孵育,并通过T淋巴细胞激活测定或生物物理学方法检测该抗原在MHC上的呈递 (Harding等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86:4230-4, 1989); (4) 可以将肥大细胞与交联其Fc- ϵ 受体的试剂一起孵育,并通过酶免疫测定来测量组胺释放 (Siraganian等人, *TIPS*, 4:432-437, 1983); 以及 (5) 酶联免疫吸附测定 (ELISA)。

[0272] 类似地,也可以通过本领域普通技术人员熟知的各种方法来检测模型生物体 (例如小鼠) 或人受试者中免疫应答的产物。例如, (1) 可以通过目前用于临床实验室中的标准方法例如ELISA容易地检测响应于疫苗接种的抗体的产生; (2) 可以通过刮伤皮肤表面并放置无菌容器以捕获刮痕部位上的迁移细胞来检测免疫细胞向炎症部位的迁移 (Peters等人, *Blood*, 72:1310-5, 1988); (3) 可以使用³H-胸苷测量外周血单核细胞 (PBMC) 响应于有丝分裂原或混合淋巴细胞反应的增殖; (4) 可以通过将PBMC与标记的颗粒一起置于孔中来测量粒细胞、巨噬细胞和其他吞噬细胞在PBMC中的吞噬能力 (Peters等人, *Blood*, 72:1310-5, 1988); 和 (5) 可以通过用针对CD分子 (如CD4和CD8) 的抗体标记PBMC并测量表达这些标记物的PBMC的分数来测量免疫系统细胞的分化。

[0273] 在一个实施方案中,利用高DP聚Sia在可复制的遗传包装的表面上的展示来选择本技术的抗聚Sia抗体。参见例如,美国专利号5,514,548;5,837,500;5,871,907;5,885,793;5,969,108;6,225,447;6,291,650;6,492,160;EP 585 287;EP 605522;EP 616640;EP 1024191;EP 589 877;EP 774 511;EP 844 306。已经描述了可用于产生/选择丝状噬菌体颗粒的方法,所述丝状噬菌体颗粒含有编码具有所需特异性的结合分子的噬菌粒基因组。参见例如,EP 774 511;US 5871907;US 5969108;US 6225447;US 6291650;US 6492160。

[0274] 在一些实施方案中,利用高DP聚Sia在酵母宿主细胞的表面上的展示来选择本技术的抗聚Sia抗体。可用于通过酵母表面展示分离scFv多肽的方法已经由Kiecke等人, *Protein Eng.* 1997年11月;10(11):1303-10描述。

[0275] 在一些实施方案中,使用核糖体展示选择本技术的抗聚Sia抗体。可用于使用核糖体展示来鉴定肽文库中配体的方法已经由Mattheakis等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:

9022-26,1994;和Hanes等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:4937-42,1997描述。

[0276] 在选择所需的抗聚Sia抗体之后,预期可以通过本领域技术人员已知的任何技术(例如原核或真核细胞表达等)大量生产所述抗体。抗聚Sia抗体(它们是例如但不限于抗聚Sia杂合抗体或片段)可以通过以下方式来产生:使用常规技术构建编码抗体重链的表达载体,在所述抗体重链中保留起源物种抗体结合特异性所需的CDR和(如果需要)可变区框架的最小部分(如根据本文所述的技术工程化)源自起源物种抗体,并且抗体的其余部分源自可以如本文所述操纵的靶物种免疫球蛋白,从而产生用于表达杂合抗体重链的载体。

[0277] 聚Sia结合的测量。在一些实施方案中,聚Sia结合测定是指一种测定形式,其中将高DP聚Sia和抗聚Sia抗体在适合于高DP聚Sia与抗聚Sia抗体之间结合和评估高DP聚Sia与抗聚Sia抗体之间的结合量的条件下混合。将结合量与合适的对照进行比较,所述对照可以是在不存在高DP聚Sia的情况下的结合量、在存在非特异性免疫球蛋白组合物的情况下的结合量或两者。结合量可以通过任何合适的方法来评估。结合测定法包括例如ELISA、放射免疫测定、临近闪烁测定、荧光能量转移测定、液相色谱、膜过滤测定等。用于直接测量高DP聚Sia与抗聚Sia抗体的结合的生物物理学测定是例如核磁共振、荧光、荧光偏振、表面等离子体共振(BIACORE芯片)等。通过本领域已知的标准测定来确定特异性结合,所述标准测定是例如放射性配体结合测定、ELISA、FRET、免疫沉淀、SPR、NMR(2D-NMR)、质谱法等。如果候选抗聚Sia抗体的特异性结合比在不存在候选抗聚Sia抗体的情况下观察到的结合高至少1%,则所述候选抗聚Sia抗体可用作抗本技术的抗聚Sia抗体。

[0278] 聚Sia中和的测量。如本文所用,“聚Sia中和”是指通过抗聚Sia抗体的结合,降低聚Sia的活性和/或表达,或降低用聚Sia部分修饰的蛋白质的活性和/或表达。可以使用本领域已知的方法在体外或体内评估本技术的抗聚Sia抗体中和聚Sia活性/表达的能力。

[0279] 本技术的抗聚Sia抗体的用途

[0280] 概述。本技术的抗聚Sia抗体可用于本领域已知与聚Sia的定位和/或定量有关的方法中(例如,用于测量适当的生理样品中高DP聚Sia的水平、用于诊断方法、用于多肽成像等)。本技术的抗体可用于通过标准技术如亲和色谱或免疫沉淀来分离高DP聚Sia。本技术的抗聚Sia抗体可以促进免疫反应性高DP聚Sia种类从生物样品例如哺乳动物血清或细胞的纯化,以及在宿主系统中表达的重组产生的免疫反应性高DP聚Sia的纯化。此外,抗聚Sia抗体可用于检测免疫反应性高DP聚Sia种类(例如,在血浆、细胞裂解物或细胞上清液中)以评价免疫反应性高DP聚Sia的表达丰度和模式。本技术的抗聚Sia抗体可以用于诊断性地监测组织中的免疫反应性高DP聚Sia水平作为临床测试程序的一部分,例如以确定给定治疗方案的功效。如上所述,可以通过将本技术的抗聚Sia抗体与可检测物质偶联(即物理连接)来促进检测。

[0281] 聚Sia的检测。用于检测生物样品中是否存在免疫反应性高DP聚Sia的示例性方法涉及从测试受试者获得生物样品,并使所述生物样品与本技术的能够检测免疫反应性高DP聚Sia的抗聚Sia抗体接触,从而检测生物样品中免疫反应性高DP聚Sia的存在。可以通过附接于抗体的可检测标记来完成检测。

[0282] 关于抗聚Sia抗体的术语“标记的”旨在涵盖通过将可检测物质与抗体偶联(即物理连接)来直接标记抗体,以及通过与直接标记的另一化合物(如二抗)的反应性来间接标记抗体。间接标记的例子包括使用荧光标记的二抗检测一抗以及用生物素对DNA探针进行

末端标记,使得可以用荧光标记的链霉亲和素对其进行检测。

[0283] 在一些实施方案中,将本文公开的抗聚Sia抗体与一个或多个可检测标记缀合。对于此类用途,抗聚Sia抗体可以通过发色剂、酶剂、放射性同位素剂、同位素剂、荧光剂、毒性剂、化学发光剂、核磁共振造影剂或其他标记的共价或非共价附接来可检测地标记。

[0284] 合适的发色标记的例子包括二氨基联苯胺和4-羟基偶氮-苯-2-甲酸。合适的酶标记的例子包括苹果酸脱氢酶、葡萄球菌核酸酶、 Δ -5-类固醇异构酶、酵母醇脱氢酶、 α -甘油磷酸脱氢酶、磷酸丙糖异构酶、过氧化物酶、碱性磷酸酶、天冬酰胺酶、葡萄糖氧化酶、 β -半乳糖苷酶、核糖核酸酶、脲酶、过氧化氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、葡糖淀粉酶和乙酰胆碱酯酶。

[0285] 合适的放射性同位素标记的例子包括 ^3H 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^{51}Cr 、 ^{57}To 、 ^{58}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{75}Se 、 ^{152}Eu 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{217}Ci 、 ^{211}At 、 ^{212}Pb 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd 等。 ^{111}In 是使用体内成像时的示例性同位素,因为它避免了 ^{125}I 或 ^{131}I 标记的聚Sia结合抗体被肝脏脱卤的问题。此外,这种同位素具有对于成像更有利的伽马发射能量(Perkins等人, Eur. J. Nucl. Med. 70:296-301 (1985); Carasquillo等人, J. Nucl. Med. 25:281-287 (1987))。例如,与具有1-(P-异硫氰基苄基)-DPTA的单克隆抗体偶联的 ^{111}In 在非肿瘤组织(特别是肝脏)中展现出很少的吸收,并增强了肿瘤定位的特异性(Esteban等人, J. Nucl. Med. 28:861-870 (1987))。合适的非放射性同位素标记的例子包括 ^{157}Gd 、 ^{55}Mn 、 ^{162}Dy 、 ^{52}Tr 和 ^{56}Fe 。

[0286] 合适的荧光标记的例子包括 ^{152}Eu 标记、荧光素标记、异硫氰酸盐标记、罗丹明标记、藻红蛋白标记、藻蓝蛋白标记、别藻蓝蛋白标记、绿色荧光蛋白(GFP)标记、邻苯二甲醛标记和荧光胺标记。合适的毒素标记的例子包括白喉毒素、蓖麻毒素和霍乱毒素。

[0287] 化学发光标记的例子包括鲁米诺标记、异鲁米诺标记、芳香族吖啶酯(acridinium ester)标记、咪唑标记、吖啶盐(acridinium salt)标记、草酸酯标记、萤光素标记、萤光素酶标记和水母发光蛋白标记。核磁共振造影剂的例子包括重金属核,如Gd、Mn和铁。

[0288] 本技术的检测方法可以用于在体外以及在体内检测生物样品中的免疫反应性高DP聚Sia。用于检测免疫反应性高DP聚Sia的体外技术包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹、免疫沉淀、放射免疫测定和免疫荧光。此外,用于检测免疫反应性高DP聚Sia的体内技术包括将标记的抗聚Sia抗体引入受试者中。例如,可以用放射性标记物标记抗聚Sia抗体,所述放射性标记物在受试者中的存在和位置可以通过标准成像技术来检测。在一个实施方案中,生物样品含有来自测试受试者的高DP聚Sia。

[0289] 免疫测定和成像。本技术的抗聚Sia抗体可用于使用基于抗体的技术测定生物样品(例如人血浆)中的免疫反应性高DP聚Sia水平。例如,组织中的高DP聚Sia表达可以用经典免疫组织学方法来研究。Jalkanen, M. 等人, J. Cell. Biol. 101:976-985, 1985; Jalkanen, M. 等人, J. Cell. Biol. 105:3087-3096, 1987。可用于检测聚Sia表达的其他基于抗体的方法包括免疫测定,如酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA)。合适的抗体测定标记是本领域已知的,并且包括酶标记(如葡萄糖氧化酶)和放射性同位素或其他放射性剂(如碘(^{125}I 、 ^{121}I 、 ^{131}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^3H)、铟(^{112}In)和锝($^{99\text{m}}\text{Tc}$))和荧光标记(如荧光素、罗丹明和绿色荧光蛋白(GFP))以及生物素。

[0290] 除了测定生物样品中的免疫反应性高DP聚Sia水平外,本技术的抗聚Sia抗体也可用于高DP聚Sia的体内成像。可用于此方法的抗体包括可通过X射线照相术、NMR或ESR检测

的那些抗体。对于X射线照相术,合适的标记包括放射性同位素,如钨或铯,它们发射出可检测的辐射,但对受试者没有明显的伤害。适用于NMR和ESR的标记物包括具有可检测特征性自旋的那些标记,如氘,可以通过标记仅用于相关scFv克隆的营养素而将所述标记物掺入抗聚Sia抗体中。

[0291] 将已用适当的可检测成像部分(如放射性同位素(例如 ^{131}I 、 ^{112}In 、 ^{99}mTc)、不透射线的物质或通过核磁共振可检测的材料)标记的抗聚Sia抗体引入(例如肠胃外、皮下或腹膜内)受试者中。在本领域中理解,受试者的尺寸和所使用的成像系统将决定产生诊断图像所需的成像部分的量。在放射性同位素部分的情况下,对于人受试者,所注射的放射性的量通常在约5至20毫居里 ^{99}mTc 的范围内。然后,标记的抗聚Sia抗体将积聚在含有特定靶抗原的细胞位置。例如,本技术的经标记的抗聚Sia抗体将积聚在受试者体内已定位有高DP聚Sia的细胞和组织中。

[0292] 因此,本技术提供了医学病症的诊断方法,其涉及:(a)通过测量本技术的抗聚Sia抗体在个体的细胞或体液中的结合来测定免疫反应性高DP聚Sia的表达;(b)将样品中存在的免疫反应性高DP聚Sia的量与标准参照物进行比较,其中与标准品相比免疫反应性高DP聚Sia水平的升高或降低指示医学病症。

[0293] 亲和纯化。本技术的抗聚Sia抗体可以用于从样品纯化免疫反应性高DP聚Sia。在一些实施方案中,将抗体固定在固体支持物上。此类固体支持物的例子包括塑料(如聚碳酸酯)、复合碳水化合物(如琼脂糖(agarose)和琼脂糖(sepharose))、丙烯酸树脂以及如聚丙烯酰胺和乳胶珠粒。使抗体与此类固体支持物偶联的技术是本领域熟知的(Weir等人,“Handbook of Experimental Immunology”第4版,Blackwell Scientific Publications,牛津,英国,第10章(1986);Jacoby等人,Meth.Enzym.34Academic Press,纽约(1974))。

[0294] 将抗原与抗体-支持基质结合的最简单方法是将珠粒收集在柱子中,并使抗原溶液向下通过柱子。此方法的效率取决于固定化抗体与抗原之间的接触时间,可以通过使用低流速来延长所述接触时间。固定化抗体在抗原流过时捕获所述抗原。可替代地,可以通过以下方式使抗原与抗体支持基质接触:将抗原溶液与支持物(例如,珠粒)混合并旋转或摇动浆料,从而使抗原与固定化抗体之间实现最大接触。结合反应完成后,将浆料通入柱子中以收集珠粒。使用合适的洗涤缓冲液洗涤珠粒,然后洗脱纯的或基本上纯的抗原。

[0295] 可以将目的抗体多肽与固体支持物(如珠粒)缀合。另外,如果需要的话,也可以通过任何合适的手段(包括本文公开的用于将抗体多肽与支持物缀合的那些手段)将第一固体支持物如珠粒与第二固体支持物(其可以是第二珠粒或其他支持物)缀合。因此,本文公开的关于抗体多肽与固体支持物的缀合的任何缀合方法和手段也可以用于将第一支持物与第二支持物缀合,其中第一和第二固体支持物可以相同或不同。

[0296] 用于将抗体多肽与固体支持物缀合的适当接头(其可以是交联剂)包括可以与支持物表面上存在的官能团或与抗体多肽或两者反应的多种药剂。可用作交联剂的试剂包括同双官能试剂以及特别地异双官能试剂。有用的双官能交联剂包括但不限于N-SIAB、二马来酰亚胺、DTNB、N-SATA、N-SPDP、SMCC和6-HYNIC。可以选择交联剂以提供抗体多肽与固体支持物之间的可选择性切割的键。例如,可以使用光不稳定的交联剂如3-氨基-(2-硝基苯基)丙酸,作为从固体支持物切割抗体多肽的手段。(Brown等人,Mol.Divers,第4-12页(1995);Rothschild等人,Nucl.Acids Res.,24:351-66(1996);以及美国专利号5,643,

722)。其他交联试剂是本领域熟知的。(参见例如,Wong (1991),同上;和Hermanson (1996),同上)。

[0297] 可以通过在羧基官能化的珠粒与抗体多肽的氨基末端之间形成的共价酰胺键,或者相反地通过在氨基官能化的珠粒与抗体多肽的羧基末端之间形成的共价酰胺键,将抗体多肽固定在固体支持物(如珠粒)上。另外,双官能的三苯甲基接头可以经由氨基树脂通过树脂上的氨基或羧基附接于支持物,例如附接于树脂(如Wang树脂)上的4-硝基苯基活性酯。使用双官能三苯甲基方法时,固体支持物可能需要使用挥发酸(如甲酸或三氟乙酸)进行处理,以确保抗体多肽被切割并能够被去除。在这种情况下,抗体多肽可以作为无珠粒的斑块沉积在固体支持物的孔底部或沉积在固体支持物的平坦表面上。添加基质溶液后,可将抗体多肽解吸到MS中。

[0298] 通过使用挥发酸或适当的基质溶液(例如含有3-HPA的基质溶液)从抗体多肽切割氨基连接的三苯甲基,疏水性三苯甲基接头也可以用作酸不稳定的接头。酸不稳定性也可以改变。例如,可以将三苯甲基、单甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基或三甲氧基三苯甲基改为抗体多肽的适当的对位取代的或更加呈酸不稳定的三苯甲胺衍生物,即可以形成与所述抗体多肽的三苯甲基醚键和三苯甲基胺键。因此,可以例如通过在酸性条件下破坏疏水引力或通过切割三苯甲基醚键或三苯甲基胺键从疏水性接头去除抗体多肽,所述酸性条件包括(如果需要)在典型的MS条件下,其中基质如3-HPA用作酸。

[0299] 正交可切割的接头也可用于将第一固体支持物(例如珠粒)与第二固体支持物结合,或可用于将目的多肽(例如抗体多肽)与固体支持物结合。使用此类接头,可以在不从支持物切割抗体多肽的情况下从第二固体支持物选择性地切割第一固体支持物(例如珠粒);然后可以在稍后时间从珠粒切割抗体多肽。例如,可以使用还原剂如DTT切割的二硫化物接头可以用于将珠粒与第二固体支持物结合,并且可以使用酸可切割的双官能三苯甲基将抗体多肽固定至支持物。根据需要,可以首先切割抗体多肽与固体支持物的连接,例如,保持第一与第二支持物之间的连接完整。三苯甲基接头可以提供共价或疏水性缀合,并且无论缀合的性质如何,三苯甲基在酸性条件下均易于切割。

[0300] 例如,珠粒可以通过连接基团与第二支持物结合,可以选择具有以下长度和化学性质的连接基团,所述长度和化学性质使得促进了珠粒与固体支持物的高密度结合或多肽与珠粒的高密度结合。这种连接基团可以具有例如“树状”结构,从而为固体支持物上的每个附接位点提供多个官能团。这种连接基团的例子包括聚赖氨酸、聚谷氨酸、五-赤藓糖醇(penta-erythrole)和三羟基氨基甲烷。

[0301] 非共价结合缔合。通过非共价相互作用,抗体多肽可以与固体支持物缀合,或第一固体支持物也可以与第二固体支持物缀合。例如,由能够被磁化的铁磁材料制成的磁性珠粒可以被吸引至磁性固体支持物,并且可以通过移除磁场而从支持物释放。可替代地,固体支持物可以具有离子或疏水性部分,这可以允许离子或疏水性部分分别与抗体多肽(例如含有附接的三苯甲基的抗体多肽)或与具有疏水性特征的第二固体支持物相互作用。

[0302] 固体支持物也可以具有特异性结合对的成员,因此可以与含有互补结合部分的抗体多肽或第二固体支持物缀合。例如,用抗生物素蛋白或用链霉亲和素包被的珠粒可以与其中掺入生物素部分的抗体多肽结合,或者与用生物素或生物素衍生物(如亚氨基生物素)包被的第二固体支持物结合。

[0303] 应当认识到,本文公开的或本领域另外已知的任何结合成员都可以逆转。因此,分别地例如可以将生物素掺入抗体多肽或固体支持物中,并且相反地,可以将抗生物素蛋白或其他生物素结合部分掺入支持物或抗体多肽中。所考虑用于本文的其他特异性结合对包括但不限于激素及其受体、酶及其底物、核苷酸序列及其互补序列、抗体及其特异性相互作用的抗原,以及本领域技术人员已知的其他此类对。

[0304] A. 本技术的抗聚Sia抗体的诊断用途

[0305] 概述。本技术的抗聚Sia抗体可用于诊断方法。因此,本技术提供了使用所述抗体诊断受试者中的高DP聚Sia活性的方法。可以对本技术的抗聚Sia抗体进行选择,使得它们具有任何水平的表位结合特异性和对高DP聚Sia的非常高的结合亲和力。一般而言,抗体的结合亲和力越高,就可以在免疫测定中执行越严格的洗涤条件以去除非特异性结合的材料而不去除靶抗原。因此,可用于诊断测定的本技术的抗聚Sia抗体通常具有约 10^8M^{-1} 、 10^9M^{-1} 、 10^{10}M^{-1} 、 10^{11}M^{-1} 或 10^{12}M^{-1} 的结合亲和力。此外,期望用作诊断试剂的抗聚Sia抗体具有足够的动力学缔合速率,以在标准条件下在至少12h、至少五(5)h或至少一(1)小时内达到平衡。

[0306] 抗聚Sia抗体可用于在多种标准测定形式中检测免疫反应性高DP聚Sia。此类形式包括免疫沉淀、蛋白质印迹、ELISA、放射免疫测定和免疫测量测定。参见Harlow和Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Publications, 纽约, 1988); 美国专利号3,791,932; 3,839,153; 3,850,752; 3,879,262; 4,034,074; 3,791,932; 3,817,837; 3,839,153; 3,850,752; 3,850,578; 3,853,987; 3,867,517; 3,879,262; 3,901,654; 3,935,074; 3,984,533; 3,996,345; 4,034,074; 和4,098,876。生物样品可以从受试者的任何组织或体液获得。在某些实施方案中,受试者处于癌症的早期阶段。在一个实施方案中,癌症的早期阶段是通过从受试者获得的样品中高DP聚Sia的水平或表达模式来确定的。在某些实施方案中,样品选自尿、血液、血清、血浆、唾液、羊水、脑脊液(CSF)和活检身体组织。

[0307] 免疫测量测定或夹心测定是本技术诊断方法的一种形式。参见美国专利号4,376,110; 4,486,530; 5,914,241和5,965,375。此类测定使用一种固定至固相的抗体(例如抗聚Sia抗体或抗聚Sia抗体群体)以及在溶液中的另一种抗聚Sia抗体或抗聚Sia抗体群体。通常,溶液抗聚Sia抗体或抗聚Sia抗体群体被标记。如果使用抗体群体,则所述群体可以含有与具有不同聚合度的聚Sia结合的抗体。因此,相同的群体可以用于固相和溶液抗体两者。如果使用抗聚Sia单克隆抗体,则具有不同结合特异性的第一和第二聚Sia单克隆抗体用于固相和溶液相。可以使固相(也称为“捕获”)和溶液(也称为“检测”)抗体以任何顺序或同时与靶抗原接触。如果首先接触固相抗体,则所述测定称为正向测定。相反,如果首先接触溶液抗体,则所述测定称为反向测定。如果靶标同时与两种抗体接触,则所述测定称为同时测定。使聚Sia与抗聚Sia抗体接触后,将样品孵育一段时间,所述时间段通常从约10分钟到约24小时不等,并且通常为约1小时。然后执行洗涤步骤以去除样品中未与用作诊断试剂的抗聚Sia抗体特异性结合的组分。当固相抗体和溶液抗体在单独的步骤中结合时,可以在任一个或两个结合步骤之后进行洗涤。洗涤后,对结合进行定量,通常是通过经由标记的溶液抗体的结合而检测与固相连接的标记。通常对于给定的抗体对或抗体群体和给定的反应条件,从含有已知浓度的靶抗原的样品制作校准曲线。然后通过从校准曲线(即标准曲线)内插来读取正在测试的样品中免疫反应性高DP聚Sia的浓度。可以从平衡时结合的标记溶液抗体的量或通过达到平衡之前在一系列时间点对结合的标记溶液抗体的动力学测量来

测量分析物。这种曲线的斜率是样品中高DP聚Sia浓度的量度。

[0308] 用于上述方法的合适支持物包括例如硝酸纤维素膜、尼龙膜和衍生化尼龙膜,并且还包括颗粒,如琼脂糖、基于葡聚糖的凝胶、量油尺、微粒、微球、磁性颗粒、试管、微量滴定孔、SEPHADEX™ (Amersham Pharmacia Biotech, 皮斯卡塔韦, 新泽西州) 等。固定化可以是吸收或通过共价附接来实现。任选地, 抗聚Sia抗体可以与接头分子(如生物素)连接, 以附接于表面结合的接头(如抗生物素蛋白)。

[0309] 在一些实施方案中, 本公开文本提供了与诊断剂缀合的本技术的抗聚Sia抗体。诊断剂可以包含放射性或非放射性标记、造影剂(如用于磁共振成像、计算机断层摄影术或超声), 并且放射性标记可以是 γ 、 β 、 α 、俄歇电子或正电子发射同位素。诊断剂是与抗体部分即抗体或抗体片段或亚片段缀合给予的分子, 并且可用于通过定位含有抗原的细胞诊断或检测疾病。

[0310] 有用的诊断剂包括但不限于放射性同位素、染料(如采用生物素-链霉亲和素复合物)、造影剂、荧光化合物或分子以及磁共振成像(MRI)的增强剂(例如顺磁性离子)。美国专利号6,331,175描述了MRI技术和与MRI增强剂缀合的抗体的制备, 并且通过引用以其整体并入。在一些实施方案中, 诊断剂选自放射性同位素、用于磁共振成像的增强剂和荧光化合物。为了使抗体组分负载放射性金属或顺磁性离子, 可能需要使其与具有长尾部的试剂发生反应, 所述长尾部附接有多种用于结合离子的螯合基团。这种尾部可以是聚合物, 如聚赖氨酸、多糖或其他衍生化或可衍生的链, 所述聚合物具有可与螯合基团结合的侧基, 所述螯合基团是例如乙二胺四乙酸(EDTA)、二乙烯三胺五乙酸(DTPA)、卟啉、多胺、冠醚、双缩氨基硫脲、聚脲和已知可用于此目的类似基团。螯合物可以使用标准化学方法与本技术的抗体偶联。螯合物通常通过如下基团与抗体连接, 所述基团能够在免疫反应性损失最小并且聚集和/或内部交联最小的情况下与分子形成键。用于将螯合物与抗体缀合的其他方法和试剂公开在美国专利号4,824,659。特别有用的金属-螯合物组合包括与诊断性同位素一起用于放射成像的2-苄基-DTPA及其一甲基和环己基类似物。在与非放射性金属(如锰、铁和钆)复合时, 在与本技术的抗聚Sia抗体一起使用时, 相同螯合物可用于MRI。

[0311] 大环螯合物如NOTA(1,4,7-三氮杂-环壬烷-N,N',N''-三乙酸)、DOTA和TETA(对溴乙酰胺基-苄基-四乙胺四乙酸)分别与多种金属和放射性金属(如镱、钷和铜的放射性核素)一起使用。可以通过使环的大小适合目的金属来稳定此类金属-螯合物复合物。其他DOTA螯合物的例子包括(i) DOTA-Phe-Lys(HSG)-D-Tyr-Lys(HSG)-NH₂; (ii) Ac-Lys(HSG)-D-Tyr-Lys(HSG)-Lys(Tscg-Cys)-NH₂; (iii) DOTA-D-Asp-D-Lys(HSG)-D-Asp-D-Lys(HSG)-NH₂; (iv) DOTA-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (v) DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (vi) DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (vii) DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH₂; (viii) Ac-D-Phe-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-NH₂; (ix) Ac-D-Phe-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH₂; (x) Ac-D-Phe-D-Lys(Bz-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(Bz-DTPA)-NH₂; (xi) Ac-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂; (xii) DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂; (xiii) (Tscg-Cys)-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(DOTA)-NH₂; (xiv) Tscg-D-Cys-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (xv) (Tscg-Cys)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (xvi) Ac-D-Cys-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Ala-D-Lys(DOTA)-

D-Cys-NH₂; (xvii) Ac-D-Cys-D-Lys (DTPA) -D-Tyr-D-Lys (DTPA) -NH₂; (xviii) Ac-D-Lys (DTPA) -D-Tyr-D-Lys (DTPA) -D-Lys (Tscg-Cys) -NH₂; 和 (xix) Ac-D-Lys (DOTA) -D-Tyr-D-Lys (DOTA) -D-Lys (Tscg-Cys) -NH₂。

[0312] 还考虑了对于稳定结合核素(如用于RAIT的²²³Ra)感兴趣的其它环型螯合物,如大环聚醚。

[0313] B. 本技术的抗聚Sia抗体的治疗用途

[0314] 本技术的免疫球蛋白相关组合物(例如,抗体或其抗原结合片段)可用于治疗聚Sia相关癌症。这种治疗可以用于被鉴定为具有病理上高水平的高DP聚Sia的患者(例如,通过本文所述的方法诊断的那些患者)或被诊断患有已知与此类病理水平相关的疾病的患者。在一个方面,本公开文本提供了用于在有需要的受试者中治疗聚Sia相关癌症的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的本技术的抗体(或其抗原结合片段)。可以通过本技术的抗体治疗的癌症的例子包括但不限于:小细胞或非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、胰腺癌、垂体瘤、维尔姆斯瘤、横纹肌肉瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌或急性骨髓性白血病。

[0315] 本技术的组合物可以与可用于治疗聚Sia相关癌症的其它治疗剂结合使用。例如,可以将本技术的抗体与选自以下的至少一种另外的治疗剂分开地、顺序地或同时给予:烷化剂、铂剂、紫杉烷、长春花剂、抗雌激素药物、芳香酶抑制剂、卵巢抑制剂、VEGF/VEGFR抑制剂、EGF/EGFR抑制剂、PARP抑制剂、抑制细胞的生物碱、细胞毒性抗生素、抗代谢物、内分泌/激素剂、二膦酸盐治疗剂和靶向生物治疗剂(例如,US 6306832、WO 2012007137、WO 2005000889、WO 2010096603等中描述的治疗肽)。在一些实施方案中,所述至少一种另外的治疗剂是化学治疗剂。特定化学治疗剂包括但不限于环磷酰胺、氟尿嘧啶(或5-氟尿嘧啶或5-FU)、甲氨蝶呤、依达曲沙(10-乙基-10-脱氮-氨基喋呤)、塞替派、卡铂、顺铂、紫杉烷、紫杉醇、蛋白质结合的紫杉醇、多西他赛、长春瑞滨、他莫昔芬、雷洛昔芬、托瑞米芬、氟维司群、吉西他滨、伊立替康、伊沙匹隆、替莫唑胺、托泊替康、长春新碱、长春碱、艾日布林、突变霉素、卡培他滨、阿那曲唑、依西美坦、来曲唑、亮丙瑞林、阿巴瑞克、布舍瑞林、戈舍瑞林、醋酸甲地孕酮、利塞膦酸盐、帕米膦酸盐、伊班膦酸盐、阿仑膦酸盐、地诺单抗、唑来膦酸盐、曲妥珠单抗、拉帕替尼、蒽环霉素(例如柔红霉素(daunorubicin)和多柔比星(doxorubicin))、贝伐单抗、奥沙利铂、美法仑、依托泊苷、氮芥、博来霉素、微管毒药、番荔枝内酯或其组合。

[0316] 本技术的组合物可以任选地以单次推注的形式给予至有需要的受试者。可替代地,给药方案可以包括在肿瘤出现后的不同时间多次给予。

[0317] 给予可以通过任何合适的途径进行,所述合适的途径包括口服、鼻内、肠胃外(静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下)、直肠、颅内、鞘内或局部。给予包括自我给予和由另一个人给予。还应理解,如本文所述的医学病症的各种治疗方式旨在意指“基本上的”,其包括完全治疗但也不到完全治疗,并且其中实现了一些生物学或医学有关的结果。

[0318] 在一些实施方案中,本技术的抗体包含药物配制品,可以将所述药物配制品以一个或多个剂量给予至有需要的受试者。可以调整剂量方案以提供所需反应(例如,治疗反应)。

[0319] 通常,足以实现治疗效果的本技术的抗体组合物的有效量在每天每公斤体重约0.000001mg至每天每公斤体重约10,000mg的范围内。通常,剂量范围为每天每公斤体重约

0.0001mg至每天每公斤体重约100mg。对于给予抗聚Sia抗体,剂量范围为每周、每两周或每三周0.0001至100mg/kg受试者体重,并且更通常为0.01至5mg/kg受试者体重。例如,剂量可以是每周、每两周或每三周1mg/kg体重或10mg/kg体重,或者在每周、每两周或每三周1-10mg/kg的范围内。在一个实施方案中,抗体的单次剂量范围为每公斤体重0.1-10,000微克。在一个实施方案中,载体中的抗体浓度范围为每递送一毫升0.2至2000微克。示例性治疗方案使得需要每两周一次或每月一次或每3至6个月一次给予。可以在多个时机给予抗聚Sia抗体。单个剂量之间的间隔可以是每小时、每日、每周、每月或每年。如通过测量受试者中抗体的血液水平所指示,间隔也可以是不规则的。在一些方法中,调整剂量以在受试者中实现以下血清抗体浓度:约75 μ g/mL至约125 μ g/mL、100 μ g/mL至约150 μ g/mL、约125 μ g/mL至约175 μ g/mL或约150 μ g/mL至约200 μ g/mL。可替代地,抗聚Sia抗体可以作为持续释放配制品给予,在这种情况下需要不太频繁的给予。剂量和频率根据抗体在受试者中的半衰期而变化。给予的剂量和频率可以根据治疗是预防性的还是治疗性的而变化。在预防性应用中,在长时间段期间以相对不频繁的间隔给予相对低的剂量。在治疗性应用中,有时需要以相对短的间隔给予相对高的剂量,直到疾病的进展减少或终止为止,或直到受试者显示疾病症状的部分或完全改善为止。此后,可以向患者给予预防性方案。

[0320] 在另一个方面,本公开文本提供了用于在体内检测受试者中的肿瘤的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的本技术的抗体(或其抗原结合片段),其中所述抗体被配置为定位于表达聚Sia的肿瘤,并用放射性同位素标记;并且(b)通过检测由所述抗体发射的高于参考值的放射性水平来检测所述受试者中肿瘤的存在。在一些实施方案中,参考值表示为每克注射剂量(% ID/g)。参考值可通过如下方法来计算:测量存在于非肿瘤(正常)组织中的放射性水平,并计算存在于非肿瘤(正常)组织中的平均放射性水平 $\pm$ 标准差。在一些实施方案中,肿瘤与正常组织之间的放射性水平的比率为约2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1、50:1、55:1、60:1、65:1、70:1、75:1、80:1、85:1、90:1、95:1或100:1。

[0321] 在一些实施方案中,所述受试者被诊断患有或怀疑患有癌症。可以使用正电子发射断层摄影术或单光子发射计算机断层摄影术检测由所述抗体发射的放射性水平。

[0322] 另外地或可替代地,在一些实施方案中,所述方法进一步包括向所述受试者给予有效量的免疫缀合物,所述免疫缀合物包含与放射性核素缀合的本技术的抗体。在一些实施方案中,所述放射性核素是发射 α 粒子的同位素、发射 β 粒子的同位素、俄歇(Auger)发射体或其任何组合。发射 β 粒子的同位素的例子包括 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Sr 、 ^{165}Dy 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{177}Lu 和 ^{67}Cu 。发射 α 粒子的同位素的例子包括 ^{213}Bi 、 ^{211}At 、 ^{225}Ac 、 ^{152}Dy 、 ^{212}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{219}Rn 、 ^{215}Po 、 ^{211}Bi 、 ^{221}Fr 、 ^{217}At 和 ^{255}Fm 。俄歇发射体的例子包括 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{51}Cr 、 ^{58}Co 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{103\text{m}}\text{Rh}$ 、 $^{195\text{m}}\text{Pt}$ 、 ^{119}Sb 、 ^{161}Ho 、 $^{189\text{m}}\text{Os}$ 、 ^{192}Ir 、 ^{201}Tl 和 ^{203}Pb 。在所述方法的一些实施方案中,正常组织中非特异性FcR依赖性结合被消除或减少(例如,经由Fc区中的N297A突变,其导致去糖基化)。可以通过计算曲线下面积(AUC)肿瘤:AUC正常组织比率来确定这种免疫缀合物的治疗有效性。在一些实施方案中,免疫缀合物的AUC肿瘤:AUC正常组织比率为约2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1、50:1、55:1、60:1、65:1、70:1、75:1、80:1、85:1、90:1、95:1或100:1。

[0323] PRIT。在一个方面,本公开文本提供了用于在有需要的受试者中检测实体肿瘤的

方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的复合物,所述复合物包含放射性标记的DOTA半抗原以及与所述放射性标记的DOTA半抗原和高DP聚Sia抗原结合的本技术的双特异性抗体,其中所述复合物被配置为定位于表达由所述复合物的双特异性抗体识别的高DP聚Sia抗原的实体肿瘤;并且(b)通过检测由所述复合物发射的高于参考值的放射性水平来检测所述受试者中实体肿瘤的存在。在一些实施方案中,受试者是人。

[0324] 在另一个方面,本公开文本提供了用于选择受试者进行预靶向放射免疫疗法的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的复合物,所述复合物包含放射性标记的DOTA半抗原以及与所述放射性标记的DOTA半抗原和高DP聚Sia抗原结合的本技术的双特异性抗体,其中所述复合物被配置为定位于表达由所述复合物的双特异性抗体识别的高DP聚Sia抗原的实体肿瘤;(b)检测由所述复合物发射的放射性水平;并且(c)当由所述复合物发射的放射性水平高于参考值时,选择所述受试者进行预靶向放射免疫疗法。在一些实施方案中,受试者是人。

[0325] DOTA半抗原的例子包括(i)DOTA-Phe-Lys(HSG)-D-Tyr-Lys(HSG)-NH₂; (ii)Ac-Lys(HSG)-D-Tyr-Lys(HSG)-Lys(Tscg-Cys)-NH₂; (iii)DOTA-D-Asp-D-Lys(HSG)-D-Asp-D-Lys(HSG)-NH₂; (iv)DOTA-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (v)DOTA-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (vi)DOTA-D-Ala-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (vii)DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-NH₂; (viii)Ac-D-Phe-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-NH₂; (ix)Ac-D-Phe-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH₂; (x)Ac-D-Phe-D-Lys(Bz-DTPA)-D-Tyr-D-Lys(Bz-DTPA)-NH₂; (xi)Ac-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂; (xii)DOTA-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂; (xiii)(Tscg-Cys)-D-Phe-D-Lys(HSG)-D-Tyr-D-Lys(HSG)-D-Lys(DOTA)-NH₂; (xiv)Tscg-D-Cys-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (xv)(Tscg-Cys)-D-Glu-D-Lys(HSG)-D-Glu-D-Lys(HSG)-NH₂; (xvi)Ac-D-Cys-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Ala-D-Lys(DOTA)-D-Cys-NH₂; (xvii)Ac-D-Cys-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-NH₂; (xviii)Ac-D-Lys(DTPA)-D-Tyr-D-Lys(DTPA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂; (xix)Ac-D-Lys(DOTA)-D-Tyr-D-Lys(DOTA)-D-Lys(Tscg-Cys)-NH₂和(xx)DOTA。所述放射性标记可以是发射 α 粒子的同位素、发射 β 粒子的同位素或俄歇发射体。放射性标记的例子包括²¹³Bi、²¹¹At、²²⁵Ac、¹⁵²Dy、²¹²Bi、²²³Ra、²¹⁹Rn、²¹⁵Po、²¹¹Bi、²²¹Fr、²¹⁷At、²⁵⁵Fm、⁸⁶Y、⁹⁰Y、⁸⁹Sr、¹⁶⁵Dy、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁷⁷Lu、⁶⁷Cu、¹¹¹In、⁶⁷Ga、⁵¹Cr、⁵⁸Co、^{99m}Tc、^{103m}Rh、^{195m}Pt、¹¹⁹Sb、¹⁶¹Ho、^{189m}Os、¹⁹²Ir、²⁰¹Tl、²⁰³Pb、⁶⁸Ga、²²⁷Th或⁶⁴Cu。

[0326] 在本文公开方法的一些实施方案中,使用正电子发射断层摄影术或单光子发射计算机断层摄影术检测由所述复合物发射的放射性水平。另外或可替代地,在本文公开的方法的一些实施方案中,所述受试者被诊断为患有或怀疑患有聚Sia相关癌症,例如小细胞或非小细胞肺癌、神经母细胞瘤、胰腺癌、垂体瘤、维尔姆斯瘤、横纹肌肉瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌或急性骨髓性白血病。

[0327] 另外地或可替代地,在本文公开方法的一些实施方案中,所述复合物通过静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、脑室内、口服或鼻内给予。在某些实施方案中,将所述复合物给予到受试者的脑脊液或血液中。

[0328] 在本文公开方法的一些实施方案中,在给予所述复合物后2至120小时之间检测由

所述复合物发射的放射性水平。在本文公开方法的某些实施方案中,由所述复合物发射的放射性水平表示为每克组织的注射剂量百分比(%ID/g)。参考值可通过如下方法来计算:测量存在于非肿瘤(正常)组织中的放射性水平,并计算存在于非肿瘤(正常)组织中的平均放射性水平±标准差。在一些实施方案中,参考值是标准摄取值(SUV)。参见Thie JA, J Nucl Med. 45(9):1431-4(2004)。在一些实施方案中,肿瘤与正常组织之间的放射性水平的比率为约2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1、50:1、55:1、60:1、65:1、70:1、75:1、80:1、85:1、90:1、95:1或100:1。

[0329] 在另一方面,本公开文本提供了用于在被诊断为聚Sia相关癌症的受试者中增加肿瘤对放射疗法的敏感性的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的本技术的抗DOTA双特异性抗体,其中所述抗DOTA双特异性抗体被配置为定位于表达高DP聚Sia的肿瘤;并且(b)向所述受试者给予有效量的放射性标记的DOTA半抗原,其中所述放射性标记的DOTA半抗原被配置为结合所述抗DOTA双特异性抗体。在一些实施方案中,受试者是人。

[0330] 抗DOTA双特异性抗体在一定条件下给予并持续一段时间(例如,根据给药方案),所述条件和时间段足以使其在肿瘤细胞中饱和。在一些实施方案中,在给予抗DOTA双特异性抗体后,从血流中去除未结合的抗DOTA双特异性抗体。在一些实施方案中,在足以允许清除未结合的抗DOTA双特异性抗体的时间段后给予放射性标记的DOTA半抗原。

[0331] 可以将放射性标记的DOTA半抗原在给予抗DOTA双特异性抗体后1分钟至4天或更多天数之间的任何时间给予。例如,在一些实施方案中,在给予抗DOTA双特异性抗体后1分钟、2分钟、3分钟、4分钟、5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟、55分钟、1小时、1.25小时、1.5小时、1.75小时、2小时、2.5小时、3小时、3.5小时、4小时、4.5小时、5小时、5.5小时、6小时、6.5小时、7小时、7.5小时、8小时、8.5小时、9小时、9.5小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、48小时、72小时、96小时或其中的任何范围,给予放射性标记的DOTA半抗原。可替代地,可以将放射性标记的DOTA半抗原在给予抗DOTA双特异性抗体后4天或更多天数之后的任何时间给予。

[0332] 另外地或可替代地,在一些实施方案中,所述方法进一步包括在给予放射性标记的DOTA半抗原之前,向所述受试者给予有效量的清除剂。清除剂可以是能够与C825半抗原缀合的任何分子(葡聚糖或树枝状聚合物或聚合物)。在一些实施方案中,清除剂不多于2000kD、1500kD、1000kD、900kD、800kD、700kD、600kD、500kD、400kD、300kD、200kD、100kD、90kD、80kD、70kD、60kD、50kD、40kD、30kD、20kD、10kD或5kD。在一些实施方案中,清除剂是500kD氨基葡聚糖-DOTA缀合物(例如,500kD葡聚糖-DOTA-Bn(Y)、500kD葡聚糖-DOTA-Bn(Lu)或500kD葡聚糖-DOTA-Bn(In)等)。

[0333] 在一些实施方案中,在不进一步给予本技术的抗DOTA双特异性抗体的情况下,给予清除剂和放射性标记的DOTA半抗原。例如,在一些实施方案中,本技术的抗DOTA双特异性抗体根据包括至少一个以下循环的方案给予:(i)给予本技术的抗DOTA双特异性抗体(任选地,使得相关肿瘤细胞饱和);(ii)给予放射性标记的DOTA半抗原和任选的清除剂;(iii)任选地另外给予放射性标记的DOTA半抗原和/或清除剂,而不另外给予抗DOTA双特异性抗体。在一些实施方案中,所述方法可以包括多个这样的循环(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个循环)。

[0334] 另外地或可替代地,在所述方法的一些实施方案中,抗DOTA双特异性抗体和/或放射性标记的DOTA半抗原通过静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、脑室内、口服或鼻内给予。

[0335] 在一个方面,本公开文本提供了用于在被诊断为聚Sia相关癌症的受试者中增加肿瘤对放疗的敏感性的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的复合物,所述复合物包含放射性标记的DOTA半抗原以及识别并结合所述放射性标记的DOTA半抗原和高DP聚Sia抗原靶标的本技术的双特异性抗体,其中所述复合物被配置为定位于表达由所述复合物的双特异性抗体识别的高DP聚Sia抗原靶标的肿瘤。所述复合物可以通过静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、脑室内、口服或鼻内给予。在一些实施方案中,受试者是人。

[0336] 在另一个方面,本公开文本提供了用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括(a)向所述受试者给予有效量的本技术的抗DOTA双特异性抗体,其中所述抗DOTA双特异性抗体被配置为定位于表达高DP聚Sia抗原靶标的肿瘤;并且(b)向所述受试者给予有效量的放射性标记的DOTA半抗原,其中所述放射性标记的DOTA半抗原被配置为结合所述抗DOTA双特异性抗体。抗DOTA双特异性抗体在一定条件下给予并持续一段时间(例如,根据给药方案),所述条件和时间段足以使其在肿瘤细胞中饱和。在一些实施方案中,在给予抗DOTA双特异性抗体后,从血流中去除未结合的抗DOTA双特异性抗体。在一些实施方案中,在足以允许清除未结合的抗DOTA双特异性抗体的时间段后给予放射性标记的DOTA半抗原。在一些实施方案中,受试者是人。

[0337] 因此,在一些实施方案中,所述方法进一步包括在给予放射性标记的DOTA半抗原之前,向所述受试者给予有效量的清除剂。可以将放射性标记的DOTA半抗原在给予抗DOTA双特异性抗体后1分钟至4天或更多天数之间的任何时间给予。例如,在一些实施方案中,在给予抗DOTA双特异性抗体后1分钟、2分钟、3分钟、4分钟、5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟、55分钟、1小时、1.25小时、1.5小时、1.75小时、2小时、2.5小时、3小时、3.5小时、4小时、4.5小时、5小时、5.5小时、6小时、6.5小时、7小时、7.5小时、8小时、8.5小时、9小时、9.5小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、48小时、72小时、96小时或其中的任何范围,给予放射性标记的DOTA半抗原。可替代地,可以将放射性标记的DOTA半抗原在给予抗DOTA双特异性抗体后4天或更多天数之后的任何时间给予。

[0338] 所述清除剂可以是500kD氨基葡聚糖-DOTA缀合物(例如,500kD葡聚糖-DOTA-Bn(Y)、500kD葡聚糖-DOTA-Bn(Lu)或500kD葡聚糖-DOTA-Bn(In)等)。在一些实施方案中,在不进一步给予抗DOTA双特异性抗体的情况下,给予清除剂和放射性标记的DOTA半抗原。例如,在一些实施方案中,抗DOTA双特异性抗体根据包括至少一个以下循环的方案给予:(i)给予本技术的抗DOTA双特异性抗体(任选地,使得相关肿瘤细胞饱和);(ii)给予放射性标记的DOTA半抗原和任选的清除剂;(iii)任选地另外给予放射性标记的DOTA半抗原和/或清除剂,而不另外给予抗DOTA双特异性抗体。在一些实施方案中,所述方法可以包括多个这样的循环(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个循环)。

[0339] 本文还提供了用于在有需要的受试者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的复合物,所述复合物包含放射性标记的DOTA半抗原以及识别并结合所述

放射性标记的DOTA半抗原和高DP聚Sia抗原靶标的本技术的双特异性抗体,其中所述复合物被配置为定位于表达由所述复合物的双特异性抗体识别的高DP聚Sia抗原靶标的肿瘤。可以通过计算曲线下面积(AUC)肿瘤:AUC正常组织比率来测定这种复合物的治疗有效性。在一些实施方案中,复合物的AUC肿瘤:AUC正常组织比率为约2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1、50:1、55:1、60:1、65:1、70:1、75:1、80:1、85:1、90:1、95:1或100:1。

[0340] 毒性。最佳地,本文描述的抗聚Sia抗体的有效量(例如剂量)将提供治疗益处,而不会引起对受试者的实质性毒性。本文所述的抗聚Sia抗体的毒性可以在细胞培养或实验动物中通过标准药理学程序来确定,例如通过测定LD₅₀(对50%群体致死的剂量)或LD₁₀₀(对100%群体致死的剂量)来确定。毒性与治疗效果之间的剂量比是治疗指数。从这些细胞培养测定和动物研究获得的数据可用于制定对人无毒的剂量范围。本文所述的抗聚Sia抗体的剂量在循环浓度的范围内,所述循环浓度包括具有很小或没有毒性的有效剂量。所述剂量可以根据所采用的剂型和所利用的给予途径在这个范围内变化。单独医师可以根据受试者的情况选择确切配方、给予途径和剂量。参见例如,Fingl等人,In: The Pharmacological Basis of Therapeutics,第1章(1975)。

[0341] 药物组合物的配制品。根据本技术的方法,可以将抗聚Sia抗体掺入适合于给予的药物组合物中。药物组合物通常包含重组或基本上纯化的抗体和药学上可接受的载体,呈适合于给予至受试者的形式。药学上可接受的载体部分取决于所给予的特定组合物,以及取决于用于给予所述组合物的特定方法。因此,存在用于给予抗体组合物的药物组合物的多种合适配制品(参见例如,Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., 伊斯顿,宾夕法尼亚州第18版,1990)。通常将药物组合物配制为无菌的、基本上等渗的并且完全符合美国食品和药物管理局的所有良好生产规范(GMP)规定。

[0342] 术语“药学上可接受的”、“生理上可耐受的”及其语法变体,当它们指组合物、载体、稀释剂和试剂时,可以互换使用,并表示所述材料能够被给予至受试者或给予至受试者上而不产生会禁止组合物的给予的程度的不希望的生理影响。例如,“药学上可接受的赋形剂”意指可用于制备通常是安全、无毒并且期望的药物组合物的赋形剂,并且包括对于兽用以及人药物用途可接受的赋形剂。此类赋形剂可以是固体、液体、半固体,或者在气溶胶组合物情况下是气体。“药学上可接受的盐和酯”意指药学上可接受的并具有所需药理特性的盐和酯。此类盐包括可以在存在于组合物中的酸性质子能够与无机或有机碱反应的情况下形成的盐。合适的无机盐包括与碱金属例如钠和钾、镁、钙和铝形成的那些盐。合适的有机盐包括与有机碱形成的那些有机盐,所述有机碱如胺碱,例如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡萄糖胺等。此类盐还包括与无机酸(例如盐酸和氢溴酸)和有机酸(例如乙酸、柠檬酸、马来酸以及烷烃磺酸和芳烃磺酸如甲磺酸和苯磺酸)形成的酸加成盐。药学上可接受的酯包括由抗聚Sia抗体中存在的羧基、磺酰氧基和磷酸氧基形成的酯,例如C₁₋₆烷基酯。当存在两个酸性基团时,药学上可接受的盐或酯可以是单酸单盐或酯或者二盐或酯;并且类似地,当存在多于两个酸性基团时,此类基团中的一些或全部可以被盐化或酯化。以此技术命名的抗聚Sia抗体可以以未盐化或未酯化形式存在,或以盐化和/或酯化形式存在,并且这种抗聚Sia抗体的命名旨在包括初始(未盐化和未酯化)化合物及其药学上可接受的盐和酯。另外,本技术的某些实施方案可以以多于一种立体异构体形式存在,并且

这种抗聚Sia抗体的命名旨在包括所有单一的立体异构体以及此类立体异构体的所有混合物(无论是外消旋的还是其他形式)。本领域普通技术人员不难确定给予本技术的特定药物和组合物的适当时间安排、顺序和剂量。

[0343] 此类载体或稀释剂的例子包括但不限于水、盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)、右旋糖溶液和5%人血清白蛋白。也可使用脂质体和非水性媒介物,如固定油。此类介质和化合物用于药物活性物质的用途是本领域熟知的。除非任何常规介质或化合物与抗聚Sia抗体不相容,否则考虑其在组合物中的使用。也可以将补充性活性化合物掺入组合物中。

[0344] 配制本技术的药物组合物以与其预期的给予途径相容。本技术的抗聚Sia抗体组合物可以通过肠胃外、局部、静脉内、口服、皮下、动脉内、真皮内、透皮、直肠、颅内、鞘内、腹膜内、鼻内;或肌肉内途径,或者作为吸入剂给予。可以将抗聚Sia抗体任选地与在治疗各种聚Sia相关癌症方面至少部分有效的其他药剂组合给予。

[0345] 用于肠胃外、真皮内或皮下施用的溶液或悬浮液可包括以下组分:无菌稀释剂,如注射用水、盐水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂;抗细菌化合物,如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合化合物,如乙二胺四乙酸(EDTA);缓冲液(如醋酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐),以及用于调节张力的化合物(如氯化钠或右旋糖)。可用酸或碱(如盐酸或氢氧化钠)调节pH。可以将肠胃外制剂封装在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0346] 适合于可注射使用的药物组合物包括无菌水性溶液(在水溶性的情况下)或分散体以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。对于静脉内给予,适合的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™(BASF,派西派尼市,新泽西州)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在所有情况下,组合物必须是无菌的并且应当是易于注射的程度的流体。所述组合物在制造和储存条件下必须稳定,并且其保存必须可抵抗诸如细菌和真菌的微生物的污染作用。载体可以是溶剂或分散介质,其含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)及其适宜混合物。例如,通过使用包衣如卵磷脂、通过在分散液的情况下维持所需的粒度、以及通过使用表面活性剂,可以维持适当的流动性。防止微生物的作用可以通过多种抗细菌和抗真菌化合物(例如,对羟基苯甲酸酯、三氯叔丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等)来实现。在许多情况下,希望在组合物中包含等渗化合物,例如糖、多元醇(如甘露糖醇、山梨糖醇)、氯化钠。可以通过在组合物中包含延迟吸收的化合物例如单硬脂酸铝和明胶来实现可注射组合物的延长吸收。

[0347] 无菌可注射溶液可以通过以下方式制备:将本技术的抗聚Sia抗体以所需量掺入视需要具有上文所列举成分中的一种或组合的适当溶剂中,之后过滤灭菌。通常,通过将所述抗聚Sia抗体掺入无菌媒介物中来制备分散液,所述无菌媒介物含有基础分散介质和来自以上列举的那些成分的所需其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,制备方法为真空干燥和冷冻干燥,所述真空干燥和冷冻干燥由先前无菌过滤的溶液产生活性成分和任何另外的所需成分的粉末。本技术的抗体可以以积存注射剂或植入制剂的形式给予,可以将所述形式以允许活性成分的持续或脉冲释放的方式配制。

[0348] 口服组合物通常包括惰性稀释剂或可食用载体。可以将它们封装于明胶胶囊中或压成片剂。出于口服治疗性给予的目的,可以将抗聚Sia抗体与赋形剂一起掺入,并以片剂、

锭剂或胶囊的形式使用。口服组合物也可以使用用作漱口剂的流体载体来制备,其中流体载体中的化合物经口施用并漱口和被吐出或者被吞下。可以包括药学上相容的结合化合物和/或辅助材料作为组合物的一部分。片剂、丸剂、胶囊、锭剂等可含有任何以下成分或具有类似性质的化合物:粘合剂,如微晶纤维素、黄芪胶或明胶;赋形剂,如淀粉或乳糖,崩解性化合物,如藻酸、Primogel或玉米淀粉;润滑剂,如硬脂酸镁或Sterotes;助流剂,如二氧化硅胶体;甜味化合物,如蔗糖或糖精;或调味化合物,如薄荷、水杨酸甲酯或橙味剂。

[0349] 对于通过吸入给予,可以从加压容器或分配器(其含有合适的推进剂,例如气体(如二氧化碳))或者喷雾器以气溶胶喷雾剂形式递送抗聚Sia抗体。

[0350] 全身性给予也可以通过经粘膜或透皮方式进行。对于经粘膜或透皮给予,在配制品中使用适合于待渗透屏障的渗透剂。此类渗透剂通常是本领域已知的,并且包括(例如对于经粘膜给予)洗涤剂、胆汁盐、以及梭链孢酸衍生物。经粘膜给予可以通过使用鼻喷雾剂或栓剂来完成。对于透皮给予,将抗聚Sia抗体配制成如本领域通常已知的软膏剂、油膏剂、凝胶剂或乳膏剂。

[0351] 也可以将抗聚Sia抗体制备为呈栓剂(例如,与常规栓剂基质如可可脂和其他甘油酯一起)或保留灌肠剂的形式以供直肠递送的药物组合物。

[0352] 在一个实施方案中,抗聚Sia抗体是用防止抗聚Sia抗体从身体迅速清除的载体制备的,如控释配制品,包括植入物和微囊化递送系统。可以使用可生物降解的生物相容性聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。用于制备此类配制品的方法对本领域技术人员而言将是清楚的。所述材料也可以从Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals, Inc. 商购获得。脂质体悬浮液(包括用针对病毒抗原的单克隆抗体靶向感染细胞的脂质体)也可用作药学上可接受的载体。这些可以根据例如在美国专利号4,522,811中所述的本领域技术人员已知的方法来制备。

[0353] C. 试剂盒

[0354] 本技术提供用于检测和/或治疗聚Sia相关癌症的试剂盒,所述试剂盒包含至少一种本技术的免疫球蛋白相关组合物(例如,本文所述的任何抗体或抗原结合片段)或其功能性变体(例如,取代变体)。任选地,将本技术的试剂盒的上述组分包装在合适的容器中并进行标记以用于聚Sia相关癌症的诊断和/或治疗。上述组分可以作为水溶液(优选无菌溶液)或作为用于重构的冻干(优选无菌)配制品的形式储存在单元容器或多剂量容器(例如密封的安瓿、小瓶、瓶子、注射器和试管)中。试剂盒还可以包含第二容器,所述第二容器容纳有适合于将药物组合物稀释至更大体积的稀释剂。合适的稀释剂包括但不限于药物组合物的药学上可接受的赋形剂和盐水溶液。此外,试剂盒可以包含用于稀释药物组合物的说明书和/或用于给予稀释的或未稀释的药物组合物的说明书。容器可以由多种材料(如玻璃或塑料)制成,并且可以具有无菌的进出口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或带有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。试剂盒可以进一步包含更多容器,所述容器含有药学上可接受的缓冲液,如磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和右旋糖溶液。试剂盒可以进一步包括从商业和用户的角度来看合意的其他材料,包括用于一种或多种合适宿主的其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针、注射器、培养基。试剂盒可以任选地包括通常包含在治疗或诊断产品的商业包装中的说明书,所述说明书含有关于例如关于使用此类治疗或诊断产品的适应症、用法、剂量、制造、给予、禁忌症和/或警告的信息。

[0355] 试剂盒可用于检测生物样品中免疫反应性高DP聚Sia的存在,所述生物样品是例如何体液,包括但不限于例如血清、血浆、淋巴液、囊液、尿、粪便、脑脊液、腹水或血液,并且包括体组织的活检样品。例如,试剂盒可以包含:能够结合生物样品中的高DP聚Sia的本技术的一种或多种人源化、嵌合或双特异性抗聚Sia抗体(或其抗原结合片段);用于确定样品中高DP聚Sia的量的器件;以及用于将样品中的免疫反应性高DP聚Sia的量与标准品进行比较的器件。一种或多种抗聚Sia抗体可以经标记。试剂盒组分(例如试剂)可以被包装在合适的容器中。试剂盒可以进一步包含使用所述试剂盒检测免疫反应性高DP聚Sia的说明书。

[0356] 对于基于抗体的试剂盒,所述试剂盒可以包含,例如1) 附接于固体支持物的第一抗体,例如本技术的人源化、嵌合或双特异性抗聚Sia抗体(或其抗原结合片段),所述第一抗体与高DP聚Sia结合;以及,任选地;2) 第二种不同抗体,其与高DP聚Sia或所述第一抗体结合并与可检测标记缀合。

[0357] 试剂盒也可以包含例如缓冲剂、防腐剂或蛋白质稳定剂。试剂盒可以进一步包含检测所述可检测标记所需的其他组分,例如酶或底物。试剂盒还可以含有对照样品或一系列对照样品,可以对其进行测定并与测试样品进行比较。试剂盒的每个组分可以封装在单独的容器内,并且所有不同的容器可以与用于解释使用所述试剂盒进行测定的结果的说明书一起放在单个包装内。本技术的试剂盒可以在试剂盒容器上或试剂盒容器中含有书面产品。书面产品描述了如何使用试剂盒中含有的试剂,例如以用于在体外或体内检测高DP聚Sia,或用于在有需要的受试者中治疗聚Sia相关癌症。在某些实施方案中,可以根据本技术的方法使用所述试剂。

[0358] 实施例

[0359] 通过以下实施例进一步说明本技术,不应将所述实施例视为以任何方式加以限制。以下实施例展示了本技术的说明性抗聚Sia抗体的制备、表征和用途。以下实施例展示了本技术的嵌合、人源化和双特异性抗体的产生,以及对它们的结合特异性和体内生物活性的表征。

[0360] 实施例1:用于产生和表征本技术的聚唾液酸抗体的材料和方法

[0361] 聚Sia x CD3双特异性抗体的产生。通过将人源化OKT3 scFv经由(G₄S)₃接头融合到P35 H1L2抗体轻链的C末端上构建聚Sia x CD3 BsAb,如先前在以下文献中所述:Xu H等人,Cancer Immunology Research 3:266-277 (2015)和Lopez-Albaitero A等人,OncoImmunology 6:e1267891(2017)。在抗体的Fc区中引入N297A和K322A突变,以分别消除FcR和补体结合活性(Shields RL等人,Journal of Biological Chemistry 276:6591-6604(2001);Idusogie EE等人,Journal of Immunology 164:4178-4184(2000))。然后将DNA构建体转染到CHO-S细胞中,并针对高抗体产生水平选择稳定的克隆。对于更大规模的抗体纯化,将选择的稳定克隆在摇瓶中扩增。使用一步式蛋白A亲和色谱从上清液纯化双特异性抗体。

[0362] SEC-HPLC分析。使用HPLC系统(Shimadzu Scientific Instruments Inc.,哥伦比亚,马里兰州)分析BC137的大小和纯度。使用分子量标准品(Bio-Rad Laboratories,赫拉克勒斯,加利福尼亚州)鉴定单体种类,并基于不同非缓冲峰的相对曲线下面积(AUC)计算单体百分比。

[0363] T细胞依赖性细胞毒性(TDCC)测定。使用⁵¹Cr释放测定或Pierce LDH释放测定

(Thermo Fisher Scientific, 坎布里奇, 马萨诸塞州) 两者进行细胞毒性测定。对于这两个测定, 随后使用通过暴露于抗CD3/抗CD28 Dynabead 14天激活的T细胞作为效应细胞, 但对于来自PBMC的分选细胞除外, 所述分选细胞用于在没有预先刺激的情况下进行TDCC测定。如先前在Cheng M等人, *International Journal of Cancer* 136:476-486 (2015) 中所述地进行⁵¹Cr测定。根据具有以下修改的制造商说明书进行LDH测定。简而言之, 对于96孔圆底板的每个测定孔, 根据预期(效应子:靶标)E:T比, 将 1.5×10^4 个靶细胞与可变数量的效应细胞一起孵育。然后以不同的稀释度加入抗体, 并将板在37°C下孵育16小时。每个条件以一式三份进行。然后将上清液转移到具有反应底物的平底板并孵育30min, 之后以680nm作为参考波长, 在490nm下读取。通过使用GraphPad Prism将曲线拟合到4参数非线性回归模型来计算EC₅₀值。

[0364] 体内肿瘤疗法。为了测试BC137的抗肿瘤功效, 将免疫缺陷小鼠用于人肿瘤异种移植。将神经母细胞瘤IMR-32肿瘤皮下植入, 其中将肿瘤细胞与基质胶混合并植入Balb/c Rag2^{-/-} IL2R γ ^{-/-} (DKO) 小鼠(现在可从Taconic (伦斯勒, 纽约) 商购获得作为CIEA BRG小鼠)的侧腹。通过每周使用卡尺或数字装置Peira TM900扫描仪(Peira Scientific Instruments, 蒂伦豪特, 比利时)测量肿瘤体积来监测肿瘤生长。

[0365] 肿瘤植入后第7天, 开始治疗。将100 μ g BsAb注射到每只小鼠中(静脉注射, 每周两次, 五周), 并且第二天注射1000万个CD3/CD28珠粒活化的T细胞(每周一次, 五周)。

[0366] 使用酵母展示进行亲和力成熟。用20个氨基酸的(G4S)₃接头将亲本P35 H1L2转化成scFv形式, 并克隆到酵母展示载体中。使用GeneMorph II诱变试剂盒(Agilent Technologies, 圣克拉拉, 加利福尼亚州)使P35 H1L2 scFv随机突变。将PCR产物与线性化载体一起电穿孔到酵母中, 并使用生物素化的聚Sia使文库经受4轮分选。对最后一轮的单独克隆进行PCR扩增并测序, 以分析突变模式。将所选择的scFv克隆转化成BsAb形式是使用一步式4片段连接方法来进行, 其中使用50ng线性化载体并且其他3种组分的载体与插入物的摩尔比为1:3。在室温下用快速DNA连接试剂盒(Thermo Fisher Scientific, 坎布里奇, 马萨诸塞州)进行连接1小时。将II型限制性酶SapI(New England Biolabs, 伊普斯威奇, 马萨诸塞州)用于确保不同组分之间的无缝连接。根据制造商的说明书, 使用Expi293表达系统(Thermo Fisher Scientific, 坎布里奇, 马萨诸塞州)瞬时表达所选择的克隆。在摇瓶中培养4-5天后, 将来自Expi293细胞的上清液用于使用MabSelect SuRe(GE Healthcare, 芝加哥, 伊利诺伊州)纯化抗体, 并在透析膜(Spectrum Laboratories, Inc., 兰乔多明格兹, 加利福尼亚州)中针对pH 8.0柠檬酸盐缓冲液进行透析。

[0367] 表面等离子体共振(SPR)分析。将多聚乙酰神经氨酸(约100个Sia单元的聚Sia)固定在CM5芯片上。使用Biacore™ T100系统(GE Healthcare, 芝加哥, 伊利诺伊州)将五种浓度的2倍连续稀释的抗体IgG或BsAb流过芯片。在25°C下测量结合动力学。传感图用二者的1:1结合模型进行拟合, 以导出动力学参数。

[0368] 实施例2: 嵌合和人源化P35抗体的产生

[0369] 嵌合和人源化抗聚Sia抗体是使用CDR移植方法使用紧密同源的人种系序列产生的。将两种不同的人源化VH(P35 H1, P35 H2)和人源化VL(P35 L1, P35 L2)序列组合, 以产生4种不同的人源化抗聚Sia IgG1抗体。图3通过四种组合H1L1、H1L2、H2L1和H2L2的流式细胞术证明了在抗原结合上的差异。P35 H1L2展现了最高的结合(图3), 并被进一步研究。

[0370] 这些结果证明,本技术的抗体或其抗原结合片段以高结合亲和力与聚唾液酸抗原特异性地结合。因此,本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于检测样品中具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)的方法以及可用于检测受试者中肿瘤的方法。

[0371] 实施例3:聚Sia在多种癌细胞系上的表达

[0372] 使用嵌合P35 IgG1在大量癌细胞系上测试了聚Sia的表达。将同种型匹配的对照抗体(抗RSV帕利珠单抗)用作对照,并且平均荧光强度如图1(A)和1(B)所示。对于神经母细胞瘤、小细胞肺癌(SCLC)和急性骨髓性白血病(AML),观察到高水平的聚Sia。考虑到先前尚未报道过对于AML具有高水平的聚Sia,因此在AML细胞中检测到聚Sia是出乎意料的。

[0373] 这些结果证明,本技术的抗体或其抗原结合片段以高结合亲和力与聚唾液酸抗原特异性地结合。因此,本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于检测样品中具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)的方法以及可用于检测受试者中肿瘤的方法。

[0374] 实施例4:聚Sia在SCLC患者衍生的异种移植物(PDX)上的表达

[0375] 使用嵌合的P35抗体通过免疫组织化学测试了聚Sia在14种不同的SCLC PDX样品上的表达。使用1-4的等级量表对样品进行评价,在14个样品中,有11个显示出高水平的染色区域(3或4级)。参见图2。

[0376] 这些结果证明,本技术的抗体或其抗原结合片段以高结合亲和力与聚唾液酸抗原特异性地结合。因此,本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于检测样品中具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)的方法以及可用于检测受试者中肿瘤的方法。

[0377] 实施例5:聚Sia x CD3双特异性抗体的产生

[0378] 当测试针对聚Sia(+)细胞系的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)时,人源化P35 IgG1抗体未展现出抗肿瘤活性(图66)。为了赋予人源化P35抗体抗肿瘤特性,产生了靶向聚Sia x CD3的双特异性抗体,从而重定向T细胞以杀死肿瘤。图4(A)示出了聚Sia x CD3 BsAb的示意图。产生的第一个BsAb利用P35 H1L2序列以制造Biclonal 137(BC137)。图4(B)示出了通过SEC-HPLC得出的聚Sia x CD3双特异性抗体BC137的纯度,其中BC137的主峰(280nm处的吸光度为95%)的MW约为210kDa。在多次冷冻和解冻循环后,通过SEC-HPLC得出BC137 BsAb保持稳定。

[0379] 实施例6:聚Sia-BsAb重定向的对人癌细胞系的T细胞细胞毒性

[0380] 在24小时乳酸脱氢酶(LDH)细胞毒性测定中采用活化的人T细胞(效应子/靶标比率:10:1)测试了聚Sia(+)细胞系黑素瘤M14和神经母细胞瘤IMR-32,以测试BC137重定向的T细胞细胞毒性。

[0381] 图5(A)-5(B)展示出BC137展现了近100ng/ml的 EC_{50} 值(约450pM)。考虑到人源化P35 H1L2抗体展现了缺乏ADCC,BC137展现出高T细胞依赖性细胞介导的细胞毒性(TDCC)是出乎意料的。

[0382] 这些结果证明,本技术的抗体或其抗原结合片段以高结合亲和力与聚唾液酸抗原特异性地结合。因此,本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于检测样品中具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)的方法以及可用于检测受试者中肿瘤的方法。

[0383] 实施例7:聚Sia-BsAb在具有神经母细胞瘤IMR-32肿瘤的小鼠异种移植物研究中显示出抗肿瘤效力

[0384] 为了测试BC137的抗肿瘤功效,将免疫缺陷小鼠用于人肿瘤异种移植。将神经母细

胞瘤IMR-32肿瘤皮下植入Balb/c Rag2^{-/-}IL2R γ ^{-/-} (DKO) 小鼠的侧腹。如图6所示,在没有抗体治疗的情况下,仅肿瘤组和肿瘤+活化的T细胞组两者展现出快速的肿瘤生长。相比之下,在5周内10次剂量的BC137有效地治愈了小鼠,所述小鼠保持无肿瘤至少50天。未观察到临床毒性。

[0385] 综上所述,这些结果证明,本技术的抗体或抗原结合片段可以检测肿瘤并抑制肿瘤生长和/或转移的进展。因此,本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于在有需要的受试者中检测和/或治疗聚Sia相关癌症的方法。

[0386] 实施例8:通过计算机建模和合理设计进行抗聚Sia抗体的亲和力成熟

[0387] 在进一步提高BC137的效力的尝试中,通过合理的工程化和随机诱变/酵母展示二者尝试了亲和力成熟。为了进行合理的工程化,基于先前已解析的与八唾液酸配体结合的scFv的晶体结构(PDB 3WDB),对mAb735的结合口袋进行了静电分析。使用Biovia Discovery Studio建模软件(Dassault System,圣地亚哥,加利福尼亚)使用DelPhi算法产生静电表面图(图7(A))。静电势图示出了2个带负电残基(口袋表面的VH:D31,和结合口袋深处的VH:D105)。图7(B)示出了mAb735的结合口袋的截面带状图。不希望受到理论的束缚,认为将在D31和D105处的电荷改变为带正电残基增强了聚Sia结合。在这些位点将突变引入P35 H1L2 IgG1中,并且然后测试与聚Sia(+)神经母细胞瘤BE(1)n细胞的结合。出人意料的是,D105H示出了比亲本P35 H1L2更弱的结合,然而在D31处的带正电氨基酸示出了增强的结合;同时D31R示出了最增强的结合(图7(C))。

[0388] 这些结果证明,本技术的抗体或其抗原结合片段以高结合亲和力与聚唾液酸抗原特异性地结合。因此,本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于检测样品中具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)的方法以及可用于检测受试者中肿瘤的方法。

[0389] 实施例9:通过酵母展示进行聚Sia-BsAb的亲和力成熟

[0390] 在进一步改善聚Sia-BsAb的效力的尝试中,使用酵母展示法使源自P35 H1L2的scFv亲和力成熟。利用了两种筛选方法,直接方法和动力学方法(参见Boder, E. T. 和 Wittrup, K. D, Biotechnol Prog., 1998, 14:55-62)。在直接方法中,在分选之前,将酵母细胞与抗原孵育至平衡。在动力学筛选中,将酵母细胞用饱和量的标记抗原染色,然后添加非标记的抗原作为竞争剂。基于序列分析,从直接筛选方法中选择了6个克隆,从动力学筛选方法中选择了8个克隆,并且从计算机设计中选择了一个克隆(D31R)。在选择克隆上进行表面等离子体共振(SPR)。

[0391] 从直接筛选中选择的克隆都含有D31和W50的突变,其中两个在K38上具有突变。随后将克隆通过解离常数(K_D ,图8(A)-8(B))进行排序。与野生型克隆相比,克隆DS54展现出最低的 K_D ,大于20倍的亲和力改善。克隆DS47具有最小的 K_{off} ,比野生型克隆慢15倍。D31R具有最快的缔合速率,与野生型克隆相比,将近快250倍。产生了另外两个克隆,DS47+D31R和DS54+D31R。

[0392] 关于从动力学筛选中选择的克隆(图9(A)-9(B)),KS34相对于野生型克隆在亲和力上有3倍的改善。克隆KS2具有最慢的解离速率,比野生型克隆慢多于6倍。即使来自动力学筛选的克隆中的大多数共享相同的D65C突变,来自动力学筛选的克隆也具有就共有氨基酸而言的较低保守性。然后将6个克隆转化回双特异性形式。

[0393] 将三种细胞系用于比较选择的克隆在聚Sia x CD3 BsAb-重定向的T细胞细胞毒

性中的功效。图10(A)-10(B)展示了选择的克隆在聚Sia x CD3 BsAB-重定向的T细胞细胞毒性中的功效。 EC_{50} 值证明,克隆DS47和DS54比野生型BsAb更有效。

[0394] 在体内疗法研究中,将DK0小鼠皮下植入与PBMC(从血沉棕黄层中失活)混合(1:1)的IMR-32细胞。在第4天开始用BsAB治疗(100 μ g,静脉注射,每周两次,五周),并且每周测量肿瘤体积。与对照组(同种型对照和去糖基化的huOKT3)和克隆54相比,聚Sia-BsAB和克隆47展现出抗肿瘤作用(图11)。在第38天,对照组的平均肿瘤大小达到大于1600mm³,而BC137-2 DS47的平均肿瘤大小小于280mm³(83%减少, $p=0.004$),以及BC137的平均肿瘤大小是310mm³(81%减少, $p=0.005$)。

[0395] 这些结果证明,本技术的抗体或其抗原结合片段以高结合亲和力与聚唾液酸抗原特异性地结合。因此,本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于检测样品中具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)的方法以及可用于检测受试者中肿瘤的方法。

[0396] 实施例10:使用聚Sia x DOTA双特异性抗体的预靶向放射免疫疗法

[0397] 为了确定人源化P35抗体是否可用于预靶向放射免疫疗法,使用IgG-scFv形式产生聚Sia x DOTA BsAb,其中将人源化抗DOTA scFv(huC825)与带有沉默Fc的人源化P35 IgG1的轻链的C末端融合(图12)。使用P35 H1L2,产生聚Sia x DOTA BsAb(BC163)。设计了治疗性预靶向放射免疫疗法(PRIT)实验,以测试聚Sia x DOTA BsAb的效力。

[0398] 用不同剂量的聚Sia x DOTA BsAb(0、0.25mg、0.5mg和1mg)注射具有>500mm³肿瘤负荷的IMR-32荷瘤裸鼠组。抗体每周注射一次,持续三周(除了给药1mg BsAb的小鼠,仅两周)。48小时后注射¹⁷⁷Lu-DOTA-Bn和清除剂。未接受治疗或接受¹⁷⁷Lu-DOTA-Bn的小鼠组展现出快速的肿瘤生长(图13(A)-13(B))。接受0.25、0.5或1.0mg BC163的小鼠组示出了无毒性迹象的几乎完全的肿瘤消融(图13(C)-13(E))。

[0399] 为了进一步优化和降低患者的潜在免疫原性,产生了八种另外的重链变体(87%-88%人种系含量)和三种另外的轻链变体(92%人种系含量)(图14(A)-14(B))。

[0400] 综上所述,这些结果证明,本技术的抗体或抗原结合片段可以检测肿瘤、提高肿瘤对放射疗法的敏感性,并且抑制肿瘤生长和/或转移的进程,并且可以用于选择患者进行预靶向免疫疗法。因此,本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于在有需要的受试者中检测和治疗聚Sia阳性癌症的方法。

[0401] 实施例11:重人源化抗聚Sia抗体的治疗效果表征

[0402] 经由表面等离子体共振测量重人源化抗聚Sia抗体对多聚乙酰神经氨酸的亲和力值。重人源化HP35重链(HC)变体1-8分别对应于SEQ ID NO:74-81。参见图55-62。重人源化HP35轻链(LC)变体1-3分别对应于SEQ ID NO:82-84。参见图63-65。这些测定的结果示于表2中:

[0403] 表2

[0404]

样品	ka1 (1/Ms)	kd1 (1/s)	ka2 (1/s)	kd2 (1/s)	KD (M)
HP35_LC2+HC5	2.46E+06	3.89E-01	7.30E-03	1.37E-03	2.50E-08
HP35_LC3+HC7	3.72E+05	2.46E-01	3.01E-02	1.84E-03	3.80E-08
HP35-嵌合	1.01E+06	5.26E-01	2.47E-02	1.97E-03	3.86E-08
HP35_LC2+HC6	1.12E+06	6.76E-01	2.30E-02	1.58E-03	3.90E-08
HP35_LC2+HC8	1.23E+06	6.63E-01	2.34E-02	1.88E-03	4.01E-08

HP35_LC2+HC1	1.08E+06	5.90E-01	2.45E-02	1.96E-03	4.04E-08
HP35_LC2+HC7	1.49E+06	7.21E-01	1.86E-02	1.73E-03	4.12E-08
HP35_LC3+HC1	7.32E+05	8.59E-01	2.72E-02	1.04E-03	4.33E-08
HP35_LC2+HC3	1.44E+06	7.01E-01	1.74E-02	1.70E-03	4.33E-08
HP35_LC3+HC4	2.46E+05	2.04E-01	3.22E-02	1.86E-03	4.55E-08
HP35_LC2+HC4	1.32E+06	7.13E-01	1.91E-02	1.75E-03	4.56E-08
HP35_LC3+HC5	1.93E+06	7.37E-01	1.53E-02	2.10E-03	4.61E-08
HP35_LC3+HC8	2.35E+05	1.86E-01	3.22E-02	2.01E-03	4.65E-08
HP35_LC3+HC6	2.48E+05	1.97E-01	3.07E-02	2.03E-03	4.92E-08
HP35_LC3+HC3	2.78E+05	2.56E-01	3.23E-02	1.96E-03	5.28E-08
HP35_LC2+HC2	1.18E+06	7.23E-01	1.98E-02	1.90E-03	5.36E-08
HP35_LC3+HC2	2.42E+05	2.14E-01	2.95E-02	2.03E-03	5.68E-08
HP35_LC1+HC1	7.39E+05	4.67E-01	2.55E-02	2.58E-03	5.81E-08
HP35_LC1+HC5	2.16E+06	3.30E-01	3.68E-03	2.69E-03	6.46E-08
HP35_LC1+HC7	1.45E+06	7.26E-01	1.55E-02	2.69E-03	7.37E-08
HP35_LC1+HC3	1.41E+06	6.89E-01	1.40E-02	2.62E-03	7.69E-08
HP35_LC1+HC2	1.30E+06	6.64E-01	1.51E-02	2.88E-03	8.15E-08
HP35_LC1+HC6	1.33E+06	7.09E-01	1.52E-02	2.74E-03	8.16E-08
HP35_LC1+HC8	9.10E+05	5.87E-01	1.75E-02	3.01E-03	9.50E-08
HP35_LC1+HC4	1.28E+06	6.77E-01	1.41E-02	3.08E-03	9.51E-08

[0405] 为了评价重人源化抗聚Sia抗体在加速储存条件下的长期稳定性,将抗体溶液储存在37℃的温控恒温箱中。在不同时间取出样品,并通过HPLC分析完整性。如表3所示,在37℃下3周后,大多数重人源化聚Sia抗体是76%至95%完整的。

[0406] 表3

[0407]

样品	开始	结束
HP35_LC3+HC4	99.3	95.3
HP35_LC3+HC6	99.2	94.7
HP35_LC3+HC7	99.3	94.7
HP35_LC3+HC5	99.3	94.7
HP35_LC3+HC8	98.6	94.2
HP35_LC3+HC3	99.3	83.5
HP35_LC2+HC7	99.1	83.0
HP35_LC2+HC6	99.1	82.9
HP35_LC3+HC2	99.3	82.5
HP35_LC3+HC1	98.7	81.9
HP35_LC2+HC8	98.4	81.8
HP35_LC1+HC7	99.3	81.5
HP35_LC2+HC2	99.2	81.5
HP35_LC1+HC8	99.0	81.4

HP35_LC2+HC1	98.4	81.4
HP35_LC1+HC5	99.5	81.0
HP35_LC1+HC3	99.4	80.9
HP35_LC1+HC6	99.3	80.9
HP35_LC1+HC4	99.3	80.4
HP35_LC2+HC5	99.2	79.6
HP35_LC2+HC4	99.0	79.3
HP35_LC2+HC3	99.0	79.2
HP35_LC1+HC2	99.3	78.7
HP35_嵌合	98.8	78.5
HP35_LC1+HC1	97.8	76.0

[0408] 便用流式细胞术测定了本技术的多种重人源化抗聚Sia抗体与M14黑素瘤细胞的结合。图67示出了本技术的重人源化抗聚Sia抗体的平均荧光强度(MFI)。图68示出了此较了本技术的多种重人源化抗聚Sia抗体相对于嵌合HP35聚Sia抗体的抗原结合特性和稳定性的热图。

[0409] 这些结果证明,本技术的抗聚Sia抗体或抗原结合片段可用于检测生物样品中具有高聚合度的聚唾液酸(高DP聚Sia)的方法以及检测有需要的受试者中聚Sia阳性癌症的方法。

[0410] 实施例12:重人源化抗聚Sia抗体的治疗效果的评价

[0411] 将使用本文所述的相同的PRIT实验方案测试图14(A)和14(B)中所示的八个另外的重链变体(87%-88%人种系含量)和三个另外的轻链变体(92%人种系含量),以测试聚Sia x DOTA BsAb的效力。预期接受本文公开的变体抗聚Sia抗体的荷瘤动物将展现肿瘤体积的减少。

[0412] 这些结果将证明本文公开的免疫球蛋白相关组合物可用于在有需要的受试者中检测和治疗聚Sia阳性癌症的方法。

[0413] 等效物

[0414] 本技术并非受限于本申请中描述的具体实施方案,所述实施方案旨在作为本技术的单独方面的单一说明。对于本领域技术人员清楚的是,可以在不背离本技术的精神和范围的情况下,对本技术进行多种修改和改变。本领域技术人员根据前述描述将清楚,除了本文列举的方法和装置外,在本技术范围内的功能上等效的方法和装置。此类修改和改变旨在落于本技术的范围内。应当理解,本技术不限于具体方法、试剂、化合物、组合物或生物系统,当然它们可以改变。还应理解本文使用的术语仅用于描述具体实施方案的目的,并且不意图具有限制性。

[0415] 另外,在本公开文本的特征或方面按马库什群组(Markushgroup)来描述的情况下,本领域技术人员应认识到,本公开文本因此也按马库什群组的任何单独成员或成员亚组来描述。

[0416] 本领域技术人员应理解,出于任何和所有目的,特别是就提供书面描述而言,本文公开的所有范围还涵盖其任何和所有可能的子范围及子范围的组合。任何所列范围都可容易地识别为充分描述相同范围并且使得相同范围能分解为至少相等的二分之一、三分之

一、四分之一、五分之一、十分之一等。作为非限制性例子,本文中论述的每个范围可容易地分解为下三分之一、中三分之一和上三分之一等。同样如本领域技术人员可理解,所有诸如“高达”、“至少”、“大于”、“小于”等言辞都包括所述数字并且涉及随后可分解为如上所述的子范围的范围。最后,本领域技术人员应理解,范围包括每个单独的成员。因此,例如,具有1-3个细胞的组是指具有1、2或3个细胞的组。类似地,具有1-5个细胞的组是指具有1、2、3、4或5个细胞的组等等。

[0417] 本文所提到或引用的所有专利、专利申请、待决申请和公开案都是通过引用以其整体并入本文,包括所有图形和表格,结合至其与本说明书的明确教示一致的程度。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 纪念斯隆凯特琳癌症中心
- [0003] <120> 抗聚唾液酸抗体及其用途
- [0004] <130> 115872-0474
- [0005] <140> PCT/US2019/022037
- [0006] <141> 2019-03-13
- [0007] <150> 62/643,141
- [0008] <151> 2018-03-14
- [0009] <160> 112
- [0010] <170> PatentIn 3.5版
- [0011] <210> 1
- [0012] <211> 5
- [0013] <212> PRT
- [0014] <213> 人工序列
- [0015] <220>
- [0016] <223> 人工序列的描述:合成肽
- [0017] <400> 1
- [0018] Asp Tyr Tyr Ile His
- [0019] 1 5
- [0020] <210> 2
- [0021] <211> 17
- [0022] <212> PRT
- [0023] <213> 人工序列
- [0024] <220>
- [0025] <223> 人工序列的描述:合成肽
- [0026] <400> 2
- [0027] Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
- [0028] 1 5 10 15
- [0029] Gly
- [0030] <210> 3
- [0031] <211> 8
- [0032] <212> PRT
- [0033] <213> 人工序列
- [0034] <220>
- [0035] <223> 人工序列的描述:合成肽
- [0036] <400> 3
- [0037] Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr
- [0038] 1 5
- [0039] <210> 4
- [0040] <211> 16
- [0041] <212> PRT

[0042]	<213>	人工序列
[0043]	<220>	
[0044]	<223>	人工序列的描述:合成肽
[0045]	<400>	4
[0046]		Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
[0047]	1	5 10 15
[0048]	<210>	5
[0049]	<211>	7
[0050]	<212>	PRT
[0051]	<213>	人工序列
[0052]	<220>	
[0053]	<223>	人工序列的描述:合成肽
[0054]	<400>	5
[0055]		Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser
[0056]	1	5
[0057]	<210>	6
[0058]	<211>	9
[0059]	<212>	PRT
[0060]	<213>	人工序列
[0061]	<220>	
[0062]	<223>	人工序列的描述:合成肽
[0063]	<400>	6
[0064]		Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr
[0065]	1	5
[0066]	<210>	7
[0067]	<211>	5
[0068]	<212>	PRT
[0069]	<213>	人工序列
[0070]	<220>	
[0071]	<223>	人工序列的描述:合成肽
[0072]	<400>	7
[0073]		Arg Tyr Tyr Ile His
[0074]	1	5
[0075]	<210>	8
[0076]	<211>	5
[0077]	<212>	PRT
[0078]	<213>	人工序列
[0079]	<220>	
[0080]	<223>	人工序列的描述:合成肽
[0081]	<400>	8
[0082]		Gly Tyr Tyr Ile His
[0083]	1	5

[0084]	<210> 9
[0085]	<211> 5
[0086]	<212> PRT
[0087]	<213> 人工序列
[0088]	<220>
[0089]	<223> 人工序列的描述:合成肽
[0090]	<400> 9
[0091]	Asn Tyr Tyr Ile His
[0092]	1 5
[0093]	<210> 10
[0094]	<211> 17
[0095]	<212> PRT
[0096]	<213> 人工序列
[0097]	<220>
[0098]	<223> 人工序列的描述:合成肽
[0099]	<400> 10
[0100]	Ser Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
[0101]	1 5 10 15
[0102]	Gly
[0103]	<210> 11
[0104]	<211> 17
[0105]	<212> PRT
[0106]	<213> 人工序列
[0107]	<220>
[0108]	<223> 人工序列的描述:合成肽
[0109]	<400> 11
[0110]	Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
[0111]	1 5 10 15
[0112]	Gly
[0113]	<210> 12
[0114]	<211> 17
[0115]	<212> PRT
[0116]	<213> 人工序列
[0117]	<220>
[0118]	<223> 人工序列的描述:合成肽
[0119]	<400> 12
[0120]	Cys Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
[0121]	1 5 10 15
[0122]	Gly
[0123]	<210> 13
[0124]	<211> 17
[0125]	<212> PRT

[0126] <213> 人工序列
 [0127] <220>
 [0128] <223> 人工序列的描述:合成肽
 [0129] <400> 13
 [0130] Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Glu
 [0131] 1 5 10 15
 [0132] Gly
 [0133] <210> 14
 [0134] <211> 17
 [0135] <212> PRT
 [0136] <213> 人工序列
 [0137] <220>
 [0138] <223> 人工序列的描述:合成肽
 [0139] <400> 14
 [0140] Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Gln Lys Phe Gln
 [0141] 1 5 10 15
 [0142] Gly
 [0143] <210> 15
 [0144] <211> 17
 [0145] <212> PRT
 [0146] <213> 人工序列
 [0147] <220>
 [0148] <223> 人工序列的描述:合成肽
 [0149] <400> 15
 [0150] Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe Gln
 [0151] 1 5 10 15
 [0152] Gly
 [0153] <210> 16
 [0154] <211> 17
 [0155] <212> PRT
 [0156] <213> 人工序列
 [0157] <220>
 [0158] <223> 人工序列的描述:合成肽
 [0159] <400> 16
 [0160] Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe Gln
 [0161] 1 5 10 15
 [0162] Gly
 [0163] <210> 17
 [0164] <211> 340
 [0165] <212> PRT
 [0166] <213> 智人(homo sapiens)
 [0167] <400> 17

[0168]	Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Asp Ser Thr
[0169]	1 5 10 15
[0170]	Pro Gln Asp Gly Asn Val Val Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
[0171]	20 25 30
[0172]	Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Asn Val
[0173]	35 40 45
[0174]	Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
[0175]	50 55 60
[0176]	Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly
[0177]	65 70 75 80
[0178]	Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
[0179]	85 90 95
[0180]	Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Pro Pro Pro Cys Cys His Pro
[0181]	100 105 110
[0182]	Arg Leu Ser Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser
[0183]	115 120 125
[0184]	Glu Ala Asn Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly
[0185]	130 135 140
[0186]	Ala Thr Phe Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly
[0187]	145 150 155 160
[0188]	Pro Pro Glu Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu
[0189]	165 170 175
[0190]	Pro Gly Cys Ala Gln Pro Trp Asn His Gly Glu Thr Phe Thr Cys Thr
[0191]	180 185 190
[0192]	Ala Ala His Pro Glu Leu Lys Thr Pro Leu Thr Ala Asn Ile Thr Lys
[0193]	195 200 205
[0194]	Ser Gly Asn Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser
[0195]	210 215 220
[0196]	Glu Glu Leu Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg
[0197]	225 230 235 240
[0198]	Gly Phe Ser Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln
[0199]	245 250 255
[0200]	Glu Leu Pro Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro
[0201]	260 265 270
[0202]	Ser Gln Gly Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala
[0203]	275 280 285
[0204]	Ala Glu Asp Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His
[0205]	290 295 300
[0206]	Glu Ala Leu Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Met Ala
[0207]	305 310 315 320
[0208]	Gly Lys Pro Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp
[0209]	325 330 335

[0210]	Gly Thr Cys Tyr
[0211]	340
[0212]	<210> 18
[0213]	<211> 17
[0214]	<212> PRT
[0215]	<213> 人工序列
[0216]	<220>
[0217]	<223> 人工序列的描述:合成肽
[0218]	<400> 18
[0219]	Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe Lys
[0220]	1 5 10 15
[0221]	Gly
[0222]	<210> 19
[0223]	<211> 106
[0224]	<212> PRT
[0225]	<213> 智人(homo sapiens)
[0226]	<400> 19
[0227]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
[0228]	1 5 10 15
[0229]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[0230]	20 25 30
[0231]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[0232]	35 40 45
[0233]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[0234]	50 55 60
[0235]	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[0236]	65 70 75 80
[0237]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[0238]	85 90 95
[0239]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0240]	100 105
[0241]	<210> 20
[0242]	<211> 16
[0243]	<212> PRT
[0244]	<213> 人工序列
[0245]	<220>
[0246]	<223> 人工序列的描述:合成肽
[0247]	<400> 20
[0248]	Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr
[0249]	1 5 10 15
[0250]	<210> 21
[0251]	<211> 9

[0252]	<212>	PRT
[0253]	<213>	人工序列
[0254]	<220>	
[0255]	<223>	人工序列的描述:合成肽
[0256]	<400>	21
[0257]	Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Ile	
[0258]	1	5
[0259]	<210>	22
[0260]	<211>	9
[0261]	<212>	PRT
[0262]	<213>	人工序列
[0263]	<220>	
[0264]	<223>	人工序列的描述:合成肽
[0265]	<400>	22
[0266]	Phe Gln Gly Thr His Glu Pro Tyr Thr	
[0267]	1	5
[0268]	<210>	23
[0269]	<211>	447
[0270]	<212>	PRT
[0271]	<213>	人工序列
[0272]	<220>	
[0273]	<223>	人工序列的描述:合成多肽
[0274]	<400>	23
[0275]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala	
[0276]	1	5 10 15
[0277]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[0278]	20	25 30
[0279]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile	
[0280]	35	40 45
[0281]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe	
[0282]	50	55 60
[0283]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr	
[0284]	65	70 75 80
[0285]	Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys	
[0286]	85	90 95
[0287]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser	
[0288]	100	105 110
[0289]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu	
[0290]	115	120 125
[0291]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys	
[0292]	130	135 140
[0293]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser	

[0294]	145	150	155	160
[0295]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
[0296]		165	170	175
[0297]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
[0298]		180	185	190
[0299]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
[0300]		195	200	205
[0301]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
[0302]	210	215	220	
[0303]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
[0304]	225	230	235	240
[0305]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
[0306]		245	250	255
[0307]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
[0308]		260	265	270
[0309]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
[0310]		275	280	285
[0311]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
[0312]	290	295	300	
[0313]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
[0314]	305	310	315	320
[0315]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
[0316]		325	330	335
[0317]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
[0318]		340	345	350
[0319]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
[0320]		355	360	365
[0321]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
[0322]	370	375	380	
[0323]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
[0324]	385	390	395	400
[0325]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
[0326]		405	410	415
[0327]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
[0328]		420	425	430
[0329]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
[0330]		435	440	445
[0331]	<210> 24			
[0332]	<211> 219			
[0333]	<212> PRT			
[0334]	<213> 人工序列			
[0335]	<220>			

[0336]	<223> 人工序列的描述:合成多肽															
[0337]	<400> 24															
[0338]	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Gly
[0339]	1				5					10					15	
[0340]	Asp	Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser
[0341]				20					25					30		
[0342]	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
[0343]			35					40					45			
[0344]	Pro	Lys	Pro	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
[0345]		50					55					60				
[0346]	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
[0347]	65					70					75				80	
[0348]	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	Phe	Gln	Gly
[0349]				85					90						95	
[0350]	Thr	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Arg	Leu	Glu	Ile	Lys
[0351]			100						105					110		
[0352]	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu
[0353]			115					120					125			
[0354]	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe
[0355]		130					135				140					
[0356]	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
[0357]	145					150					155				160	
[0358]	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser
[0359]				165					170					175		
[0360]	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu
[0361]			180						185					190		
[0362]	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser
[0363]			195					200					205			
[0364]	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys					
[0365]		210					215									
[0366]	<210> 25															
[0367]	<211> 447															
[0368]	<212> PRT															
[0369]	<213> 人工序列															
[0370]	<220>															
[0371]	<223> 人工序列的描述:合成多肽															
[0372]	<400> 25															
[0373]	Gln	Ile	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
[0374]	1				5					10					15	
[0375]	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
[0376]				20					25					30		
[0377]	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile

[0378]	35	40	45
[0379]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[0380]	50	55	60
[0381]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[0382]	65	70	75
[0383]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[0384]	85	90	95
[0385]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[0386]	100	105	110
[0387]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
[0388]	115	120	125
[0389]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
[0390]	130	135	140
[0391]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
[0392]	145	150	155
[0393]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[0394]	165	170	175
[0395]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
[0396]	180	185	190
[0397]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
[0398]	195	200	205
[0399]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
[0400]	210	215	220
[0401]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
[0402]	225	230	235
[0403]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[0404]	245	250	255
[0405]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
[0406]	260	265	270
[0407]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[0408]	275	280	285
[0409]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[0410]	290	295	300
[0411]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[0412]	305	310	315
[0413]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
[0414]	325	330	335
[0415]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[0416]	340	345	350
[0417]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[0418]	355	360	365
[0419]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		

[0420]	370	375	380
[0421]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[0422]	385	390	395 400
[0423]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
[0424]	405	410	415
[0425]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
[0426]	420	425	430
[0427]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[0428]	435	440	445
[0429]	<210> 26		
[0430]	<211> 447		
[0431]	<212> PRT		
[0432]	<213> 人工序列		
[0433]	<220>		
[0434]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[0435]	<400> 26		
[0436]	Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[0437]	1 5 10 15		
[0438]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
[0439]	20 25 30		
[0440]	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[0441]	35 40 45		
[0442]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[0443]	50 55 60		
[0444]	Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[0445]	65 70 75 80		
[0446]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[0447]	85 90 95		
[0448]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[0449]	100 105 110		
[0450]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
[0451]	115 120 125		
[0452]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
[0453]	130 135 140		
[0454]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
[0455]	145 150 155 160		
[0456]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[0457]	165 170 175		
[0458]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
[0459]	180 185 190		
[0460]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
[0461]	195 200 205		

[0462]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
[0463]	210	215	220
[0464]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
[0465]	225	230	235 240
[0466]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[0467]	245	250	255
[0468]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
[0469]	260	265	270
[0470]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[0471]	275	280	285
[0472]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[0473]	290	295	300
[0474]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[0475]	305	310	315 320
[0476]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
[0477]	325	330	335
[0478]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[0479]	340	345	350
[0480]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[0481]	355	360	365
[0482]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
[0483]	370	375	380
[0484]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[0485]	385	390	395 400
[0486]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
[0487]	405	410	415
[0488]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
[0489]	420	425	430
[0490]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[0491]	435	440	445
[0492]	<210> 27		
[0493]	<211> 219		
[0494]	<212> PRT		
[0495]	<213> 人工序列		
[0496]	<220>		
[0497]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[0498]	<400> 27		
[0499]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
[0500]	1	5	10 15
[0501]	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser		
[0502]	20	25	30
[0503]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		

[0504]	35	40	45
[0505]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[0506]	50	55	60
[0507]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[0508]	65	70	75
[0509]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly		
[0510]	85	90	95
[0511]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys		
[0512]	100	105	110
[0513]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
[0514]	115	120	125
[0515]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
[0516]	130	135	140
[0517]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
[0518]	145	150	155
[0519]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
[0520]	165	170	175
[0521]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
[0522]	180	185	190
[0523]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
[0524]	195	200	205
[0525]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[0526]	210	215	
[0527]	<210> 28		
[0528]	<211> 219		
[0529]	<212> PRT		
[0530]	<213> 人工序列		
[0531]	<220>		
[0532]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[0533]	<400> 28		
[0534]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
[0535]	1	5	10
[0536]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser		
[0537]	20	25	30
[0538]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
[0539]	35	40	45
[0540]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[0541]	50	55	60
[0542]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[0543]	65	70	75
[0544]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly		
[0545]	85	90	95

[0546]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[0547]	100 105 110
[0548]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
[0549]	115 120 125
[0550]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
[0551]	130 135 140
[0552]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
[0553]	145 150 155 160
[0554]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
[0555]	165 170 175
[0556]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[0557]	180 185 190
[0558]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[0559]	195 200 205
[0560]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0561]	210 215
[0562]	<210> 29
[0563]	<211> 447
[0564]	<212> PRT
[0565]	<213> 人工序列
[0566]	<220>
[0567]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[0568]	<400> 29
[0569]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[0570]	1 5 10 15
[0571]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
[0572]	20 25 30
[0573]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0574]	35 40 45
[0575]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[0576]	50 55 60
[0577]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[0578]	65 70 75 80
[0579]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[0580]	85 90 95
[0581]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[0582]	100 105 110
[0583]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[0584]	115 120 125
[0585]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[0586]	130 135 140
[0587]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

[0588]	145	150	155	160
[0589]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
[0590]		165	170	175
[0591]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
[0592]		180	185	190
[0593]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
[0594]		195	200	205
[0595]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
[0596]	210	215	220	
[0597]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
[0598]	225	230	235	240
[0599]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
[0600]		245	250	255
[0601]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
[0602]		260	265	270
[0603]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
[0604]		275	280	285
[0605]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
[0606]	290	295	300	
[0607]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
[0608]	305	310	315	320
[0609]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
[0610]		325	330	335
[0611]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
[0612]		340	345	350
[0613]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
[0614]		355	360	365
[0615]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
[0616]	370	375	380	
[0617]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
[0618]	385	390	395	400
[0619]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
[0620]		405	410	415
[0621]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
[0622]		420	425	430
[0623]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
[0624]		435	440	445
[0625]	<210> 30			
[0626]	<211> 117			
[0627]	<212> PRT			
[0628]	<213> 人工序列			
[0629]	<220>			

[0630]	<223> 人工序列的描述:合成多肽															
[0631]	<400> 30															
[0632]	Gln	Ile	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
[0633]	1			5					10						15	
[0634]	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr
[0635]				20					25						30	
[0636]	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
[0637]				35				40						45		
[0638]	Gly	Ser	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Thr	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe
[0639]		50					55					60				
[0640]	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
[0641]	65					70					75					80
[0642]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
[0643]					85					90					95	
[0644]	Ala	Arg	Gly	Gly	Lys	Phe	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
[0645]				100					105					110		
[0646]	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
[0647]				115												
[0648]	<210> 31															
[0649]	<211> 117															
[0650]	<212> PRT															
[0651]	<213> 人工序列															
[0652]	<220>															
[0653]	<223> 人工序列的描述:合成多肽															
[0654]	<400> 31															
[0655]	Gln	Ile	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
[0656]	1			5					10						15	
[0657]	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr
[0658]				20					25						30	
[0659]	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Met	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
[0660]				35				40						45		
[0661]	Gly	Arg	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Thr	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe
[0662]		50					55					60				
[0663]	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
[0664]	65					70					75					80
[0665]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
[0666]					85					90					95	
[0667]	Ala	Arg	Gly	Gly	Lys	Phe	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
[0668]				100					105					110		
[0669]	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
[0670]				115												
[0671]	<210> 32															

[0672]	<211>	117
[0673]	<212>	PRT
[0674]	<213>	人工序列
[0675]	<220>	
[0676]	<223>	人工序列的描述:合成多肽
[0677]	<400>	32
[0678]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala	
[0679]	1 5 10 15	
[0680]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr	
[0681]	20 25 30	
[0682]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
[0683]	35 40 45	
[0684]	Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe	
[0685]	50 55 60	
[0686]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr	
[0687]	65 70 75 80	
[0688]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys	
[0689]	85 90 95	
[0690]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu	
[0691]	100 105 110	
[0692]	Val Thr Val Ser Ser	
[0693]	115	
[0694]	<210>	33
[0695]	<211>	117
[0696]	<212>	PRT
[0697]	<213>	人工序列
[0698]	<220>	
[0699]	<223>	人工序列的描述:合成多肽
[0700]	<400>	33
[0701]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala	
[0702]	1 5 10 15	
[0703]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[0704]	20 25 30	
[0705]	Tyr Ile His Trp Val Met Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
[0706]	35 40 45	
[0707]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe	
[0708]	50 55 60	
[0709]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr	
[0710]	65 70 75 80	
[0711]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys	
[0712]	85 90 95	
[0713]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu	

[0714]	100	105	110
[0715]	Val Thr Val Ser Ser		
[0716]	115		
[0717]	<210> 34		
[0718]	<211> 117		
[0719]	<212> PRT		
[0720]	<213> 人工序列		
[0721]	<220>		
[0722]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[0723]	<400> 34		
[0724]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[0725]	1 5 10 15		
[0726]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr		
[0727]	20 25 30		
[0728]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[0729]	35 40 45		
[0730]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[0731]	50 55 60		
[0732]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[0733]	65 70 75 80		
[0734]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[0735]	85 90 95		
[0736]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[0737]	100 105 110		
[0738]	Val Thr Val Ser Ser		
[0739]	115		
[0740]	<210> 35		
[0741]	<211> 117		
[0742]	<212> PRT		
[0743]	<213> 人工序列		
[0744]	<220>		
[0745]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[0746]	<400> 35		
[0747]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[0748]	1 5 10 15		
[0749]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr		
[0750]	20 25 30		
[0751]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[0752]	35 40 45		
[0753]	Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[0754]	50 55 60		
[0755]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		

[0756]	65	70	75	80
[0757]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
[0758]		85	90	95
[0759]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
[0760]		100	105	110
[0761]	Val Thr Val Ser Ser			
[0762]		115		
[0763]	<210> 36			
[0764]	<211> 117			
[0765]	<212> PRT			
[0766]	<213> 人工序列			
[0767]	<220>			
[0768]	<223> 人工序列的描述:合成多肽			
[0769]	<400> 36			
[0770]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala			
[0771]	1	5	10	15
[0772]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
[0773]		20	25	30
[0774]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			
[0775]		35	40	45
[0776]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe			
[0777]		50	55	60
[0778]	Glu Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala His			
[0779]	65	70	75	80
[0780]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
[0781]		85	90	95
[0782]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
[0783]		100	105	110
[0784]	Val Thr Val Ser Ser			
[0785]		115		
[0786]	<210> 37			
[0787]	<211> 113			
[0788]	<212> PRT			
[0789]	<213> 人工序列			
[0790]	<220>			
[0791]	<223> 人工序列的描述:合成多肽			
[0792]	<400> 37			
[0793]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly			
[0794]	1	5	10	15
[0795]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser			
[0796]		20	25	30
[0797]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			

[0798]	35	40	45
[0799]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[0800]	50	55	60
[0801]	Cys Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[0802]	65	70	75
[0803]	Ser Arg Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly		
[0804]	85	90	95
[0805]	Thr His Val Pro Tyr Ile Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys		
[0806]	100	105	110
[0807]	Arg		
[0808]	<210> 38		
[0809]	<211> 117		
[0810]	<212> PRT		
[0811]	<213> 人工序列		
[0812]	<220>		
[0813]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[0814]	<400> 38		
[0815]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[0816]	1	5	10
[0817]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
[0818]	20	25	30
[0819]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[0820]	35	40	45
[0821]	Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[0822]	50	55	60
[0823]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[0824]	65	70	75
[0825]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[0826]	85	90	95
[0827]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[0828]	100	105	110
[0829]	Val Thr Val Ser Ser		
[0830]	115		
[0831]	<210> 39		
[0832]	<211> 113		
[0833]	<212> PRT		
[0834]	<213> 人工序列		
[0835]	<220>		
[0836]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[0837]	<400> 39		
[0838]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
[0839]	1	5	10

[0840]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[0841]	20 25 30
[0842]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[0843]	35 40 45
[0844]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Cys Val Pro
[0845]	50 55 60
[0846]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[0847]	65 70 75 80
[0848]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
[0849]	85 90 95
[0850]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[0851]	100 105 110
[0852]	Arg
[0853]	<210> 40
[0854]	<211> 117
[0855]	<212> PRT
[0856]	<213> 人工序列
[0857]	<220>
[0858]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[0859]	<400> 40
[0860]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[0861]	1 5 10 15
[0862]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[0863]	20 25 30
[0864]	Tyr Ile His Cys Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0865]	35 40 45
[0866]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[0867]	50 55 60
[0868]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[0869]	65 70 75 80
[0870]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[0871]	85 90 95
[0872]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[0873]	100 105 110
[0874]	Val Thr Val Ser Ser
[0875]	115
[0876]	<210> 41
[0877]	<211> 113
[0878]	<212> PRT
[0879]	<213> 人工序列
[0880]	<220>
[0881]	<223> 人工序列的描述:合成多肽

[0882]	<400> 41
[0883]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
[0884]	1 5 10 15
[0885]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[0886]	20 25 30
[0887]	Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[0888]	35 40 45
[0889]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Cys Val Pro
[0890]	50 55 60
[0891]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[0892]	65 70 75 80
[0893]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
[0894]	85 90 95
[0895]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[0896]	100 105 110
[0897]	Arg
[0898]	<210> 42
[0899]	<211> 117
[0900]	<212> PRT
[0901]	<213> 人工序列
[0902]	<220>
[0903]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[0904]	<400> 42
[0905]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[0906]	1 5 10 15
[0907]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Ala Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[0908]	20 25 30
[0909]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0910]	35 40 45
[0911]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[0912]	50 55 60
[0913]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[0914]	65 70 75 80
[0915]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[0916]	85 90 95
[0917]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[0918]	100 105 110
[0919]	Val Thr Val Ser Ser
[0920]	115
[0921]	<210> 43
[0922]	<211> 113
[0923]	<212> PRT

[0924] <213> 人工序列
 [0925] <220>
 [0926] <223> 人工序列的描述:合成多肽
 [0927] <400> 43
 [0928] Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 [0929] 1 5 10 15
 [0930] Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 [0931] 20 25 30
 [0932] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 [0933] 35 40 45
 [0934] Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 [0935] 50 55 60
 [0936] Cys Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 [0937] 65 70 75 80
 [0938] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
 [0939] 85 90 95
 [0940] Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 [0941] 100 105 110
 [0942] Arg
 [0943] <210> 44
 [0944] <211> 113
 [0945] <212> PRT
 [0946] <213> 人工序列
 [0947] <220>
 [0948] <223> 人工序列的描述:合成多肽
 [0949] <400> 44
 [0950] Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 [0951] 1 5 10 15
 [0952] Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 [0953] 20 25 30
 [0954] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Lys Ser
 [0955] 35 40 45
 [0956] Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 [0957] 50 55 60
 [0958] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 [0959] 65 70 75 80
 [0960] Ser Arg Val Glu Ala Lys Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
 [0961] 85 90 95
 [0962] Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 [0963] 100 105 110
 [0964] Arg
 [0965] <210> 45

[0966]	<211> 113
[0967]	<212> PRT
[0968]	<213> 人工序列
[0969]	<220>
[0970]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[0971]	<400> 45
[0972]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
[0973]	1 5 10 15
[0974]	Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[0975]	20 25 30
[0976]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[0977]	35 40 45
[0978]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[0979]	50 55 60
[0980]	Cys Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[0981]	65 70 75 80
[0982]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
[0983]	85 90 95
[0984]	Thr His Glu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[0985]	100 105 110
[0986]	Arg
[0987]	<210> 46
[0988]	<211> 117
[0989]	<212> PRT
[0990]	<213> 人工序列
[0991]	<220>
[0992]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[0993]	<400> 46
[0994]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[0995]	1 5 10 15
[0996]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[0997]	20 25 30
[0998]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0999]	35 40 45
[1000]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[1001]	50 55 60
[1002]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
[1003]	65 70 75 80
[1004]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Asn Ala Val Tyr Phe Cys
[1005]	85 90 95
[1006]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[1007]	100 105 110

[1008]	Val Thr Val Ser Ser
[1009]	115
[1010]	<210> 47
[1011]	<211> 113
[1012]	<212> PRT
[1013]	<213> 人工序列
[1014]	<220>
[1015]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[1016]	<400> 47
[1017]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
[1018]	1 5 10 15
[1019]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[1020]	20 25 30
[1021]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1022]	35 40 45
[1023]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[1024]	50 55 60
[1025]	Cys Arg Tyr Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1026]	65 70 75 80
[1027]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
[1028]	85 90 95
[1029]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[1030]	100 105 110
[1031]	Arg
[1032]	<210> 48
[1033]	<211> 447
[1034]	<212> PRT
[1035]	<213> 人工序列
[1036]	<220>
[1037]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[1038]	<400> 48
[1039]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[1040]	1 5 10 15
[1041]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[1042]	20 25 30
[1043]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[1044]	35 40 45
[1045]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[1046]	50 55 60
[1047]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[1048]	65 70 75 80
[1049]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

[1050]	85								90				95			
[1051]	Ala	Arg	Gly	Gly	Lys	Phe	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
[1052]	100								105				110			
[1053]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
[1054]	115				120				125							
[1055]	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
[1056]	130				135				140							
[1057]	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
[1058]	145		150				155				160					
[1059]	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
[1060]	165				170				175							
[1061]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
[1062]	180				185				190							
[1063]	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
[1064]	195				200				205							
[1065]	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
[1066]	210				215				220							
[1067]	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
[1068]	225		230				235				240					
[1069]	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
[1070]	245				250				255							
[1071]	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
[1072]	260				265				270							
[1073]	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
[1074]	275				280				285							
[1075]	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
[1076]	290				295				300							
[1077]	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
[1078]	305		310				315				320					
[1079]	Cys	Ala	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
[1080]	325				330				335							
[1081]	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
[1082]	340				345				350							
[1083]	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
[1084]	355				360				365							
[1085]	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
[1086]	370				375				380							
[1087]	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
[1088]	385		390				395				400					
[1089]	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
[1090]	405				410				415							
[1091]	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu

[1092]	420	425	430
[1093]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[1094]	435	440	445
[1095]	<210> 49		
[1096]	<211> 492		
[1097]	<212> PRT		
[1098]	<213> 人工序列		
[1099]	<220>		
[1100]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[1101]	<400> 49		
[1102]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
[1103]	1 5 10 15		
[1104]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser		
[1105]	20 25 30		
[1106]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
[1107]	35 40 45		
[1108]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[1109]	50 55 60		
[1110]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[1111]	65 70 75 80		
[1112]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly		
[1113]	85 90 95		
[1114]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys		
[1115]	100 105 110		
[1116]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
[1117]	115 120 125		
[1118]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
[1119]	130 135 140		
[1120]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
[1121]	145 150 155 160		
[1122]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
[1123]	165 170 175		
[1124]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
[1125]	180 185 190		
[1126]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
[1127]	195 200 205		
[1128]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Thr Ser Gly Gly Gly		
[1129]	210 215 220		
[1130]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu		
[1131]	225 230 235 240		
[1132]	Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu		
[1133]	245 250 255		

[1134]	Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp		
[1135]	260	265	270
[1136]	Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn		
[1137]	275	280	285
[1138]	Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe		
[1139]	290	295	300
[1140]	Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp		
[1141]	305	310	315
[1142]	Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr		
[1143]	325	330	335
[1144]	Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr		
[1145]	340	345	350
[1146]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[1147]	355	360	365
[1148]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
[1149]	370	375	380
[1150]	Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val		
[1151]	385	390	395
[1152]	Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr		
[1153]	405	410	415
[1154]	Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile		
[1155]	420	425	430
[1156]	Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[1157]	435	440	445
[1158]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[1159]	450	455	460
[1160]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe		
[1161]	465	470	475
[1162]	Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Arg		
[1163]	485	490	
[1164]	<210> 50		
[1165]	<211> 492		
[1166]	<212> PRT		
[1167]	<213> 人工序列		
[1168]	<220>		
[1169]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[1170]	<400> 50		
[1171]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
[1172]	1	5	10
[1173]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser		
[1174]	20	25	30
[1175]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		

[1176]	35	40	45
[1177]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[1178]	50	55	60
[1179]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[1180]	65	70	75
[1181]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly		
[1182]	85	90	95
[1183]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys		
[1184]	100	105	110
[1185]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
[1186]	115	120	125
[1187]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
[1188]	130	135	140
[1189]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
[1190]	145	150	155
[1191]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
[1192]	165	170	175
[1193]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
[1194]	180	185	190
[1195]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
[1196]	195	200	205
[1197]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Thr Ser Gly Gly Gly		
[1198]	210	215	220
[1199]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu		
[1200]	225	230	235
[1201]	Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu		
[1202]	245	250	255
[1203]	Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp		
[1204]	260	265	270
[1205]	Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn		
[1206]	275	280	285
[1207]	Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe		
[1208]	290	295	300
[1209]	Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp		
[1210]	305	310	315
[1211]	Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr		
[1212]	325	330	335
[1213]	Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr		
[1214]	340	345	350
[1215]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[1216]	355	360	365
[1217]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		

[1218]	370	375	380
[1219]	Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val		
[1220]	385	390	395 400
[1221]	Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr		
[1222]		405	410 415
[1223]	Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile		
[1224]		420	425 430
[1225]	Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[1226]		435	440 445
[1227]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[1228]		450	455 460
[1229]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe		
[1230]		465	470 475 480
[1231]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Arg		
[1232]		485	490
[1233]	<210> 51		
[1234]	<211> 447		
[1235]	<212> PRT		
[1236]	<213> 人工序列		
[1237]	<220>		
[1238]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[1239]	<400> 51		
[1240]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[1241]	1	5	10 15
[1242]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
[1243]		20	25 30
[1244]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[1245]		35	40 45
[1246]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[1247]		50	55 60
[1248]	Glu Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala His		
[1249]		65	70 75 80
[1250]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[1251]		85	90 95
[1252]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[1253]		100	105 110
[1254]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
[1255]		115	120 125
[1256]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
[1257]		130	135 140
[1258]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
[1259]		145	150 155 160

[1260]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[1261]		165	170
[1262]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		175
[1263]		180	185
[1264]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		190
[1265]		195	200
[1266]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		205
[1267]		210	215
[1268]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		220
[1269]		225	230
[1270]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		235
[1271]		245	250
[1272]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		255
[1273]		260	265
[1274]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		270
[1275]		275	280
[1276]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		285
[1277]		290	295
[1278]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		300
[1279]		305	310
[1280]	Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		315
[1281]		325	330
[1282]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		335
[1283]		340	345
[1284]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		350
[1285]		355	360
[1286]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		365
[1287]		370	375
[1288]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		380
[1289]		385	390
[1290]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		395
[1291]		405	410
[1292]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		415
[1293]		420	425
[1294]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		430
[1295]		435	440
[1296]	<210> 52		445
[1297]	<211> 492		
[1298]	<212> PRT		
[1299]	<213> 人工序列		
[1300]	<220>		
[1301]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		

[1302]	<400> 52
[1303]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
[1304]	1 5 10 15
[1305]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[1306]	20 25 30
[1307]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1308]	35 40 45
[1309]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[1310]	50 55 60
[1311]	Cys Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1312]	65 70 75 80
[1313]	Ser Arg Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
[1314]	85 90 95
[1315]	Thr His Val Pro Tyr Ile Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[1316]	100 105 110
[1317]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
[1318]	115 120 125
[1319]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
[1320]	130 135 140
[1321]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
[1322]	145 150 155 160
[1323]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
[1324]	165 170 175
[1325]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[1326]	180 185 190
[1327]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[1328]	195 200 205
[1329]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Thr Ser Gly Gly Gly
[1330]	210 215 220
[1331]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
[1332]	225 230 235 240
[1333]	Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu
[1334]	245 250 255
[1335]	Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp
[1336]	260 265 270
[1337]	Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn
[1338]	275 280 285
[1339]	Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe
[1340]	290 295 300
[1341]	Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp
[1342]	305 310 315 320
[1343]	Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr

[1344]		325		330		335
[1345]	Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr					
[1346]		340		345		350
[1347]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly					
[1348]		355		360		365
[1349]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly					
[1350]		370		375		380
[1351]	Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val					
[1352]	385		390		395	400
[1353]	Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr					
[1354]		405		410		415
[1355]	Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile					
[1356]		420		425		430
[1357]	Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
[1358]		435		440		445
[1359]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro					
[1360]		450		455		460
[1361]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe					
[1362]	465		470		475	480
[1363]	Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Arg					
[1364]		485		490		
[1365]	<210> 53					
[1366]	<211> 447					
[1367]	<212> PRT					
[1368]	<213> 人工序列					
[1369]	<220>					
[1370]	<223> 人工序列的描述:合成多肽					
[1371]	<400> 53					
[1372]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala					
[1373]	1	5		10		15
[1374]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr					
[1375]		20		25		30
[1376]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile					
[1377]		35		40		45
[1378]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe					
[1379]		50		55		60
[1380]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr					
[1381]	65		70		75	80
[1382]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Asn Ala Val Tyr Phe Cys					
[1383]		85		90		95
[1384]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu					
[1385]		100		105		110

[1386]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[1387]	115 120 125
[1388]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[1389]	130 135 140
[1390]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[1391]	145 150 155 160
[1392]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[1393]	165 170 175
[1394]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[1395]	180 185 190
[1396]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[1397]	195 200 205
[1398]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
[1399]	210 215 220
[1400]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
[1401]	225 230 235 240
[1402]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
[1403]	245 250 255
[1404]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
[1405]	260 265 270
[1406]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
[1407]	275 280 285
[1408]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
[1409]	290 295 300
[1410]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
[1411]	305 310 315 320
[1412]	Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
[1413]	325 330 335
[1414]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
[1415]	340 345 350
[1416]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
[1417]	355 360 365
[1418]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
[1419]	370 375 380
[1420]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
[1421]	385 390 395 400
[1422]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
[1423]	405 410 415
[1424]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
[1425]	420 425 430
[1426]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1427]	435 440 445

[1470]	275	280	285
[1471]	Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe		
[1472]	290	295	300
[1473]	Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp		
[1474]	305	310	315
[1475]	Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr		
[1476]	325	330	335
[1477]	Asp Asp His Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr		
[1478]	340	345	350
[1479]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[1480]	355	360	365
[1481]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
[1482]	370	375	380
[1483]	Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val		
[1484]	385	390	395
[1485]	Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr		
[1486]	405	410	415
[1487]	Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile		
[1488]	420	425	430
[1489]	Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[1490]	435	440	445
[1491]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[1492]	450	455	460
[1493]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe		
[1494]	465	470	475
[1495]	Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Arg		
[1496]	485	490	
[1497]	<210> 55		
[1498]	<211> 447		
[1499]	<212> PRT		
[1500]	<213> 人工序列		
[1501]	<220>		
[1502]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[1503]	<400> 55		
[1504]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[1505]	1	5	10
[1506]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr		
[1507]	20	25	30
[1508]	Tyr Ile His Trp Val Met Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[1509]	35	40	45
[1510]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[1511]	50	55	60

[1512]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[1513]	65	70	75 80
[1514]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[1515]		85	90 95
[1516]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[1517]		100	105 110
[1518]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
[1519]		115	120 125
[1520]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
[1521]		130	135 140
[1522]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
[1523]	145	150	155 160
[1524]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[1525]		165	170 175
[1526]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
[1527]		180	185 190
[1528]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
[1529]		195	200 205
[1530]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
[1531]		210	215 220
[1532]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
[1533]	225	230	235 240
[1534]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[1535]		245	250 255
[1536]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
[1537]		260	265 270
[1538]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[1539]		275	280 285
[1540]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[1541]		290	295 300
[1542]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[1543]	305	310	315 320
[1544]	Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
[1545]		325	330 335
[1546]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[1547]		340	345 350
[1548]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[1549]		355	360 365
[1550]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
[1551]		370	375 380
[1552]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[1553]	385	390	395 400

[1554]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
[1555]	405 410 415
[1556]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
[1557]	420 425 430
[1558]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1559]	435 440 445
[1560]	<210> 56
[1561]	<211> 447
[1562]	<212> PRT
[1563]	<213> 人工序列
[1564]	<220>
[1565]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[1566]	<400> 56
[1567]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[1568]	1 5 10 15
[1569]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
[1570]	20 25 30
[1571]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[1572]	35 40 45
[1573]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[1574]	50 55 60
[1575]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[1576]	65 70 75 80
[1577]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[1578]	85 90 95
[1579]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[1580]	100 105 110
[1581]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[1582]	115 120 125
[1583]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[1584]	130 135 140
[1585]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[1586]	145 150 155 160
[1587]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[1588]	165 170 175
[1589]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[1590]	180 185 190
[1591]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[1592]	195 200 205
[1593]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
[1594]	210 215 220
[1595]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

[1596]	225	230	235	240
[1597]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
[1598]		245	250	255
[1599]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
[1600]		260	265	270
[1601]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
[1602]		275	280	285
[1603]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
[1604]		290	295	300
[1605]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
[1606]	305	310	315	320
[1607]	Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
[1608]		325	330	335
[1609]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
[1610]		340	345	350
[1611]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
[1612]		355	360	365
[1613]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
[1614]		370	375	380
[1615]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
[1616]	385	390	395	400
[1617]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
[1618]		405	410	415
[1619]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
[1620]		420	425	430
[1621]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
[1622]		435	440	445
[1623]	<210> 57			
[1624]	<211> 447			
[1625]	<212> PRT			
[1626]	<213> 人工序列			
[1627]	<220>			
[1628]	<223> 人工序列的描述:合成多肽			
[1629]	<400> 57			
[1630]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala			
[1631]	1	5	10	15
[1632]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr			
[1633]		20	25	30
[1634]	Tyr Ile His Trp Val Met Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			
[1635]		35	40	45
[1636]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe			
[1637]		50	55	60

[1638]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[1639]	65	70	75 80
[1640]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[1641]		85	90 95
[1642]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[1643]		100	105 110
[1644]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
[1645]		115	120 125
[1646]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
[1647]		130	135 140
[1648]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
[1649]	145	150	155 160
[1650]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[1651]		165	170 175
[1652]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
[1653]		180	185 190
[1654]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
[1655]		195	200 205
[1656]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
[1657]		210	215 220
[1658]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
[1659]	225	230	235 240
[1660]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[1661]		245	250 255
[1662]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
[1663]		260	265 270
[1664]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[1665]		275	280 285
[1666]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[1667]		290	295 300
[1668]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[1669]	305	310	315 320
[1670]	Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
[1671]		325	330 335
[1672]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[1673]		340	345 350
[1674]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[1675]		355	360 365
[1676]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
[1677]		370	375 380
[1678]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[1679]	385	390	395 400

[1680]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
[1681]	405 410 415
[1682]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
[1683]	420 425 430
[1684]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1685]	435 440 445
[1686]	<210> 58
[1687]	<211> 447
[1688]	<212> PRT
[1689]	<213> 人工序列
[1690]	<220>
[1691]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[1692]	<400> 58
[1693]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[1694]	1 5 10 15
[1695]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
[1696]	20 25 30
[1697]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[1698]	35 40 45
[1699]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[1700]	50 55 60
[1701]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[1702]	65 70 75 80
[1703]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[1704]	85 90 95
[1705]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[1706]	100 105 110
[1707]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[1708]	115 120 125
[1709]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[1710]	130 135 140
[1711]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[1712]	145 150 155 160
[1713]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[1714]	165 170 175
[1715]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[1716]	180 185 190
[1717]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[1718]	195 200 205
[1719]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
[1720]	210 215 220
[1721]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

[1722]	225	230	235	240
[1723]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
[1724]		245	250	255
[1725]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
[1726]		260	265	270
[1727]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
[1728]		275	280	285
[1729]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
[1730]		290	295	300
[1731]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
[1732]	305	310	315	320
[1733]	Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
[1734]		325	330	335
[1735]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
[1736]		340	345	350
[1737]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
[1738]		355	360	365
[1739]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
[1740]		370	375	380
[1741]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
[1742]	385	390	395	400
[1743]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
[1744]		405	410	415
[1745]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
[1746]		420	425	430
[1747]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
[1748]		435	440	445
[1749]	<210> 59			
[1750]	<211> 447			
[1751]	<212> PRT			
[1752]	<213> 人工序列			
[1753]	<220>			
[1754]	<223> 人工序列的描述:合成多肽			
[1755]	<400> 59			
[1756]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala			
[1757]	1	5	10	15
[1758]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
[1759]		20	25	30
[1760]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			
[1761]		35	40	45
[1762]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe			
[1763]		50	55	60

[1764]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[1765]	65	70	75 80
[1766]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[1767]		85	90 95
[1768]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[1769]		100	105 110
[1770]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
[1771]		115	120 125
[1772]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
[1773]		130	135 140
[1774]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
[1775]	145	150	155 160
[1776]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[1777]		165	170 175
[1778]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
[1779]		180	185 190
[1780]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
[1781]		195	200 205
[1782]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
[1783]		210	215 220
[1784]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
[1785]	225	230	235 240
[1786]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[1787]		245	250 255
[1788]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
[1789]		260	265 270
[1790]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[1791]		275	280 285
[1792]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[1793]		290	295 300
[1794]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[1795]	305	310	315 320
[1796]	Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
[1797]		325	330 335
[1798]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[1799]		340	345 350
[1800]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[1801]		355	360 365
[1802]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
[1803]		370	375 380
[1804]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[1805]	385	390	395 400

[1806]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
[1807]	405 410 415
[1808]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
[1809]	420 425 430
[1810]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1811]	435 440 445
[1812]	<210> 60
[1813]	<211> 495
[1814]	<212> PRT
[1815]	<213> 人工序列
[1816]	<220>
[1817]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[1818]	<400> 60
[1819]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
[1820]	1 5 10 15
[1821]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[1822]	20 25 30
[1823]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1824]	35 40 45
[1825]	Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[1826]	50 55 60
[1827]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1828]	65 70 75 80
[1829]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
[1830]	85 90 95
[1831]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[1832]	100 105 110
[1833]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
[1834]	115 120 125
[1835]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
[1836]	130 135 140
[1837]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
[1838]	145 150 155 160
[1839]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
[1840]	165 170 175
[1841]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[1842]	180 185 190
[1843]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[1844]	195 200 205
[1845]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Thr Ser Gly Gly Gly
[1846]	210 215 220
[1847]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Val Gln Leu

[1848]	225	230	235	240
[1849]	Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu			
[1850]		245	250	255
[1851]	Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Gly Val His Trp			
[1852]		260	265	270
[1853]	Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp			
[1854]		275	280	285
[1855]	Ser Gly Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Thr Ala Leu Ile Ser Arg Phe Thr			
[1856]		290	295	300
[1857]	Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser			
[1858]	305	310	315	320
[1859]	Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Ser			
[1860]		325	330	335
[1861]	Tyr Pro Tyr Asn Tyr Phe Asp Ala Trp Gly Cys Gly Thr Leu Val Thr			
[1862]		340	345	350
[1863]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly			
[1864]		355	360	365
[1865]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly			
[1866]		370	375	380
[1867]	Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly			
[1868]	385	390	395	400
[1869]	Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ala			
[1870]		405	410	415
[1871]	Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Cys Pro Arg			
[1872]		420	425	430
[1873]	Gly Leu Ile Gly Gly His Asn Asn Arg Pro Pro Gly Val Pro Ala Arg			
[1874]		435	440	445
[1875]	Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Leu Gly			
[1876]		450	455	460
[1877]	Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser			
[1878]	465	470	475	480
[1879]	Asp His Trp Val Ile Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly			
[1880]		485	490	495
[1881]	<210> 61			
[1882]	<211> 245			
[1883]	<212> PRT			
[1884]	<213> 人工序列			
[1885]	<220>			
[1886]	<223> 人工序列的描述:合成多肽			
[1887]	<400> 61			
[1888]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala			
[1889]	1	5	10	15

[1890]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
[1891]	20 25 30
[1892]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[1893]	35 40 45
[1894]	Gly Ser Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[1895]	50 55 60
[1896]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[1897]	65 70 75 80
[1898]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[1899]	85 90 95
[1900]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[1901]	100 105 110
[1902]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[1903]	115 120 125
[1904]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
[1905]	130 135 140
[1906]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
[1907]	145 150 155 160
[1908]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
[1909]	165 170 175
[1910]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe
[1911]	180 185 190
[1912]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
[1913]	195 200 205
[1914]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe
[1915]	210 215 220
[1916]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg
[1917]	225 230 235 240
[1918]	Leu Glu Ile Lys Arg
[1919]	245
[1920]	<210> 62
[1921]	<211> 245
[1922]	<212> PRT
[1923]	<213> 人工序列
[1924]	<220>
[1925]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[1926]	<400> 62
[1927]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[1928]	1 5 10 15
[1929]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
[1930]	20 25 30
[1931]	Tyr Ile His Trp Val Met Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[1932]	35	40	45
[1933]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[1934]	50	55	60
[1935]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[1936]	65	70	75
[1937]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[1938]	85	90	95
[1939]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[1940]	100	105	110
[1941]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[1942]	115	120	125
[1943]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro		
[1944]	130	135	140
[1945]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser		
[1946]	145	150	155
[1947]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys		
[1948]	165	170	175
[1949]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe		
[1950]	180	185	190
[1951]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
[1952]	195	200	205
[1953]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe		
[1954]	210	215	220
[1955]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg		
[1956]	225	230	235
[1957]	Leu Glu Ile Lys Arg		
[1958]	245		
[1959]	<210> 63		
[1960]	<211> 245		
[1961]	<212> PRT		
[1962]	<213> 人工序列		
[1963]	<220>		
[1964]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[1965]	<400> 63		
[1966]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[1967]	1	5	10
[1968]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr		
[1969]	20	25	30
[1970]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[1971]	35	40	45
[1972]	Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[1973]	50	55	60

[1974]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[1975]	65 70 75 80
[1976]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[1977]	85 90 95
[1978]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[1979]	100 105 110
[1980]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[1981]	115 120 125
[1982]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
[1983]	130 135 140
[1984]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
[1985]	145 150 155 160
[1986]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
[1987]	165 170 175
[1988]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe
[1989]	180 185 190
[1990]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
[1991]	195 200 205
[1992]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe
[1993]	210 215 220
[1994]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg
[1995]	225 230 235 240
[1996]	Leu Glu Ile Lys Arg
[1997]	245
[1998]	<210> 64
[1999]	<211> 245
[2000]	<212> PRT
[2001]	<213> 人工序列
[2002]	<220>
[2003]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[2004]	<400> 64
[2005]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[2006]	1 5 10 15
[2007]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[2008]	20 25 30
[2009]	Tyr Ile His Trp Val Met Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[2010]	35 40 45
[2011]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[2012]	50 55 60
[2013]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[2014]	65 70 75 80
[2015]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

[2016]		85		90		95
[2017]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu					
[2018]		100		105		110
[2019]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly					
[2020]		115		120		125
[2021]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro					
[2022]		130		135		140
[2023]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser					
[2024]	145		150		155	160
[2025]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys					
[2026]		165		170		175
[2027]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe					
[2028]		180		185		190
[2029]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe					
[2030]		195		200		205
[2031]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe					
[2032]		210		215		220
[2033]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg					
[2034]	225		230		235	240
[2035]	Leu Glu Ile Lys Arg					
[2036]		245				
[2037]	<210> 65					
[2038]	<211> 245					
[2039]	<212> PRT					
[2040]	<213> 人工序列					
[2041]	<220>					
[2042]	<223> 人工序列的描述:合成多肽					
[2043]	<400> 65					
[2044]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala					
[2045]	1	5		10		15
[2046]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr					
[2047]		20		25		30
[2048]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile					
[2049]		35		40		45
[2050]	Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe					
[2051]		50		55		60
[2052]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr					
[2053]	65		70		75	80
[2054]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys					
[2055]		85		90		95
[2056]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu					
[2057]		100		105		110

[2058]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2059]	115 120 125
[2060]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
[2061]	130 135 140
[2062]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
[2063]	145 150 155 160
[2064]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
[2065]	165 170 175
[2066]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe
[2067]	180 185 190
[2068]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
[2069]	195 200 205
[2070]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe
[2071]	210 215 220
[2072]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg
[2073]	225 230 235 240
[2074]	Leu Glu Ile Lys Arg
[2075]	245
[2076]	<210> 66
[2077]	<211> 245
[2078]	<212> PRT
[2079]	<213> 人工序列
[2080]	<220>
[2081]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[2082]	<400> 66
[2083]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[2084]	1 5 10 15
[2085]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
[2086]	20 25 30
[2087]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[2088]	35 40 45
[2089]	Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[2090]	50 55 60
[2091]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[2092]	65 70 75 80
[2093]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[2094]	85 90 95
[2095]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[2096]	100 105 110
[2097]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2098]	115 120 125
[2099]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro

[2100]	130	135	140
[2101]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser		
[2102]	145	150	155
[2103]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys		
[2104]	165	170	175
[2105]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe		
[2106]	180	185	190
[2107]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
[2108]	195	200	205
[2109]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe		
[2110]	210	215	220
[2111]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg		
[2112]	225	230	235
[2113]	Leu Glu Ile Lys Arg		
[2114]	245		
[2115]	<210> 67		
[2116]	<211> 245		
[2117]	<212> PRT		
[2118]	<213> 人工序列		
[2119]	<220>		
[2120]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[2121]	<400> 67		
[2122]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[2123]	1	5	10
[2124]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
[2125]	20	25	30
[2126]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[2127]	35	40	45
[2128]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[2129]	50	55	60
[2130]	Glu Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala His		
[2131]	65	70	75
[2132]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[2133]	85	90	95
[2134]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[2135]	100	105	110
[2136]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[2137]	115	120	125
[2138]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro		
[2139]	130	135	140
[2140]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser		
[2141]	145	150	155

[2142]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys		
[2143]		165	170
[2144]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe		175
[2145]		180	185
[2146]	Ser Gly Val Pro Cys Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		190
[2147]		195	200
[2148]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe		205
[2149]		210	215
[2150]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Ile Phe Gly Gln Gly Thr Arg		220
[2151]	225	230	235
[2152]	Leu Glu Ile Lys Arg		240
[2153]		245	
[2154]	<210> 68		
[2155]	<211> 245		
[2156]	<212> PRT		
[2157]	<213> 人工序列		
[2158]	<220>		
[2159]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[2160]	<400> 68		
[2161]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[2162]	1	5	10
[2163]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		15
[2164]		20	25
[2165]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		30
[2166]		35	40
[2167]	Gly Cys Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		45
[2168]		50	55
[2169]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		60
[2170]	65	70	75
[2171]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		80
[2172]		85	90
[2173]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		95
[2174]		100	105
[2175]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		110
[2176]		115	120
[2177]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro		125
[2178]		130	135
[2179]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser		140
[2180]	145	150	155
[2181]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys		160
[2182]		165	170
[2183]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe		175

[2184]	180	185	190
[2185]	Ser Cys Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
[2186]	195	200	205
[2187]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe		
[2188]	210	215	220
[2189]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg		
[2190]	225	230	235
[2191]	Leu Glu Ile Lys Arg		240
[2192]	245		
[2193]	<210> 69		
[2194]	<211> 245		
[2195]	<212> PRT		
[2196]	<213> 人工序列		
[2197]	<220>		
[2198]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[2199]	<400> 69		
[2200]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
[2201]	1	5	10
[2202]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		15
[2203]	20	25	30
[2204]	Tyr Ile His Cys Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[2205]	35	40	45
[2206]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe		
[2207]	50	55	60
[2208]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[2209]	65	70	75
[2210]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		80
[2211]	85	90	95
[2212]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[2213]	100	105	110
[2214]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[2215]	115	120	125
[2216]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro		
[2217]	130	135	140
[2218]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser		
[2219]	145	150	155
[2220]	Leu Val His Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys		160
[2221]	165	170	175
[2222]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe		
[2223]	180	185	190
[2224]	Ser Cys Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
[2225]	195	200	205

[2226]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe
[2227]	210 215 220
[2228]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg
[2229]	225 230 235 240
[2230]	Leu Glu Ile Lys Arg
[2231]	245
[2232]	<210> 70
[2233]	<211> 245
[2234]	<212> PRT
[2235]	<213> 人工序列
[2236]	<220>
[2237]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[2238]	<400> 70
[2239]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[2240]	1 5 10 15
[2241]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Ala Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[2242]	20 25 30
[2243]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[2244]	35 40 45
[2245]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[2246]	50 55 60
[2247]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[2248]	65 70 75 80
[2249]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[2250]	85 90 95
[2251]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[2252]	100 105 110
[2253]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2254]	115 120 125
[2255]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
[2256]	130 135 140
[2257]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
[2258]	145 150 155 160
[2259]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
[2260]	165 170 175
[2261]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe
[2262]	180 185 190
[2263]	Ser Gly Val Pro Cys Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
[2264]	195 200 205
[2265]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe
[2266]	210 215 220
[2267]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg

[2268]	225	230	235	240
[2269]	Leu Glu Ile Lys Arg			
[2270]		245		
[2271]	<210> 71			
[2272]	<211> 245			
[2273]	<212> PRT			
[2274]	<213> 人工序列			
[2275]	<220>			
[2276]	<223> 人工序列的描述:合成多肽			
[2277]	<400> 71			
[2278]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala			
[2279]	1	5	10	15
[2280]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
[2281]		20	25	30
[2282]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			
[2283]		35	40	45
[2284]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe			
[2285]		50	55	60
[2286]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr			
[2287]		65	70	75
[2288]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
[2289]		85	90	95
[2290]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
[2291]		100	105	110
[2292]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly			
[2293]		115	120	125
[2294]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro			
[2295]		130	135	140
[2296]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser			
[2297]		145	150	155
[2298]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys			
[2299]		165	170	175
[2300]	Pro Gly Lys Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe			
[2301]		180	185	190
[2302]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe			
[2303]		195	200	205
[2304]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Lys Asp Val Gly Val Tyr Phe			
[2305]		210	215	220
[2306]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg			
[2307]		225	230	235
[2308]	Leu Glu Ile Lys Arg			
[2309]		245		

[2310]	<210> 72
[2311]	<211> 245
[2312]	<212> PRT
[2313]	<213> 人工序列
[2314]	<220>
[2315]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[2316]	<400> 72
[2317]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
[2318]	1 5 10 15
[2319]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[2320]	20 25 30
[2321]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[2322]	35 40 45
[2323]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[2324]	50 55 60
[2325]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[2326]	65 70 75 80
[2327]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
[2328]	85 90 95
[2329]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[2330]	100 105 110
[2331]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2332]	115 120 125
[2333]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
[2334]	130 135 140
[2335]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
[2336]	145 150 155 160
[2337]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
[2338]	165 170 175
[2339]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe
[2340]	180 185 190
[2341]	Ser Gly Val Pro Cys Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
[2342]	195 200 205
[2343]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe
[2344]	210 215 220
[2345]	Cys Phe Gln Gly Thr His Glu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg
[2346]	225 230 235 240
[2347]	Leu Glu Ile Lys Arg
[2348]	245
[2349]	<210> 73
[2350]	<211> 245
[2351]	<212> PRT

[2352]	<213>	人工序列
[2353]	<220>	
[2354]	<223>	人工序列的描述:合成多肽
[2355]	<400>	73
[2356]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala	
[2357]	1	5 10 15
[2358]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[2359]	20	25 30
[2360]	Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
[2361]	35	40 45
[2362]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe	
[2363]	50	55 60
[2364]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr	
[2365]	65	70 75 80
[2366]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Asn Ala Val Tyr Phe Cys	
[2367]	85	90 95
[2368]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu	
[2369]	100	105 110
[2370]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
[2371]	115	120 125
[2372]	Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro	
[2373]	130	135 140
[2374]	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser	
[2375]	145	150 155 160
[2376]	Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys	
[2377]	165	170 175
[2378]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe	
[2379]	180	185 190
[2380]	Ser Gly Val Pro Cys Arg Tyr Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe	
[2381]	195	200 205
[2382]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe	
[2383]	210	215 220
[2384]	Cys Phe Gln Gly Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg	
[2385]	225	230 235 240
[2386]	Leu Glu Ile Lys Arg	
[2387]	245	
[2388]	<210>	74
[2389]	<211>	447
[2390]	<212>	PRT
[2391]	<213>	人工序列
[2392]	<220>	
[2393]	<223>	人工序列的描述:合成多肽

[2394]	<400> 74															
[2395]	Gln	Ile	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[2396]	1			5					10					15		
[2397]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
[2398]				20					25					30		
[2399]	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Ile
[2400]			35					40					45			
[2401]	Gly	Trp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Thr	Lys	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
[2402]			50				55					60				
[2403]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
[2404]	65					70					75					80
[2405]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[2406]					85					90					95	
[2407]	Ala	Arg	Gly	Gly	Lys	Phe	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser
[2408]				100					105					110		
[2409]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
[2410]			115					120					125			
[2411]	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
[2412]		130				135						140				
[2413]	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
[2414]	145					150					155					160
[2415]	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
[2416]				165						170					175	
[2417]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
[2418]				180					185					190		
[2419]	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
[2420]			195					200					205			
[2421]	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
[2422]		210				215						220				
[2423]	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
[2424]	225					230					235					240
[2425]	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
[2426]				245						250					255	
[2427]	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
[2428]				260					265					270		
[2429]	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
[2430]			275					280					285			
[2431]	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
[2432]		290					295					300				
[2433]	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
[2434]	305					310					315					320
[2435]	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile

[2436]		325		330		335
[2437]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro					
[2438]		340		345		350
[2439]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
[2440]		355		360		365
[2441]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn					
[2442]		370		375		380
[2443]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser					
[2444]	385		390		395	400
[2445]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg					
[2446]		405		410		415
[2447]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu					
[2448]		420		425		430
[2449]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
[2450]		435		440		445
[2451]	<210> 75					
[2452]	<211> 447					
[2453]	<212> PRT					
[2454]	<213> 人工序列					
[2455]	<220>					
[2456]	<223> 人工序列的描述:合成多肽					
[2457]	<400> 75					
[2458]	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala					
[2459]	1	5		10		15
[2460]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr					
[2461]		20		25		30
[2462]	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met					
[2463]		35		40		45
[2464]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe					
[2465]		50		55		60
[2466]	Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr					
[2467]	65		70		75	80
[2468]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys					
[2469]		85		90		95
[2470]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser					
[2471]		100		105		110
[2472]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu					
[2473]		115		120		125
[2474]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys					
[2475]		130		135		140
[2476]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser					
[2477]	145		150		155	160

[2478]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[2479]		165	170
[2480]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		175
[2481]		180	185
[2482]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		190
[2483]		195	200
[2484]	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		205
[2485]		210	215
[2486]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		220
[2487]		225	230
[2488]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		235
[2489]		245	250
[2490]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		255
[2491]		260	265
[2492]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		270
[2493]		275	280
[2494]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		285
[2495]		290	295
[2496]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		300
[2497]		305	310
[2498]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		315
[2499]		325	330
[2500]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		335
[2501]		340	345
[2502]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		350
[2503]		355	360
[2504]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		365
[2505]		370	375
[2506]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		380
[2507]		385	390
[2508]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		395
[2509]		405	410
[2510]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		415
[2511]		420	425
[2512]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		430
[2513]		435	440
[2514]	<210> 76		445
[2515]	<211> 447		
[2516]	<212> PRT		
[2517]	<213> 人工序列		
[2518]	<220>		
[2519]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		

[2520]	<400> 76															
[2521]	Gln	Ile	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
[2522]	1			5						10					15	
[2523]	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
[2524]				20					25					30		
[2525]	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Met
[2526]			35					40					45			
[2527]	Gly	Trp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Thr	Lys	Tyr	Ser	Glu	Lys	Phe
[2528]		50					55					60				
[2529]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
[2530]	65					70					75					80
[2531]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
[2532]				85						90					95	
[2533]	Ala	Arg	Gly	Gly	Lys	Phe	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser
[2534]				100					105					110		
[2535]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
[2536]			115					120					125			
[2537]	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
[2538]		130					135					140				
[2539]	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
[2540]	145					150					155					160
[2541]	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
[2542]				165						170					175	
[2543]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
[2544]			180						185					190		
[2545]	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
[2546]			195					200					205			
[2547]	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
[2548]		210						215				220				
[2549]	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
[2550]	225					230					235					240
[2551]	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
[2552]				245						250					255	
[2553]	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
[2554]			260						265					270		
[2555]	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
[2556]			275					280					285			
[2557]	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
[2558]		290					295					300				
[2559]	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
[2560]	305					310					315					320
[2561]	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile

[2562]	325							330							335						
[2563]	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro					
[2564]	340							345							350						
[2565]	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu					
[2566]	355							360							365						
[2567]	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn					
[2568]	370							375							380						
[2569]	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser					
[2570]	385							390							395					400	
[2571]	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg					
[2572]	405							410							415						
[2573]	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu					
[2574]	420							425							430						
[2575]	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
[2576]	435							440							445						
[2577]	<210> 77																				
[2578]	<211> 447																				
[2579]	<212> PRT																				
[2580]	<213> 人工序列																				
[2581]	<220>																				
[2582]	<223> 人工序列的描述:合成多肽																				
[2583]	<400> 77																				
[2584]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala					
[2585]	1																				

[2604]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[2605]		165	170
[2606]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		175
[2607]		180	185
[2608]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		190
[2609]		195	200
[2610]	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		205
[2611]		210	215
[2612]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		220
[2613]		225	230
[2614]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		235
[2615]		245	250
[2616]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		255
[2617]		260	265
[2618]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		270
[2619]		275	280
[2620]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		285
[2621]		290	295
[2622]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		300
[2623]		305	310
[2624]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		315
[2625]		325	330
[2626]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		335
[2627]		340	345
[2628]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		350
[2629]		355	360
[2630]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		365
[2631]		370	375
[2632]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		380
[2633]		385	390
[2634]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		395
[2635]		405	410
[2636]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		415
[2637]		420	425
[2638]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		430
[2639]		435	440
[2640]	<210> 78		445
[2641]	<211> 447		
[2642]	<212> PRT		
[2643]	<213> 人工序列		
[2644]	<220>		
[2645]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		

[2646]	<400> 78															
[2647]	Gln	Ile	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[2648]	1			5					10					15		
[2649]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
[2650]				20					25					30		
[2651]	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
[2652]			35					40					45			
[2653]	Gly	Trp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Thr	Lys	Tyr	Ser	Gln	Lys	Phe
[2654]		50					55					60				
[2655]	Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
[2656]	65					70					75					80
[2657]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
[2658]				85						90					95	
[2659]	Ala	Arg	Gly	Gly	Lys	Phe	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser
[2660]				100					105					110		
[2661]	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
[2662]			115					120					125			
[2663]	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
[2664]		130					135					140				
[2665]	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
[2666]	145					150				155						160
[2667]	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
[2668]				165						170					175	
[2669]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
[2670]			180						185					190		
[2671]	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
[2672]			195					200					205			
[2673]	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
[2674]		210					215					220				
[2675]	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
[2676]	225					230				235						240
[2677]	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
[2678]				245						250					255	
[2679]	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
[2680]			260						265					270		
[2681]	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
[2682]			275					280					285			
[2683]	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
[2684]		290					295					300				
[2685]	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
[2686]	305					310					315					320
[2687]	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile

[2688]	325	330	335
[2689]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[2690]	340	345	350
[2691]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[2692]	355	360	365
[2693]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
[2694]	370	375	380
[2695]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[2696]	385	390	395
[2697]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
[2698]	405	410	415
[2699]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
[2700]	420	425	430
[2701]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[2702]	435	440	445
[2703]	<210> 79		
[2704]	<211> 447		
[2705]	<212> PRT		
[2706]	<213> 人工序列		
[2707]	<220>		
[2708]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		
[2709]	<400> 79		
[2710]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
[2711]	1	5	10
[2712]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
[2713]	20	25	30
[2714]	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile		
[2715]	35	40	45
[2716]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe		
[2717]	50	55	60
[2718]	Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
[2719]	65	70	75
[2720]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2721]	85	90	95
[2722]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser		
[2723]	100	105	110
[2724]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
[2725]	115	120	125
[2726]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
[2727]	130	135	140
[2728]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
[2729]	145	150	155
			160

[2730]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[2731]		165	170
[2732]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		175
[2733]		180	185
[2734]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		190
[2735]		195	200
[2736]	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		205
[2737]		210	215
[2738]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		220
[2739]		225	230
[2740]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		235
[2741]		245	250
[2742]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		255
[2743]		260	265
[2744]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		270
[2745]		275	280
[2746]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		285
[2747]		290	295
[2748]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		300
[2749]		305	310
[2750]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		315
[2751]		325	330
[2752]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		335
[2753]		340	345
[2754]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		350
[2755]		355	360
[2756]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		365
[2757]		370	375
[2758]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		380
[2759]		385	390
[2760]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		395
[2761]		405	410
[2762]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		415
[2763]		420	425
[2764]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		430
[2765]		435	440
[2766]	<210> 80		445
[2767]	<211> 447		
[2768]	<212> PRT		
[2769]	<213> 人工序列		
[2770]	<220>		
[2771]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		

[2772]	<400> 80
[2773]	Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[2774]	1 5 10 15
[2775]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[2776]	20 25 30
[2777]	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
[2778]	35 40 45
[2779]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[2780]	50 55 60
[2781]	Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
[2782]	65 70 75 80
[2783]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2784]	85 90 95
[2785]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
[2786]	100 105 110
[2787]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[2788]	115 120 125
[2789]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[2790]	130 135 140
[2791]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[2792]	145 150 155 160
[2793]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[2794]	165 170 175
[2795]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[2796]	180 185 190
[2797]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[2798]	195 200 205
[2799]	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
[2800]	210 215 220
[2801]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
[2802]	225 230 235 240
[2803]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
[2804]	245 250 255
[2805]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
[2806]	260 265 270
[2807]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
[2808]	275 280 285
[2809]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
[2810]	290 295 300
[2811]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
[2812]	305 310 315 320
[2813]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

[2814]		325		330		335
[2815]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro					
[2816]		340		345		350
[2817]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
[2818]		355		360		365
[2819]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn					
[2820]		370		375		380
[2821]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser					
[2822]	385		390		395	400
[2823]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg					
[2824]		405		410		415
[2825]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu					
[2826]		420		425		430
[2827]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
[2828]		435		440		445
[2829]	<210> 81					
[2830]	<211> 447					
[2831]	<212> PRT					
[2832]	<213> 人工序列					
[2833]	<220>					
[2834]	<223> 人工序列的描述:合成多肽					
[2835]	<400> 81					
[2836]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala					
[2837]	1	5		10		15
[2838]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr					
[2839]		20		25		30
[2840]	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile					
[2841]		35		40		45
[2842]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe					
[2843]		50		55		60
[2844]	Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr					
[2845]	65		70		75	80
[2846]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
[2847]		85		90		95
[2848]	Ala Arg Gly Gly Lys Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser					
[2849]		100		105		110
[2850]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu					
[2851]		115		120		125
[2852]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys					
[2853]		130		135		140
[2854]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser					
[2855]	145		150		155	160

[2856]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[2857]		165	170
[2858]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		175
[2859]		180	185
[2860]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		190
[2861]		195	200
[2862]	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		205
[2863]		210	215
[2864]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		220
[2865]		225	230
[2866]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		235
[2867]		245	250
[2868]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		240
[2869]		260	265
[2870]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		270
[2871]		275	280
[2872]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		285
[2873]		290	295
[2874]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		300
[2875]		305	310
[2876]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		315
[2877]		325	330
[2878]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		320
[2879]		340	345
[2880]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		335
[2881]		355	360
[2882]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		365
[2883]		370	375
[2884]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		380
[2885]		385	390
[2886]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		395
[2887]		405	410
[2888]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		415
[2889]		420	425
[2890]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		430
[2891]		435	440
[2892]	<210> 82		445
[2893]	<211> 219		
[2894]	<212> PRT		
[2895]	<213> 人工序列		
[2896]	<220>		
[2897]	<223> 人工序列的描述:合成多肽		

[2898]	<400> 82
[2899]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
[2900]	1 5 10 15
[2901]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[2902]	20 25 30
[2903]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
[2904]	35 40 45
[2905]	Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[2906]	50 55 60
[2907]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[2908]	65 70 75 80
[2909]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
[2910]	85 90 95
[2911]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[2912]	100 105 110
[2913]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
[2914]	115 120 125
[2915]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
[2916]	130 135 140
[2917]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
[2918]	145 150 155 160
[2919]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
[2920]	165 170 175
[2921]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[2922]	180 185 190
[2923]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[2924]	195 200 205
[2925]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[2926]	210 215
[2927]	<210> 83
[2928]	<211> 219
[2929]	<212> PRT
[2930]	<213> 人工序列
[2931]	<220>
[2932]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[2933]	<400> 83
[2934]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
[2935]	1 5 10 15
[2936]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[2937]	20 25 30
[2938]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
[2939]	35 40 45

[2940]	Pro Arg Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[2941]	50 55 60
[2942]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[2943]	65 70 75 80
[2944]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
[2945]	85 90 95
[2946]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
[2947]	100 105 110
[2948]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
[2949]	115 120 125
[2950]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
[2951]	130 135 140
[2952]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
[2953]	145 150 155 160
[2954]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
[2955]	165 170 175
[2956]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[2957]	180 185 190
[2958]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[2959]	195 200 205
[2960]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[2961]	210 215
[2962]	<210> 84
[2963]	<211> 219
[2964]	<212> PRT
[2965]	<213> 人工序列
[2966]	<220>
[2967]	<223> 人工序列的描述:合成多肽
[2968]	<400> 84
[2969]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
[2970]	1 5 10 15
[2971]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
[2972]	20 25 30
[2973]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
[2974]	35 40 45
[2975]	Pro Arg Pro Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[2976]	50 55 60
[2977]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[2978]	65 70 75 80
[2979]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Gly
[2980]	85 90 95
[2981]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

[2982]	100	105	110
[2983]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
[2984]	115	120	125
[2985]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
[2986]	130	135	140
[2987]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
[2988]	145	150	155
[2989]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
[2990]	165	170	175
[2991]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
[2992]	180	185	190
[2993]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
[2994]	195	200	205
[2995]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[2996]	210	215	
[2997]	<210> 85		
[2998]	<211> 384		
[2999]	<212> PRT		
[3000]	<213> 智人(homo sapiens)		
[3001]	<400> 85		
[3002]	Ala Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg		
[3003]	1	5	10
[3004]	His Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly		
[3005]	20	25	30
[3006]	Tyr His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser		
[3007]	35	40	45
[3008]	Gln Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr		
[3009]	50	55	60
[3010]	Met Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly		
[3011]	65	70	75
[3012]	Glu Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu		
[3013]	85	90	95
[3014]	Ile Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro		
[3015]	100	105	110
[3016]	Thr Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala		
[3017]	115	120	125
[3018]	Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys		
[3019]	130	135	140
[3020]	Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu		
[3021]	145	150	155
[3022]	Cys Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala		
[3023]	165	170	175

[3024]	Val	Gln	Asp	Leu	Trp	Leu	Arg	Asp	Lys	Ala	Thr	Phe	Thr	Cys	Phe	Val
[3025]				180					185					190		
[3026]	Val	Gly	Ser	Asp	Leu	Lys	Asp	Ala	His	Leu	Thr	Trp	Glu	Val	Ala	Gly
[3027]				195				200					205			
[3028]	Lys	Val	Pro	Thr	Gly	Gly	Val	Glu	Glu	Gly	Leu	Leu	Glu	Arg	His	Ser
[3029]		210					215				220					
[3030]	Asn	Gly	Ser	Gln	Ser	Gln	His	Ser	Arg	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ser	Leu
[3031]	225				230					235					240	
[3032]	Trp	Asn	Ala	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Cys	Thr	Leu	Asn	His	Pro	Ser	Leu
[3033]				245					250					255		
[3034]	Pro	Pro	Gln	Arg	Leu	Met	Ala	Leu	Arg	Glu	Pro	Ala	Ala	Gln	Ala	Pro
[3035]				260					265					270		
[3036]	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Asn	Leu	Leu	Ala	Ser	Ser	Asp	Pro	Pro	Glu	Ala
[3037]		275						280					285			
[3038]	Ala	Ser	Trp	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Pro	Pro	Asn	Ile
[3039]	290					295					300					
[3040]	Leu	Leu	Met	Trp	Leu	Glu	Asp	Gln	Arg	Glu	Val	Asn	Thr	Ser	Gly	Phe
[3041]	305				310					315				320		
[3042]	Ala	Pro	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Gln	Pro	Gly	Ser	Thr	Thr	Phe	Trp	Ala
[3043]				325						330				335		
[3044]	Trp	Ser	Val	Leu	Arg	Val	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Pro	Gln	Pro	Ala	Thr
[3045]			340					345					350			
[3046]	Tyr	Thr	Cys	Val	Val	Ser	His	Glu	Asp	Ser	Arg	Thr	Leu	Leu	Asn	Ala
[3047]		355						360				365				
[3048]	Ser	Arg	Ser	Leu	Glu	Val	Ser	Tyr	Val	Thr	Asp	His	Gly	Pro	Met	Lys
[3049]	370					375					380					
[3050]	<210> 86															
[3051]	<211> 330															
[3052]	<212> PRT															
[3053]	<213> 智人(homo sapiens)															
[3054]	<400> 86															
[3055]	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
[3056]	1			5					10					15		
[3057]	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
[3058]				20					25					30		
[3059]	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
[3060]		35						40				45				
[3061]	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
[3062]		50					55					60				
[3063]	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
[3064]	65				70					75				80		
[3065]	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys

[3066]					85				90				95			
[3067]	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
[3068]					100				105				110			
[3069]	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
[3070]					115				120				125			
[3071]	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
[3072]					130				135				140			
[3073]	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
[3074]	145				150				155				160			
[3075]	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
[3076]					165				170				175			
[3077]	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
[3078]					180				185				190			
[3079]	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
[3080]					195				200				205			
[3081]	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
[3082]	210				215				220							
[3083]	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
[3084]	225				230				235				240			
[3085]	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
[3086]					245				250				255			
[3087]	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
[3088]					260				265				270			
[3089]	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
[3090]	275				280				285							
[3091]	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
[3092]	290				295				300							
[3093]	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
[3094]	305				310				315				320			
[3095]	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
[3096]					325				330							
[3097]	<210> 87															
[3098]	<211> 326															
[3099]	<212> PRT															
[3100]	<213> 智人(homo sapiens)															
[3101]	<400> 87															
[3102]	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
[3103]	1				5				10				15			
[3104]	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
[3105]					20				25				30			
[3106]	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
[3107]	35				40				45							

[3108]	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[3109]	50 55 60
[3110]	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
[3111]	65 70 75 80
[3112]	Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
[3113]	85 90 95
[3114]	Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
[3115]	100 105 110
[3116]	Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[3117]	115 120 125
[3118]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[3119]	130 135 140
[3120]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[3121]	145 150 155 160
[3122]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
[3123]	165 170 175
[3124]	Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
[3125]	180 185 190
[3126]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
[3127]	195 200 205
[3128]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[3129]	210 215 220
[3130]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
[3131]	225 230 235 240
[3132]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[3133]	245 250 255
[3134]	Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[3135]	260 265 270
[3136]	Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[3137]	275 280 285
[3138]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[3139]	290 295 300
[3140]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[3141]	305 310 315 320
[3142]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[3143]	325
[3144]	<210> 88
[3145]	<211> 377
[3146]	<212> PRT
[3147]	<213> 智人(homo sapiens)
[3148]	<400> 88
[3149]	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

[3150]	1	5	10	15
[3151]	Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
[3152]	20	25	30	
[3153]	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
[3154]	35	40	45	
[3155]	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
[3156]	50	55	60	
[3157]	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
[3158]	65	70	75	80
[3159]	Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
[3160]	85	90	95	
[3161]	Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro			
[3162]	100	105	110	
[3163]	Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg			
[3164]	115	120	125	
[3165]	Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys			
[3166]	130	135	140	
[3167]	Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro			
[3168]	145	150	155	160
[3169]	Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
[3170]	165	170	175	
[3171]	Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
[3172]	180	185	190	
[3173]	Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr			
[3174]	195	200	205	
[3175]	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu			
[3176]	210	215	220	
[3177]	Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
[3178]	225	230	235	240
[3179]	Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
[3180]	245	250	255	
[3181]	Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln			
[3182]	260	265	270	
[3183]	Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met			
[3184]	275	280	285	
[3185]	Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
[3186]	290	295	300	
[3187]	Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
[3188]	305	310	315	320
[3189]	Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
[3190]	325	330	335	
[3191]	Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile			

[3192]	340	345	350
[3193]	Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln		
[3194]	355	360	365
[3195]	Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[3196]	370	375	
[3197]	<210> 89		
[3198]	<211> 452		
[3199]	<212> PRT		
[3200]	<213> 智人(homo sapiens)		
[3201]	<400> 89		
[3202]	Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn		
[3203]	1	5	10
[3204]	Ser Pro Ser Asp Thr Ser Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp		
[3205]	20	25	30
[3206]	Phe Leu Pro Asp Ser Ile Thr Leu Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser		
[3207]	35	40	45
[3208]	Asp Ile Ser Ser Thr Arg Gly Phe Pro Ser Val Leu Arg Gly Gly Lys		
[3209]	50	55	60
[3210]	Tyr Ala Ala Thr Ser Gln Val Leu Leu Pro Ser Lys Asp Val Met Gln		
[3211]	65	70	75
[3212]	Gly Thr Asp Glu His Val Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn		
[3213]	85	90	95
[3214]	Lys Glu Lys Asn Val Pro Leu Pro Val Ile Ala Glu Leu Pro Pro Lys		
[3215]	100	105	110
[3216]	Val Ser Val Phe Val Pro Pro Arg Asp Gly Phe Phe Gly Asn Pro Arg		
[3217]	115	120	125
[3218]	Lys Ser Lys Leu Ile Cys Gln Ala Thr Gly Phe Ser Pro Arg Gln Ile		
[3219]	130	135	140
[3220]	Gln Val Ser Trp Leu Arg Glu Gly Lys Gln Val Gly Ser Gly Val Thr		
[3221]	145	150	155
[3222]	Thr Asp Gln Val Gln Ala Glu Ala Lys Glu Ser Gly Pro Thr Thr Tyr		
[3223]	165	170	175
[3224]	Lys Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys Glu Ser Asp Trp Leu Gly Gln		
[3225]	180	185	190
[3226]	Ser Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln Gln		
[3227]	195	200	205
[3228]	Asn Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg Val		
[3229]	210	215	220
[3230]	Phe Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr		
[3231]	225	230	235
[3232]	Lys Leu Thr Cys Leu Val Thr Asp Leu Thr Thr Tyr Asp Ser Val Thr		
[3233]	245	250	255

[3234]	Ile Ser Trp Thr Arg Gln Asn Gly Glu Ala Val Lys Thr His Thr Asn
[3235]	260 265 270
[3236]	Ile Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala
[3237]	275 280 285
[3238]	Ser Ile Cys Glu Asp Asp Trp Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr
[3239]	290 295 300
[3240]	Val Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg
[3241]	305 310 315 320
[3242]	Pro Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro Pro
[3243]	325 330 335
[3244]	Ala Arg Glu Gln Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu
[3245]	340 345 350
[3246]	Val Thr Gly Phe Ser Pro Ala Asp Val Phe Val Gln Trp Met Gln Arg
[3247]	355 360 365
[3248]	Gly Gln Pro Leu Ser Pro Glu Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro
[3249]	370 375 380
[3250]	Glu Pro Gln Ala Pro Gly Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val
[3251]	385 390 395 400
[3252]	Ser Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val Ala His
[3253]	405 410 415
[3254]	Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr
[3255]	420 425 430
[3256]	Gly Lys Pro Thr Leu Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala
[3257]	435 440 445
[3258]	Gly Thr Cys Tyr
[3259]	450
[3260]	<210> 90
[3261]	<211> 327
[3262]	<212> PRT
[3263]	<213> 智人(homo sapiens)
[3264]	<400> 90
[3265]	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
[3266]	1 5 10 15
[3267]	Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
[3268]	20 25 30
[3269]	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
[3270]	35 40 45
[3271]	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[3272]	50 55 60
[3273]	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
[3274]	65 70 75 80
[3275]	Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

[3276]		85		90		95
[3277]	Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro					
[3278]		100		105		110
[3279]	Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys					
[3280]		115		120		125
[3281]	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val					
[3282]		130		135		140
[3283]	Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp					
[3284]		145		150		155
[3285]	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe					
[3286]		165		170		175
[3287]	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp					
[3288]		180		185		190
[3289]	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu					
[3290]		195		200		205
[3291]	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg					
[3292]		210		215		220
[3293]	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys					
[3294]		225		230		235
[3295]	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp					
[3296]		245		250		255
[3297]	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys					
[3298]		260		265		270
[3299]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser					
[3300]		275		280		285
[3301]	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser					
[3302]		290		295		300
[3303]	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser					
[3304]		305		310		315
[3305]	Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys					320
[3306]		325				
[3307]	<210> 91					
[3308]	<211> 353					
[3309]	<212> PRT					
[3310]	<213> 智人(homo sapiens)					
[3311]	<400> 91					
[3312]	Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr					
[3313]		1		5		10
[3314]	Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe					
[3315]		20		25		30
[3316]	Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val					
[3317]		35		40		45

[3318]	Thr	Ala	Arg	Asn	Phe	Pro	Pro	Ser	Gln	Asp	Ala	Ser	Gly	Asp	Leu	Tyr
[3319]	50					55					60					
[3320]	Thr	Thr	Ser	Ser	Gln	Leu	Thr	Leu	Pro	Ala	Thr	Gln	Cys	Leu	Ala	Gly
[3321]	65				70					75					80	
[3322]	Lys	Ser	Val	Thr	Cys	His	Val	Lys	His	Tyr	Thr	Asn	Pro	Ser	Gln	Asp
[3323]				85					90					95		
[3324]	Val	Thr	Val	Pro	Cys	Pro	Val	Pro	Ser	Thr	Pro	Pro	Thr	Pro	Ser	Pro
[3325]				100					105					110		
[3326]	Ser	Thr	Pro	Pro	Thr	Pro	Ser	Pro	Ser	Cys	Cys	His	Pro	Arg	Leu	Ser
[3327]			115					120					125			
[3328]	Leu	His	Arg	Pro	Ala	Leu	Glu	Asp	Leu	Leu	Leu	Gly	Ser	Glu	Ala	Asn
[3329]	130					135						140				
[3330]	Leu	Thr	Cys	Thr	Leu	Thr	Gly	Leu	Arg	Asp	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe
[3331]	145					150					155					160
[3332]	Thr	Trp	Thr	Pro	Ser	Ser	Gly	Lys	Ser	Ala	Val	Gln	Gly	Pro	Pro	Glu
[3333]				165						170					175	
[3334]	Arg	Asp	Leu	Cys	Gly	Cys	Tyr	Ser	Val	Ser	Ser	Val	Leu	Pro	Gly	Cys
[3335]				180						185					190	
[3336]	Ala	Glu	Pro	Trp	Asn	His	Gly	Lys	Thr	Phe	Thr	Cys	Thr	Ala	Ala	Tyr
[3337]			195						200					205		
[3338]	Pro	Glu	Ser	Lys	Thr	Pro	Leu	Thr	Ala	Thr	Leu	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn
[3339]	210						215							220		
[3340]	Thr	Phe	Arg	Pro	Glu	Val	His	Leu	Leu	Pro	Pro	Pro	Ser	Glu	Glu	Leu
[3341]	225					230					235					240
[3342]	Ala	Leu	Asn	Glu	Leu	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Leu	Ala	Arg	Gly	Phe	Ser
[3343]				245						250					255	
[3344]	Pro	Lys	Asp	Val	Leu	Val	Arg	Trp	Leu	Gln	Gly	Ser	Gln	Glu	Leu	Pro
[3345]				260						265					270	
[3346]	Arg	Glu	Lys	Tyr	Leu	Thr	Trp	Ala	Ser	Arg	Gln	Glu	Pro	Ser	Gln	Gly
[3347]				275						280					285	
[3348]	Thr	Thr	Thr	Phe	Ala	Val	Thr	Ser	Ile	Leu	Arg	Val	Ala	Ala	Glu	Asp
[3349]			290						295					300		
[3350]	Trp	Lys	Lys	Gly	Asp	Thr	Phe	Ser	Cys	Met	Val	Gly	His	Glu	Ala	Leu
[3351]	305					310					315					320
[3352]	Pro	Leu	Ala	Phe	Thr	Gln	Lys	Thr	Ile	Asp	Arg	Leu	Ala	Gly	Lys	Pro
[3353]				325						330					335	
[3354]	Thr	His	Val	Asn	Val	Ser	Val	Val	Met	Ala	Glu	Val	Asp	Gly	Thr	Cys
[3355]				340						345					350	
[3356]	Tyr															
[3357]	<210>	92														
[3358]	<211>	1344														
[3359]	<212>	DNA														

[3360]	<213> 智人(homo sapiens)	
[3361]	<400> 92	
[3362]	cagatccagc tgcagcagtc tggacccgag gtcgtgaagc ctggcgcctc cgtgaagatc	60
[3363]	tcctgcaagg cctccggcta caccttcacc gactactaca tccactgggt caagcagcgg	120
[3364]	ccagggcagg gcctggaatg gatcggtg atctatcccg gctccggcaa caccaagtac	180
[3365]	aacgagaagt tcaagggcaa ggccaccctg accgtggaca cctctgcctc caccgcctac	240
[3366]	atggaactgt cctccctgac ctccgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc	300
[3367]	aagttcgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcttctacc	360
[3368]	aaggggccat cggctctccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
[3369]	gccccgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	480
[3370]	ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggccgtcc tacagtctc aggactctac	540
[3371]	tcctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc	600
[3372]	aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gattgagcc caaatcttgt	660
[3373]	gacaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	720
[3374]	ttctcttccc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	780
[3375]	tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac	840
[3376]	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac	900
[3377]	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	960
[3378]	tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
[3379]	gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag	1080
[3380]	aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag	1140
[3381]	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccg gctggactcc	1200
[3382]	gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg	1260
[3383]	aacgtcttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
[3384]	ctctccctgt ctccgggtaa atga	1344
[3385]	<210> 93	
[3386]	<211> 1344	
[3387]	<212> DNA	
[3388]	<213> 智人(homo sapiens)	
[3389]	<400> 93	
[3390]	cagatccagc tggtgcagtc tggacccgag gtcgtgaagc ctggcgcctc cgtgaagatc	60
[3391]	tcctgcaagg cctccggcta caccttcacc gactactaca tccactgggt gcgacaggcc	120
[3392]	cctggacagg gcctggaatg gatcggtg atctaccctg gctccggcaa caccaagtac	180
[3393]	aacgagaagt tcaagggcag agccaccctg accgtggaca cctctgcctc caccgcctac	240
[3394]	atggaactgt cctccctgcg gagcgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc	300
[3395]	aagttcgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcttctacc	360
[3396]	aaggggccat cggctctccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
[3397]	gccccgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	480
[3398]	ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggccgtcc tacagtctc aggactctac	540
[3399]	tcctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc	600
[3400]	aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gattgagcc caaatcttgt	660
[3401]	gacaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	720

[3402]	ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	780
[3403]	tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac	840
[3404]	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac	900
[3405]	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	960
[3406]	tgcaaggctct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
[3407]	gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag	1080
[3408]	aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag	1140
[3409]	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctctccgt gctggactcc	1200
[3410]	gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg	1260
[3411]	aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
[3412]	ctctccctgt ctccgggtaa atga	1344
[3413]	<210>	94
[3414]	<211>	660
[3415]	<212>	DNA
[3416]	<213>	人工序列
[3417]	<220>	
[3418]	<223>	人工序列的描述:合成多核苷酸
[3419]	<400>	94
[3420]	gacgtcgtga tgacacagtc ccctctgtcc ctgcctgtga ccctgggcga tcaggcctcc	60
[3421]	atctcctgca gatcctccca gtccctggtg cactccaacg gcaacaccta cctgtactgg	120
[3422]	tatctgcaga agcccggcca gtcccccaag cccctgatct acagagtgtc caaccggttc	180
[3423]	tccggcgtgc ccgacagatt ctccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc	240
[3424]	tcccgggtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactttctgt ttcaaggcac ccacgtgccc	300
[3425]	tacaccttcg gcggaggcac ccggctggaa atcaagagaa ccgtggccgc tccctccgtg	360
[3426]	ttcatcttcc caccttccga cgacagctg aagtccggca ccgcttctgt cgtgtgcctg	420
[3427]	ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag	480
[3428]	tccggcaact cccaggaatc cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg	540
[3429]	tcctccaccc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa	600
[3430]	gtgaccaccc agggcctgtc tagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgctag	660
[3431]	<210>	95
[3432]	<211>	660
[3433]	<212>	DNA
[3434]	<213>	人工序列
[3435]	<220>	
[3436]	<223>	人工序列的描述:合成多核苷酸
[3437]	<400>	95
[3438]	gacgtcgtga tgacacagtc ccctctgtcc ctgcctgtga ccctgggaca gcctgcctcc	60
[3439]	atctcctgca gatcctccca gtccctggtg cactccaacg gcaacaccta cctgtactgg	120
[3440]	tatctgcaga agcccggcca gtcccccaag cccctgatct acagagtgtc caaccggttc	180
[3441]	tccggcgtgc ccgacagatt ctccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc	240
[3442]	tcccgggtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactttctgt ttcaaggcac ccacgtgccc	300
[3443]	tacaccttcg gccagggcac ccggctggaa atcaagagaa ccgtggccgc tccctccgtg	360

[3444]	ttcatcttcc caccttccga cgagcagctg aagtccggca ccgcttctgt cgtgtgcctg 420
[3445]	ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag 480
[3446]	tccggcaact cccaggaatc cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg 540
[3447]	tcctccaccc tgaccctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa 600
[3448]	gtgaccacc agggcctgtc tagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgcctag 660
[3449]	<210> 96
[3450]	<211> 1344
[3451]	<212> DNA
[3452]	<213> 人工序列
[3453]	<220>
[3454]	<223> 人工序列的描述:合成多核苷酸
[3455]	<400> 96
[3456]	cagatccagc tgcagcagtc tggacccgag gtcgtgaagc ctggcgcctc cgtgaagatc 60
[3457]	tcctgcaagg cctccggcta caccttcacc gactactaca tccactgggt caagcagcgg 120
[3458]	ccagccagg gcctggaatg gatcggtggt atctatcccg gctccggcaa caccaagtac 180
[3459]	aacgagaagt tcaaggcaa ggccaccctg accgtggaca cctctgcctc caccgcctac 240
[3460]	atggaactgt cctccctgac ctccgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc 300
[3461]	aagttcgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcttctacc 360
[3462]	aaggccccct ctgtgtttcc tctggcccc tccagcaagt ccacctctgg tggaacagcc 420
[3463]	gccccgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 480
[3464]	ggcgctctga cctctggcgt gcacaccttc cctgctgtgc tgcagtctag cggcctgtac 540
[3465]	tcctgtcct ccgtcgtgac agtgccctcc agctctctgg gcaccagac ctacatctgc 600
[3466]	aacgtgaacc acaagccctc caataccaag gtggacaagc ggggtggaacc caagtcctgc 660
[3467]	gacaagaccc acacctgtcc cccttgcct gccctgaac tgctgggcgg accttccgtg 720
[3468]	ttctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 780
[3469]	tgcgtggtgg tggatgtgtc ccacgaggac cctgaagtga agttcaattg gtacgtggac 840
[3470]	ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagtacgc ctccacctac 900
[3471]	cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 960
[3472]	tgcgccgtgt ccaacaagge cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatctc caaggccaag 1020
[3473]	ggccagcccc gggaacccca ggtgtacaca ctgcccccta gcaggacga gctgaccaag 1080
[3474]	aaccagggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1140
[3475]	tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc 1200
[3476]	gacggctcat tcttctgta cagcaagctg accgtggaca agtcccgggt gcagcagggc 1260
[3477]	aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1320
[3478]	ctgtccctga gccccggcaa atga 1344
[3479]	<210> 97
[3480]	<211> 1479
[3481]	<212> DNA
[3482]	<213> 人工序列
[3483]	<220>
[3484]	<223> 人工序列的描述:合成多核苷酸
[3485]	<400> 97

[3486]	gacgtcgtga tgacacagtc ccctctgtcc ctgcctgtga ccctgggaca gcctgcctcc	60
[3487]	atctcctgca gatcctccca gtccctggtg cactccaacg gcaacaccta cctgtactgg	120
[3488]	tatctgcaga agcccgcca gtccccaag cccctgatct acagagtgtc caaccggttc	180
[3489]	tccggcgtgc ccgacagatt ctccggtctt ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc	240
[3490]	tcccggtgg aagccgagga cgtgggcgtg tacttctgtt ttcaaggcac ccacgtgcc	300
[3491]	tacaccttcg gccaggcac ccggtggaa atcaagagaa ccgtggccgc tccctccgtg	360
[3492]	ttcatcttcc cacttccga cgagcagctg aagtccgga ccgcttctgt cgtgtgcctg	420
[3493]	ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtga aggtggacaa cgccctgcag	480
[3494]	tccggcaact cccaggaatc cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg	540
[3495]	tcctccaccc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa	600
[3496]	gtgaccaccc agggcctgtc tagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgcact	660
[3497]	agtggcggcg gaggatctgg cggaggtgga agcggagggg gaggatctca ggtgcagctg	720
[3498]	gtgcagagcg gaggcggagt ggtgcagcct ggcagatccc tgagactgtc ctgcaaggcc	780
[3499]	tccggctaca ccttaccggt gtacaccatg cactgggtgc gacaggcccc tggcaagtgc	840
[3500]	ctggaatgga tcggctacat caaccctcc cggggctaca ccaactacaa ccagaagttc	900
[3501]	aaggaccggt tcaccatctc ccgggacaac tccaagaaca ccgctttctt gcagatggac	960
[3502]	tcctgcggc ctgaggatac cggcgtgtac ttctgcgcc ggtactacga cgaccactac	1020
[3503]	tcctggact actggggcca gggaaccctt gtgacagtgt catctggtgg cggaggaagt	1080
[3504]	gggggaggcg gatcaggtgg tgggtgatca ggcgggggag gttcaggggg tggcggttct	1140
[3505]	gggggagggg gctctgatat tcagatgact cagagccctt ccagcctgag cgcctccgtg	1200
[3506]	ggagatcgcg tgacaattac ctgctctgcc tctctctccg tgtcttacct gaattggtat	1260
[3507]	cagcagaccc ctgggaaggc tcctaagcgg tggatctacg acacctcaa gctggcctct	1320
[3508]	ggcgtgcca gcaggtttc tggctccgga agcggcacag attatacctt caccatcagc	1380
[3509]	tcctgcagc cagaagatat cgctacctat tattgtcagc agtggctctc caacccttc	1440
[3510]	accttcggt gcggcacaaa gctgcagatc acaagatag	1479
[3511]	<210> 98	
[3512]	<211> 1485	
[3513]	<212> DNA	
[3514]	<213> 人工序列	
[3515]	<220>	
[3516]	<223> 人工序列的描述:合成多核苷酸	
[3517]	<400> 98	
[3518]	gacgtcgtga tgacacagtc ccctctgtcc ctgcctgtga ccctgggaca gcctgcctcc	60
[3519]	atctcctgca gatcctccca gtccctggtg cactccaacg gcaacaccta cctgtactgg	120
[3520]	tatctgcaga agcccgcca gtccccaag cccctgatct acagagtgtc caaccggttc	180
[3521]	tccggcgtgc ccgacagatt ctccggtctt ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc	240
[3522]	tcccggtgg aagccgagga cgtgggcgtg tacttctgtt ttcaaggcac ccacgtgcc	300
[3523]	tacaccttcg gccaggcac ccggtggaa atcaagagaa ccgtggccgc tccctccgtg	360
[3524]	ttcatcttcc cacttccga cgagcagctg aagtccgga ccgcttctgt cgtgtgcctg	420
[3525]	ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtga aggtggacaa cgccctgcag	480
[3526]	tccggcaact cccaggaatc cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg	540
[3527]	tcctccaccc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa	600

[3528]	gtgaccacc aggccctgtc tagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgcact	660
[3529]	agtggcggcg gaggatctgg cggaggtgga agtgggggag gcgatctca ggtgcagctg	720
[3530]	gtgcagagtg gtggcggagt ggtgcagcct ggcagatccc tgagactgtc ttgcaaggcc	780
[3531]	agcggtaca ccttcacccg gtacaccatg cactgggtgc gacaggcccc tggcaagggc	840
[3532]	ctggaatgga tcggctacat caaccctcc cggggctaca ccaactacaa ccagaagttc	900
[3533]	aaggaccggt tcaccatcag ccgggacaac tccaagaaca ccgcctttct gcagatggac	960
[3534]	tccttgcggc ctgaggatac cggcgtgtac ttttgcgccc ggtactacga cgaccactac	1020
[3535]	agcctggact actggggcca gggaaccctt gtgacagtgt ctagcggagg gggaggttca	1080
[3536]	ggtggcgggt gatcaggggg cggaggaagt ggcgggggag gtagtggtgg tgggtggaagc	1140
[3537]	ggaggtggcg gctccgatat ccagatgacc cagtccccct ccagcctgtc tgcctctgtg	1200
[3538]	ggagacagag tgacaattac atgctccgcc agctccagcg tgtcctacat gaattggtat	1260
[3539]	cagcagaccc ctggcaaggc tcccaagcgg tggatctacg acacctcaa gctggcctcc	1320
[3540]	ggcgtgccct ccagattttc tggcagcgcc tccggcacag actatacctt tacaatcagc	1380
[3541]	tccttgcagc ccgaagatat cgccacctac tactgccagc agtggtcctc caacccttc	1440
[3542]	accttcggcc agggcacaaa gctgcagatc accagatagt ctaga	1485
[3543]	<210> 99	
[3544]	<211> 1344	
[3545]	<212> DNA	
[3546]	<213> 人工序列	
[3547]	<220>	
[3548]	<223> 人工序列的描述:合成多核苷酸	
[3549]	<400> 99	
[3550]	cagatccagc tgcagcagtc tggaccgag gtcgtgaagc ctggcgccctc cgtgaagatc	60
[3551]	tcctgcaagg cctccggcta caccttcacc gactactaca tccactgggt caagcagcgg	120
[3552]	ccagccagg gcctggaatg gatcggttg atctatcccg gctccggcaa caccaagtac	180
[3553]	aacgagaagt tcgagggcaa ggccaccctg accgtggaca cctctgcctc caccgccac	240
[3554]	atggaactgt cctccctgac ctccgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc	300
[3555]	aagttcgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcctccacc	360
[3556]	aagggcccat cggctctccc cctggcacc tctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
[3557]	gccctgggct gcctgtgcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	480
[3558]	ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggccgtcc tacagtcctc aggactctac	540
[3559]	tcctcagca gcgtggtgac agtgccctcc agctctctgg gcaccagac ctacatctgc	600
[3560]	aacgtgaacc acaagccctc caataccaag gtggacaagc ggggtggaacc caagtctgc	660
[3561]	gacaagaccc acacctgtcc cccttgtcct gccctgaac tgetgggcgg acctccctg	720
[3562]	ttctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc	780
[3563]	tgcgtggtgg tggatgtgtc ccacaggac cctgaagtga agttcaattg gtacgtggac	840
[3564]	ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagtacgc ctccacctac	900
[3565]	cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag	960
[3566]	tgcgccgtgt ccaacaaggc cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatctc caaggccaag	1020
[3567]	ggccagcccc gggaacccca ggtgtacaca ctgcccccta gcaggacga gctgaccaag	1080
[3568]	aaccaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa	1140
[3569]	tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc	1200

[3570]	gacggctcat tcttcctgta cagcaagctg accgtggaca agtccccgtg gcagcagggc	1260
[3571]	aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc	1320
[3572]	ctgtccctga gccccggcaa atga	1344
[3573]	<210>	100
[3574]	<211>	1479
[3575]	<212>	DNA
[3576]	<213>	人工序列
[3577]	<220>	
[3578]	<223>	人工序列的描述:合成多核苷酸
[3579]	<400>	100
[3580]	gacgtcgtga tgacacagtc ccctctgtcc ctgcctgtga ccctgggaca gcctgcctcc	60
[3581]	atctcctgca gatcctccca gtccctgggtg cactccaacg gcaacaccta cctgtactgg	120
[3582]	tatctgcaga agccccggcca gtcccccaag cccctgatct acagagtgtc caaccggttc	180
[3583]	tccggcgtgc cctgcagatt ctccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc	240
[3584]	tccccgggtgg aaaccgagga cgtgggcgtg tactttctgtt ttcaaggcac ccacgtgccc	300
[3585]	tacatcttcg gccaggcac ccggttgga atcaagcgga ccgtggccgc tccctccgtg	360
[3586]	ttcatcttcc caccttccga cgagcagctg aagtccggca ccgcttctgt cgtgtgcctg	420
[3587]	ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag	480
[3588]	tccggcaact cccaggaatc cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg	540
[3589]	tcctccaccc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaagggtga cgcctgcgaa	600
[3590]	gtgaccaccc agggcctgtc tagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgcact	660
[3591]	agtggcggcg gaggatctgg cggaggtgga agcggagggg gaggatctca ggtgcagctg	720
[3592]	gtgcagagcg gaggcggagt ggtgcagcct ggcagatccc tgagactgtc ctgcaaggcc	780
[3593]	tccggtaca cttcacccg gtacaccatg cactgggtgc gacaggcccc tggcaagtgc	840
[3594]	ctggaatgga tcggctacat caaccctcc cggggtaca ccaactacaa ccagaagttc	900
[3595]	aaggaccggt tcaccatctc ccgggacaac tccaagaaca ccgcctttct gcagatggac	960
[3596]	tccctgcggc ctgaggatac cggcgtgtac ttctgcgccc ggtactacga cgaccactac	1020
[3597]	tccctggact actggggcca gggaaccct gtgacagtgt catctggtgg cggaggaagt	1080
[3598]	gggggaggcg gatcaggtgg tgggtgatca ggcgggggag gttcaggggg tggcggttct	1140
[3599]	gggggagggg gctctgatat tcagatgact cagagccctt ccagcctgag cgcctccgtg	1200
[3600]	ggagatcgcg tgacaattac ctgctctgcc tcctcctccg tgtcttacat gaattggtat	1260
[3601]	cagcagaccc ctgggaaggc tcctaagcgg tggatctacg acacctcaa gctggcctct	1320
[3602]	ggcgtgcccc gcaggttttc tggctccggc agcggcacag attatacctt caccatcagc	1380
[3603]	tccctgcagc cagaagatat cgctacctat tattgtcagc agtggtcctc caacccttct	1440
[3604]	accttcggct gcggcacaaa gctgcagatc acaagatag	1479
[3605]	<210>	101
[3606]	<211>	1344
[3607]	<212>	DNA
[3608]	<213>	人工序列
[3609]	<220>	
[3610]	<223>	人工序列的描述:合成多核苷酸
[3611]	<400>	101

[3612]	cagatccagc tgcagcagtc tggacccgag gtcgtgaagc ctggcgcctc cgtgaagatc	60
[3613]	tcctgcaagg cctccggcta caccttcacc gactactaca tccactgggt caagcagcgg	120
[3614]	ccagccagg gcctggaatg gatcggttg atctatcccc gctccggcaa caccaagtac	180
[3615]	aacgagaagt tcaagggcaa ggccaccctg accgtggaca cctctgtctc caccgcctac	240
[3616]	atggaactgt cctccctgac ctccgaggat aacgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc	300
[3617]	aagttcgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcctccacc	360
[3618]	aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
[3619]	gccctgggct gcctgtgtaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	480
[3620]	ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggccgtcc tacagtcctc aggactctac	540
[3621]	tcctcagca gcgtggtgac agtgccctcc agctctctgg gcaccagac ctacatctgc	600
[3622]	aacgtgaacc acaagccctc caataccaag gtggacaagc ggggtggaacc caagtctgc	660
[3623]	gacaagacct acacctgtcc ccttctcct gccctgaac tgctgggcgg acctccgtg	720
[3624]	ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc	780
[3625]	tgcgtggtgg tggatgtgtc ccacaggac cctgaagtga agttcaattg gtacgtggac	840
[3626]	ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagtacgc ctccacctac	900
[3627]	cgggtggtgt ccgtgtgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag	960
[3628]	tgcgccgtgt ccaacaaggc cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatctc caaggccaag	1020
[3629]	ggccagcccc gggaacccca ggtgtacaca ctgcccccta gcaggacga gctgaccaag	1080
[3630]	aaccaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa	1140
[3631]	tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc	1200
[3632]	gacggctcat tcttctgta cagcaagctg accgtggaca agtcccggtg gcagcagggc	1260
[3633]	aacgtgttct cctgctcctg gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc	1320
[3634]	ctgtccctga gccccgcaa atga	1344
[3635]	<210>	102
[3636]	<211>	1479
[3637]	<212>	DNA
[3638]	<213>	人工序列
[3639]	<220>	
[3640]	<223>	人工序列的描述:合成多核苷酸
[3641]	<400>	102
[3642]	gacgtcgtga tgacacagtc ccctctgtcc ctgcctgtga ccctgggaca gcctgcctcc	60
[3643]	atctcctgca gatcctccca gtccctggtg cactccaacg gcaacaccta cctgtactgg	120
[3644]	tatctgcaga agccccgcca gtccccaaag ccctgatct acagagtgtc caaccggttc	180
[3645]	tccggcgtgc cctgcagata ctccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc	240
[3646]	tcccgggtgg aagccgagga cgtgggcgtg tacttctgtt ttcaaggcac ccacgtgccc	300
[3647]	tacaccttcg gccaggcac ccggtggaa atcaagcgga ccgtggccgc tccctccgtg	360
[3648]	ttcatcttcc caccttccga cgagcagctg aagtccggca ccgcttctgt cgtgtgcctg	420
[3649]	ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag	480
[3650]	tccggcaact ccaggaatc cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg	540
[3651]	tcctccaccc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa	600
[3652]	gtgaccaccc agggcctgtc tagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgcact	660
[3653]	agtggcggcg gaggatctgg cggaggtgga agcggagggg gaggatctca ggtgcagctg	720

[3654]	gtgcagagcg gaggcggagt ggtgcagcct ggcagatccc tgagactgtc ctgcaaggcc	780
[3655]	tccggctaca ccttcacccg gtacaccatg cactgggtgc gacaggcccc tggcaagtgc	840
[3656]	ctggaatgga teggctacat caaccctcc cggggctaca ccaactacaa ccagaagttc	900
[3657]	aaggaccggt tcaccatctc ccgggacaac tccaagaaca ccgcctttct gcagatggac	960
[3658]	tccttgcggc ctgaggatac cggcgtgtac ttctgcgccc ggtactacga cgaccactac	1020
[3659]	tccttggact actggggcca gggaaccct gtgacagtgt catctggtgg cggaggaagt	1080
[3660]	gggggaggcg gatcaggtgg tggatgatca ggcgggggag gttcaggggg tggcggttct	1140
[3661]	gggggagggg gctctgatat tcagatgact cagagccctt ccagcctgag cgcctccgtg	1200
[3662]	ggagatcgcg tgacaattac ctgctctgcc tcctcctccg tgtcttacat gaattggtat	1260
[3663]	cagcagaccc ctgggaaggc tcctaagcgg tggatctacg acacctcaa gctggcctct	1320
[3664]	ggcgtgcccc gcaggttttc tggctccggc agcggcacag attatacctt caccatcagc	1380
[3665]	tccttcgagc cagaagatat cgctacctat tattgtcagc agtggctctc caacccttct	1440
[3666]	accttcggct gcggcacaaa gctgcagatc acaagatag	1479
[3667]	<210>	103
[3668]	<211>	1356
[3669]	<212>	DNA
[3670]	<213>	人工序列
[3671]	<220>	
[3672]	<223>	人工序列的描述:合成多核苷酸
[3673]	<400>	103
[3674]	ccgccaccgg ccagatcca gctgcagcag tctggaccgg aggtcgtgaa gcctggcgcc	60
[3675]	tccgtgaaga tctcctgcaa ggctccggc tacaccttca ccaactacta catccactgg	120
[3676]	gtcatgcagc ggccaggcca gggcctggaa tggatcgccc ggatctatcc cggctccggc	180
[3677]	aacaccaagt acaacgagaa gttcaaggcg aaggccacc tgaccgtgga cacctctgcc	240
[3678]	tccaccgect acatggaact gtctccctg acctccgagg ataccgccc gtactttctgt	300
[3679]	gccagaggcg gcaagtgc catggactat tggggccagg gcacctcgt gaccgtgtct	360
[3680]	agcgctcca ccaaggcccc atcggctctc cccctggcac cctcctcaa gagcacctct	420
[3681]	gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg	480
[3682]	tcgtggaact caggcgcct gaccagcggc gtgcacacct tccggccgt cctacagtc	540
[3683]	tcaggactct actccctcag cagcgtgggt acagtgcct ccagctctct gggcaccag	600
[3684]	acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc tccaatacca aggtggacaa gcgggtgga	660
[3685]	cccaagtcct gcgacaagac ccacacctgt ccccttgctc ctgcccctga actgctgggc	720
[3686]	ggaccttccg tgttcctgtt cccccaaag cccaaggaca ccctgatgat ctcccgacc	780
[3687]	cccgaagtga cctgcgtggt ggtgatgtg tccacgagg acctgaagt gaagttcaat	840
[3688]	tggtagctgg acggcgtgga agtgacaaac gccaaagaca agcctagaga ggaacagtac	900
[3689]	gcctccacct accgggtggt gtccgtgctg acagtgtgtc accaggactg gctgaacggc	960
[3690]	aaagagtaca agtgcgccgt gtccaacaag gccctgcctg ccccatcga aaagaccatc	1020
[3691]	tccaaggcca agggccagcc ccgggaaccc caggtgtaca cactgcccc tagcagggac	1080
[3692]	gagctgacca agaaccaggt gtccctgacc tgtctcgtga aaggcttcta cccctccgat	1140
[3693]	atgccgtgg aatgggagtc caacggccag cctgagaaca actacaagac cccccccct	1200
[3694]	gtgctggact ccgacgctc attcttctg tacagcaagc tgaccgtgga caagtcccg	1260
[3695]	tggcagcagg gcaacgtgtt ctctgtctc gtgatgcac aggcctgca caaccactac	1320

[3696]	accagagaagt ccctgtccct gagccccggc aaatga 1356
[3697]	<210> 104
[3698]	<211> 1344
[3699]	<212> DNA
[3700]	<213> 人工序列
[3701]	<220>
[3702]	<223> 人工序列的描述:合成多核苷酸
[3703]	<400> 104
[3704]	cagatccagc tgcagcagtc tggacccgag gtcgtgaagc ctggcgcctc cgtaaagatc 60
[3705]	tcctgcaagg cctccggcta caccttcacc aactactaca tccactgggt caagcagcgg 120
[3706]	ccaggccaag gcctggaatg gatcgccgg atctatcccg gctccggcaa caccaagtac 180
[3707]	aacgagaagt tcaagggaac ggccaccctg accgtggaca cctctgcctc caccgcctac 240
[3708]	atggaactgt cctccctgac ctccgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc 300
[3709]	aagttcgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcctccacc 360
[3710]	aaggccccat cggctctccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
[3711]	gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480
[3712]	ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggccgtcc tacagtcctc aggactctac 540
[3713]	tcctcagca gcgtggtgac agtgccctcc agctctctgg gcaccagac ctacatctgc 600
[3714]	aacgtgaacc acaagccctc caataccaag gtggacaagc ggggtggaacc caagtctgc 660
[3715]	gacaagaccc acacctgtcc cccttgcct gccctgaac tgctgggcgg accttccgtg 720
[3716]	ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 780
[3717]	tgctggtgg tggatgtgc ccacaggac cctgaagtga agttcaattg gtacgtggac 840
[3718]	ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagtacgc ctccacctac 900
[3719]	cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 960
[3720]	tgcccggtgt ccaacaaggc cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatctc caaggccaag 1020
[3721]	ggccagcccc gggaacccca ggtgtacaca ctgcccccta gcaggacga gctgaccaag 1080
[3722]	aaccaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1140
[3723]	tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc 1200
[3724]	gacggtcat tcttctgtga cagcaagctg accgtggaca agtcccggtg gcagcagggc 1260
[3725]	aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1320
[3726]	ctgtccctga gccccgcaa atga 1344
[3727]	<210> 105
[3728]	<211> 1344
[3729]	<212> DNA
[3730]	<213> 人工序列
[3731]	<220>
[3732]	<223> 人工序列的描述:合成多核苷酸
[3733]	<400> 105
[3734]	cagatccagc tgcagcagtc tggacccgag gtcgtgaagc ctggcgcctc cgtgaagatc 60
[3735]	tcctgcaagg cctccggcta caccttcacc cggtactaca tccactgggt catgcagcgg 120
[3736]	ccaggccagg gcctggaatg gatcgccgg atctatcccg gctccggcaa caccaagtac 180
[3737]	aacgagaagt tcaagggaac ggccaccctg accgtggaca cctctgcctc caccgcctac 240

[3738]	atggaactgt cctccctgac ctccgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc	300
[3739]	aagttcgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcctccacc	360
[3740]	aaggccccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
[3741]	gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	480
[3742]	ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggccgtcc tacagtcctc aggactctac	540
[3743]	tccctcagca gcgtgggtgac agtgccctcc agctctctgg gcaccagac ctacatctgc	600
[3744]	aacgtgaacc acaagccctc caataccaag gtggacaagc ggggtggaacc caagtccctgc	660
[3745]	gacaagaccc acacctgtcc cccttgcct gccctgaac tgctgggcgg accttccgtg	720
[3746]	ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc	780
[3747]	tgctgggtgg tggatgtgtc ccacgaggac cctgaagtga agttcaattg gtacgtggac	840
[3748]	ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagtacgc ctccacctac	900
[3749]	cgggtgggtg ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag	960
[3750]	tgcccggtgt ccaacaaggc cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatctc caaggccaag	1020
[3751]	ggccagcccc gggaacccca ggtgtacaca ctgcccccta gcaggacga gctgaccaag	1080
[3752]	aaccagggtg ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa	1140
[3753]	tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc	1200
[3754]	gacggctcat tcttctgta cagcaagctg accgtggaca agtcccgggt gcagcagggc	1260
[3755]	aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc	1320
[3756]	ctgtccctga gccccgcaa atga	1344
[3757]	<210>	106
[3758]	<211>	1344
[3759]	<212>	DNA
[3760]	<213>	人工序列
[3761]	<220>	
[3762]	<223>	人工序列的描述:合成多核苷酸
[3763]	<400>	106
[3764]	cagatccagc tgcagcagtc tggacccgag gtcgtgaagc ctggcgcctc cgtaagatc	60
[3765]	tcctgcaagg cctccggcta caccttacc cggactacta tccactgggt caagcagcgg	120
[3766]	ccaggccaag gcctggaatg gatcgccgg atctatccc gctccggcaa caccaagtac	180
[3767]	aacgagaagt tcaagggcaa ggccaccctg accgtggaca cctctgcctc caccgcctac	240
[3768]	atggaactgt cctccctgac ctccgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc	300
[3769]	aagttcgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcctccacc	360
[3770]	aaggccccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
[3771]	gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	480
[3772]	ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggccgtcc tacagtcctc aggactctac	540
[3773]	tccctcagca gcgtgggtgac agtgccctcc agctctctgg gcaccagac ctacatctgc	600
[3774]	aacgtgaacc acaagccctc caataccaag gtggacaagc ggggtggaacc caagtccctgc	660
[3775]	gacaagaccc acacctgtcc cccttgcct gccctgaac tgctgggcgg accttccgtg	720
[3776]	ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc	780
[3777]	tgctgggtgg tggatgtgtc ccacgaggac cctgaagtga agttcaattg gtacgtggac	840
[3778]	ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagtacgc ctccacctac	900
[3779]	cgggtgggtg ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag	960

[3780]	tgcgccgtgt ccaacaaggc cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatctc caaggccaag	1020
[3781]	ggccagcccc gggaacccca ggtgtacaca ctgcccccta gcaggacga gctgaccaag	1080
[3782]	aaccaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggctttctacc cctccgatat cgccgtggaa	1140
[3783]	tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc	1200
[3784]	gacggctcat tcttcctgta cagcaagctg accgtggaca agtcccgggtg gcagcagggc	1260
[3785]	aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc	1320
[3786]	ctgtccctga gccccggcaa atga	1344
[3787]	<210>	107
[3788]	<211>	1344
[3789]	<212>	DNA
[3790]	<213>	人工序列
[3791]	<220>	
[3792]	<223>	人工序列的描述:合成多核苷酸
[3793]	<400>	107
[3794]	cagatccagc tgcagcagtc tggacccgag gtcgtgaagc ctggcgccctc cgtgaagatc	60
[3795]	tcttcaagg cctccggcta caccttcacc gactactaca tccactgggt caagcagcgg	120
[3796]	ccaggccagg gcctggaatg gatcggtctg atctatccc gctccggcaa caccaagtac	180
[3797]	aacgagaagt tcaaggcaa ggccaccctg accgtggaca cctctgcctc caccgcctac	240
[3798]	atggaactgt cctccctgac ctccgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaggcggc	300
[3799]	aagtctgcca tggactattg gggccagggc accctcgtga ccgtgtctag cgcttctacc	360
[3800]	aaggccccct ctgtgtttcc tctggcccc tccagcaagt ccacctctgg tggaacagcc	420
[3801]	gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccc tgaccgtgtc ctggaactct	480
[3802]	ggcgtcttga cctctggcgt gcacaccttc cctgctgtgc tgcagtctag cggcctgtac	540
[3803]	tcctgtcct ccgtcgtgac agtgcctcc agctctctgg gcaccagac ctacatctgc	600
[3804]	aacgtgaacc acaagccctc caataccaag gtggacaagc ggggtggaacc caagtctgc	660
[3805]	gacaagacct acacctgtcc cccttgcct gccctgaac tgctgggcgg accttccgtg	720
[3806]	ttctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc	780
[3807]	tgcgtgggtg tggatgtgtc ccacgaggac cctgaagtga agttcaattg gtacgtggac	840
[3808]	ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagtacgc ctccacctac	900
[3809]	cgggtgggtg ccgtgctgac agtgcctgc caggactggc tgaacggcaa agagtacaag	960
[3810]	tgcgccgtgt ccaacaaggc cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatctc caaggccaag	1020
[3811]	ggccagcccc gggaacccca ggtgtacaca ctgcccccta gcaggacga gctgaccaag	1080
[3812]	aaccaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggctttctacc cctccgatat cgccgtggaa	1140
[3813]	tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc	1200
[3814]	gacggctcat tcttcctgta cagcaagctg accgtggaca agtcccgggtg gcagcagggc	1260
[3815]	aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc	1320
[3816]	ctgtccctga gccccggcaa atga	1344
[3817]	<210>	108
[3818]	<211>	1489
[3819]	<212>	DNA
[3820]	<213>	人工序列
[3821]	<220>	

- [3822] <223> 人工序列的描述:合成多核苷酸
- [3823] <400> 108
- [3824] gacgtcgtga tgacacagtc cctctgtgcc ctgctgtga cctgggaca gcctgcctcc 60
- [3825] atctcctgca gatcctccca gtccctgggtg cactccaacg gcaacaccta cctgtactgg 120
- [3826] tatctgcaga agcccggcca gtccccaag cccctgatct acagagtgtc caaccggttc 180
- [3827] tccggcgtgc ccgacagatt ctccggctct ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc 240
- [3828] tccccgggtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactttctgtt ttcaaggcac ccacgtgccc 300
- [3829] tacaccttcg gccagggcac ccggctggaa atcaagagaa ccgtggccgc tccctccgtg 360
- [3830] ttcatcttcc caccttccga cgagcagctg aagtccggca ccgcttctgt cgtgtgcctg 420
- [3831] ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtga aggtggacaa cgccctgcag 480
- [3832] tccggcaact cccaggaatc cgtgaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg 540
- [3833] tcctccaccc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa 600
- [3834] gtgaccacc agggcctgtc tagccccgtg accaagtctt tcaaccgggg cgagtgcact 660
- [3835] agtggcggcg gaggatctgg cggagggtga agtgggggag gcgcatctca tgtgcagctg 720
- [3836] gtggaaagcg gaggcggcct ggtgcagcct gggggatctc tgagactgtc ttgtgccgcc 780
- [3837] agcggcttct ccctgaccga ttatggcgtg cactgggtgc gacaggcccc tggcaaagga 840
- [3838] ctggaatggc tgggagtgat ttggagtggc ggaggcaccg cctacaacac cgccctgatc 900
- [3839] tcccggttca ccatcagccg ggacaactcc aagaacaccc tgtacctgca gatgaactcc 960
- [3840] ctgcgggccc aggacaccgc tgtgtactac tgcgccagac ggggctccta cccctacaac 1020
- [3841] tacttcgacg cttggggctg cggcacctc gtgacagtgt ctagcggagg gggaggttct 1080
- [3842] gggggcggag gttcagggtg ttgtggttcc gggggtggtg gctctggtgg cggtggttct 1140
- [3843] ggcggtggcg gatctcaggc tgctgtgacc caggaaacca gcctgactgt gtctcctggc 1200
- [3844] ggaaccgtga ccctgacctg cggatcttct accggcgtg tgaccgccag caactacgcc 1260
- [3845] aattgggtgc agcagaaacc tggacagtgc cctagaggcc tgatcggcgg ccacaacaac 1320
- [3846] agacctccag gcgtgccagc ccggttctct ggatctctgc tgggcggaaa ggccgctctg 1380
- [3847] aactgtctgg gtgctcagcc tgaggacgag gccgagtact actgtgccct gtggtactcc 1440
- [3848] gaccactggg tcatcggagg cgggaccaag ctgaccgtgc tgggatagt 1489
- [3849] <210> 109
- [3850] <211> 5
- [3851] <212> PRT
- [3852] <213> 人工序列
- [3853] <220>
- [3854] <223> 人工序列的描述:合成肽
- [3855] <400> 109
- [3856] Gly Gly Gly Gly Ser
- [3857] 1 5
- [3858] <210> 110
- [3859] <211> 75
- [3860] <212> PRT
- [3861] <213> 人工序列
- [3862] <220>
- [3863] <223> 人工序列的描述:合成多肽

- [3864] <220>
- [3865] <221> 尚未归类的特征
- [3866] <222> (1) .. (75)
- [3867] <223> 此序列可涵盖1-15个 "Gly Gly Gly Gly Ser"重复单元
- [3868] <400> 110
- [3869] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
- [3870] 1 5 10 15
- [3871] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
- [3872] 20 25 30
- [3873] Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
- [3874] 35 40 45
- [3875] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
- [3876] 50 55 60
- [3877] Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
- [3878] 65 70 75
- [3879] <210> 111
- [3880] <211> 6
- [3881] <212> PRT
- [3882] <213> 人工序列
- [3883] <220>
- [3884] <223> 人工序列的描述:合成6个组氨酸的标签
- [3885] <400> 111
- [3886] His His His His His His
- [3887] 1 5
- [3888] <210> 112
- [3889] <211> 15
- [3890] <212> PRT
- [3891] <213> 人工序列
- [3892] <220>
- [3893] <223> 人工序列的描述:合成多肽
- [3894] <400> 112
- [3895] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
- [3896] 1 5 10 15

肿瘤类型	细胞系	RSV	聚Sia
神经母细胞瘤	IMR32	5	3993
神经母细胞瘤	BE(1)N	5	2550
神经母细胞瘤	NGP	5	1585
小细胞肺癌	HTB-180 NCI-H345	5	1116
神经母细胞瘤	BE(2)C	5	1067
神经母细胞瘤	BE(2)N	6	1035
小细胞肺癌	NCI H847	5	996
神经母细胞瘤	LS	5	958
神经母细胞瘤	LAN-5	5	879
小细胞肺癌	NCI-N417	5	822
急性骨髓性白血病	M-07E	5	781
神经母细胞瘤	BE(2)M17	5	770
神经母细胞瘤	BE(2)S	6	651
急性骨髓性白血病	MOLM-13	5	644
神经母细胞瘤	66N	5	609
神经母细胞瘤	NB1691	5	449
黑色素瘤	M14 LUC	5	429
小细胞肺癌	NCI-H524	5	408
小细胞肺癌	DMS 79	5	387
神经母细胞瘤	NB5	5	348
神经母细胞瘤	LAN-6	5	339
软骨肉瘤	CH2879	5	314
神经母细胞瘤	6S	5	292
神经母细胞瘤	LAN-1	5	289
急性骨髓性白血病	EOL-1	6	275
小细胞肺癌	NCI-H2106	5	262
小细胞肺癌	NCI N417	5	244
双表型B髓性单核细胞白血病	MV-4-11	5	228
小细胞肺癌	NCI-H128	6	221
小细胞肺癌	NCI-H847	5	151
乳腺癌	JMT-1	5	132
骨肉瘤	CRL-1427 LUC GFP	5	130
骨肉瘤	143B	5	129
间皮瘤	MESC 10	6	89
小细胞肺癌	NCI H524	5	68
神经母细胞瘤	KCN-R LUC	5	63
小细胞肺癌	DMS 454	5	52
恶性黑色素瘤	CRL-1424 G-361	5	46
恶性黑色素瘤	G-361	5	42
T细胞白血病	CML-T1	5	40
小细胞肺癌	NCI-H146	5	38
小细胞肺癌	NCI-H526	5	34
非小细胞肺癌	LX22 CLWT	5	33

图1(A)

肿瘤类型	细胞系	RSV	聚Sia
胰腺	CRL-2172 SW 1990	5	33
(EBV)- 转化的B淋巴母细胞样细胞系	IM-9	10	30
(EBV)- 转化的B淋巴母细胞样细胞系	COG-V-486 BLCL	6	30
慢性骨髓性白血病	K562 A2	5	26
急性淋巴性白血病	MOLT-4	5	24
鼻咽癌	C 666-1	5	24
小细胞肺癌	NCI H1963	5	20

图1(B)

#	SCLC PDX	聚Sia染色 (IHC)
1	LX110	2-3
2	LX102	2
3	LX33B	3
4	Lu148	3-4
5	LX44	3
6	LX92	3
7	LX48	2
8	Lu73	2-3
9	Lu149	2-3
10	LX101	3-4
11	LX47	3-4
12	LX108	3-4
13	LX22	0
14	LX88	3

图2

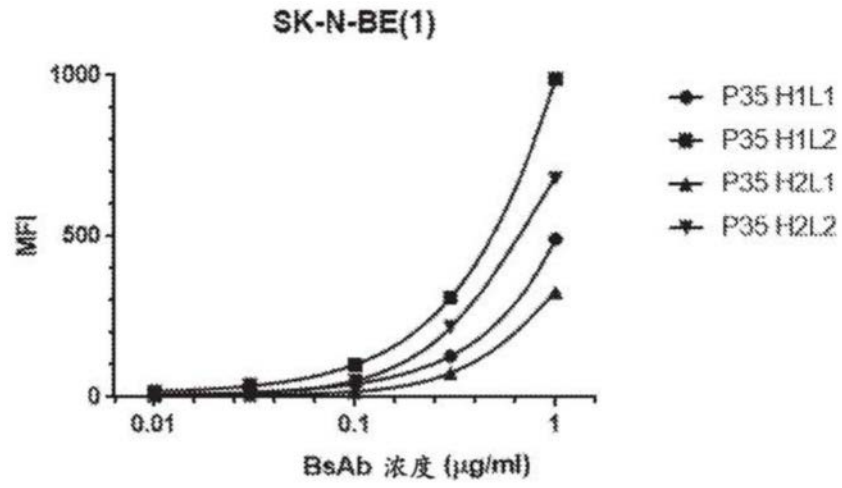


图3

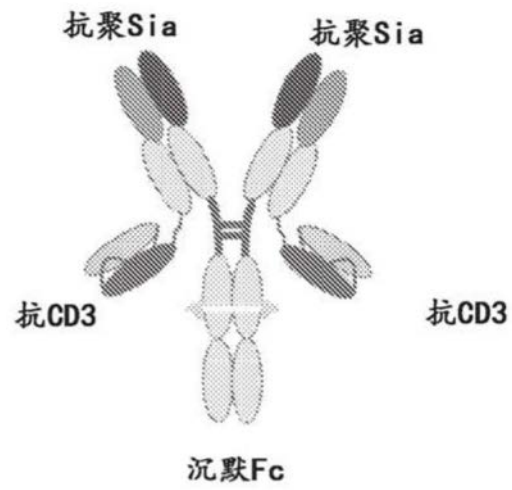


图4(A)

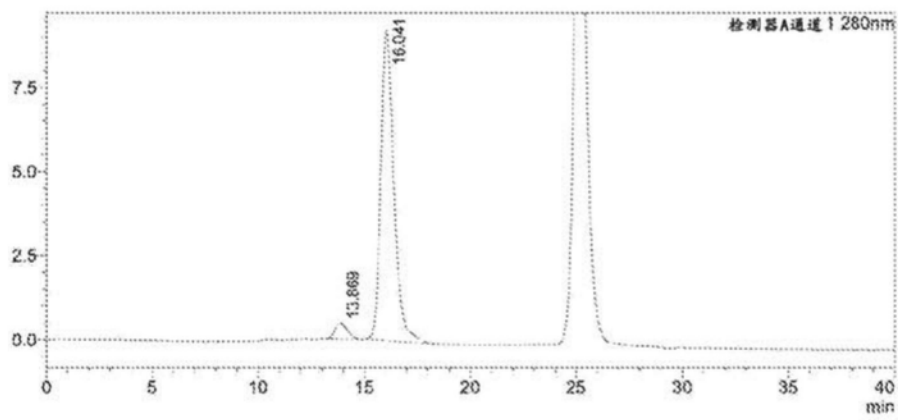


图4(B)

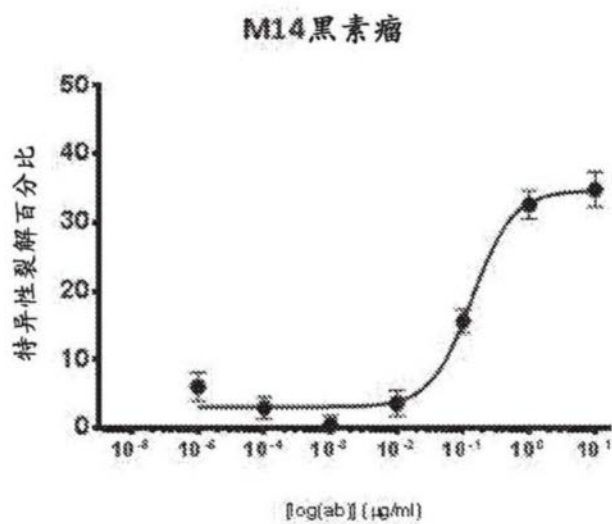


图5(A)

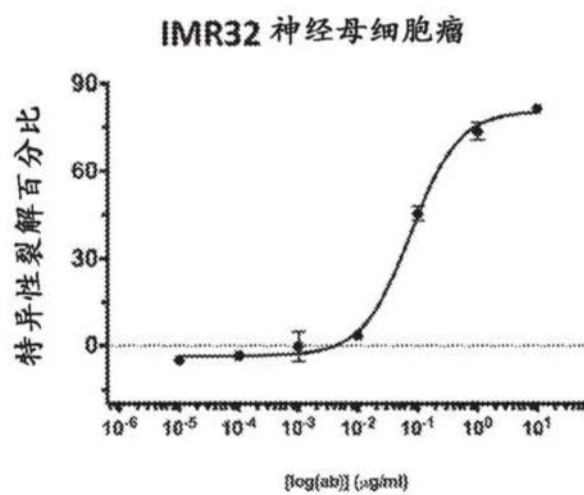


图5(B)

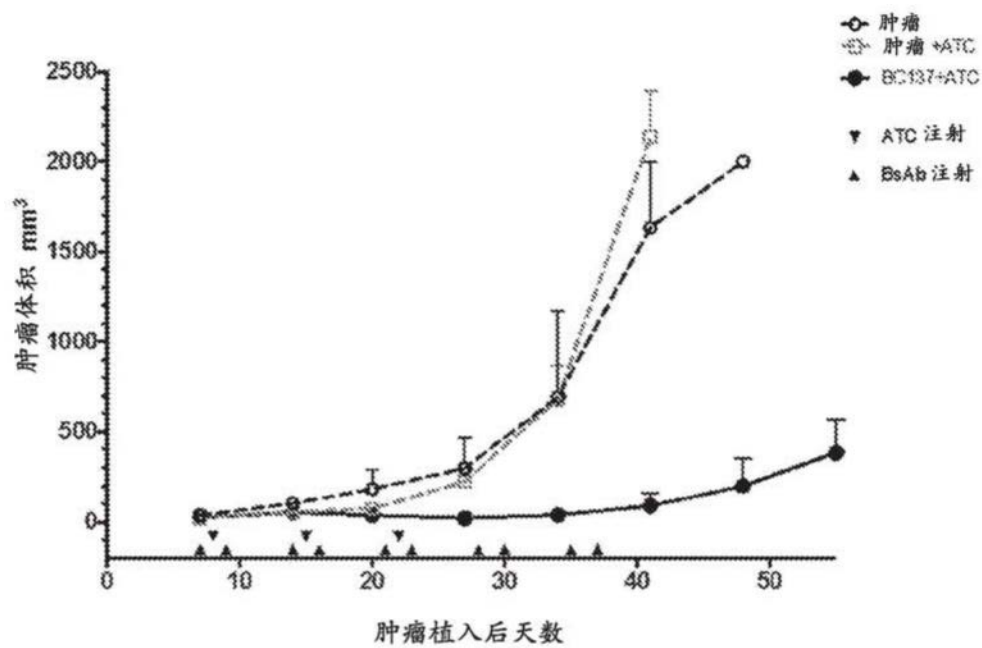


图6

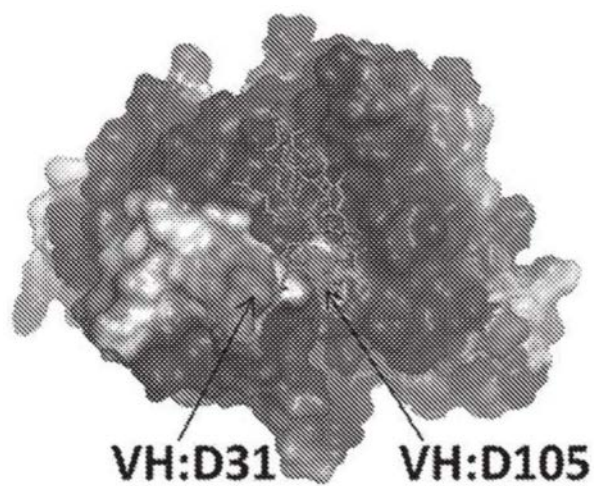


图7(A)

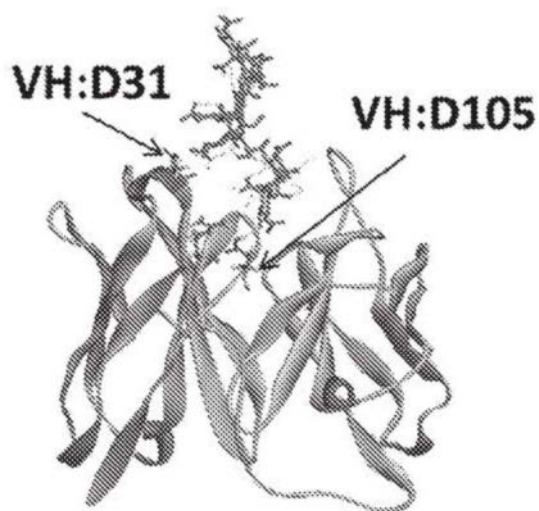


图7(B)

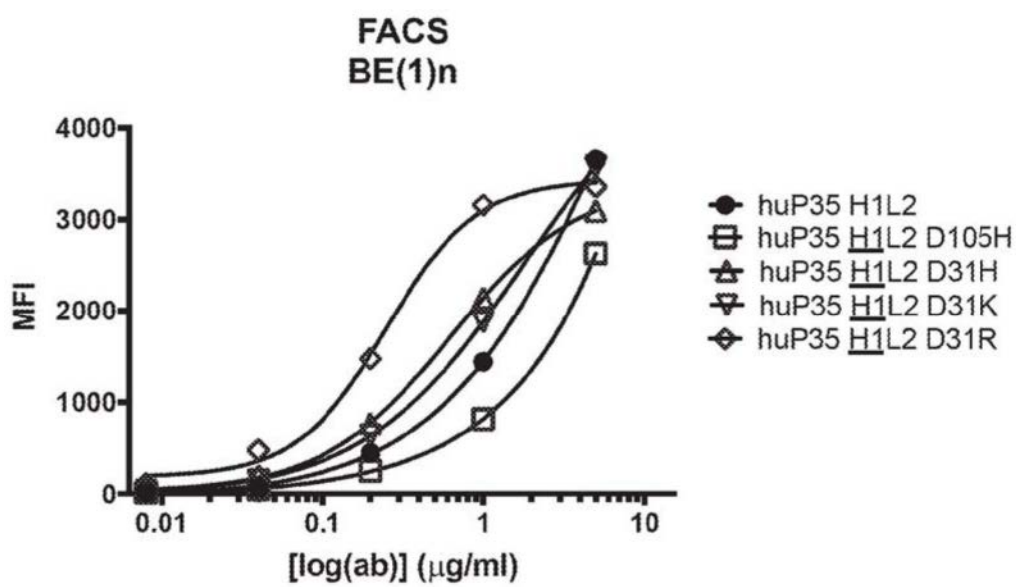


图7(C)

样品	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
DS54	2.43E+06	2.29E-03	9.42E-10
DS45	1.35E+06	1.49E-03	1.10E-09
DS47	4.82E+05	5.98E-04	1.24E-09
P35 H1L2 D31R	2.11E+08	5.05E-01	2.39E-09
DS55	6.09E+05	1.55E-03	2.55E-09
DS53	3.44E+05	9.47E-04	2.75E-09
P35 H1L2 (亲本)	8.65E+05	3.91E-03	4.52E-09
DS51	4.09E+05	2.15E-03	5.26E-09

图8(A)

克隆 (直接筛选)	HC										LC									
	12	19	28	31	36	38	50	63	92	115	9	24	53	54	64	65	75	99	105	
	V	K	T	D	W	K	W	K	A	V	L	R	I	Y	P	D	D	V	Q	
DS45				G			S													
DS47				N		M	R													
DS51				G			C													
DS53						M	R													
DS54				N			R													
DS55				N			C													
D31R				R																

图8(B)

样品	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
KS34	1.56E+06	2.42E-03	1.55E-09
P35 H1L2 D31R	2.11E+08	5.05E-01	2.39E-09
KS10	2.53E+05	7.26E-04	2.87E-09
KS2	2.08E+05	6.27E-04	3.02E-09
KS21	2.89E+05	8.74E-04	3.03E-09
KS26	2.25E+05	7.93E-04	3.52E-09
KS30	4.53E+05	1.71E-03	3.77E-09
KS23	1.90E+05	7.96E-04	4.18E-09
P35 H1L2 (亲本)	8.65E+05	3.91E-03	4.52E-09

图9(A)

克隆(动力学筛选)	HC										LC											
	26	36	50	65	76	80	91	19	29	34	35	47	62	65	67	81	85	86	90	99	102	
	G	W	W	K	A	Y	T	A	L	G	N	Q	G	D	F	S	A	E	V	V	T	
KS2				E		H								C			T				I	
KS10			C										C									
KS21		C									K		C									
KS23	A													C								
KS26												K						K				
KS30								V						C						E		
KS34					V		N							C	Y							

图9(B)

神经母细胞瘤IMR-32

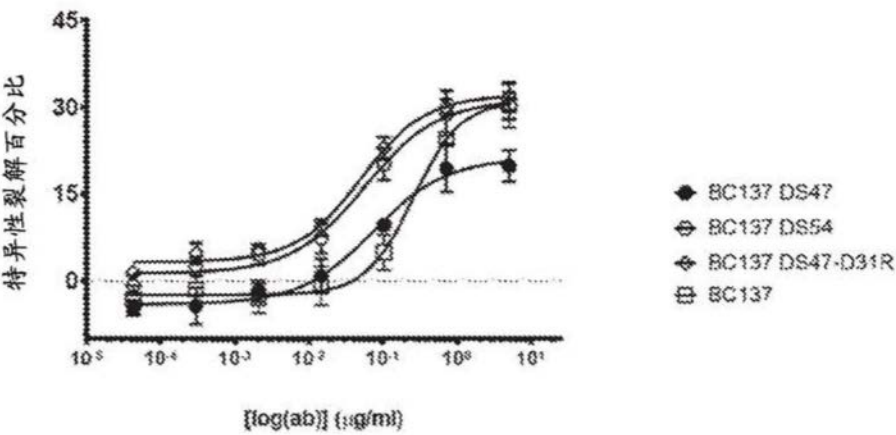


图10(A)

EC50 (μg/ml)	M14 LUC	IMR-32	SKNSH
BC137 KS2	0.58		
BC137 KS34	0.18		
BC137 DS47	0.02	0.07	0.04
BC137 DS54	0.05	0.06	0.08
BC137 DS47 D31R	0.06	0.05	0.09
BC137 DS54 D31R	0.12		
WT	0.45	0.26	~0.4

图10(B)

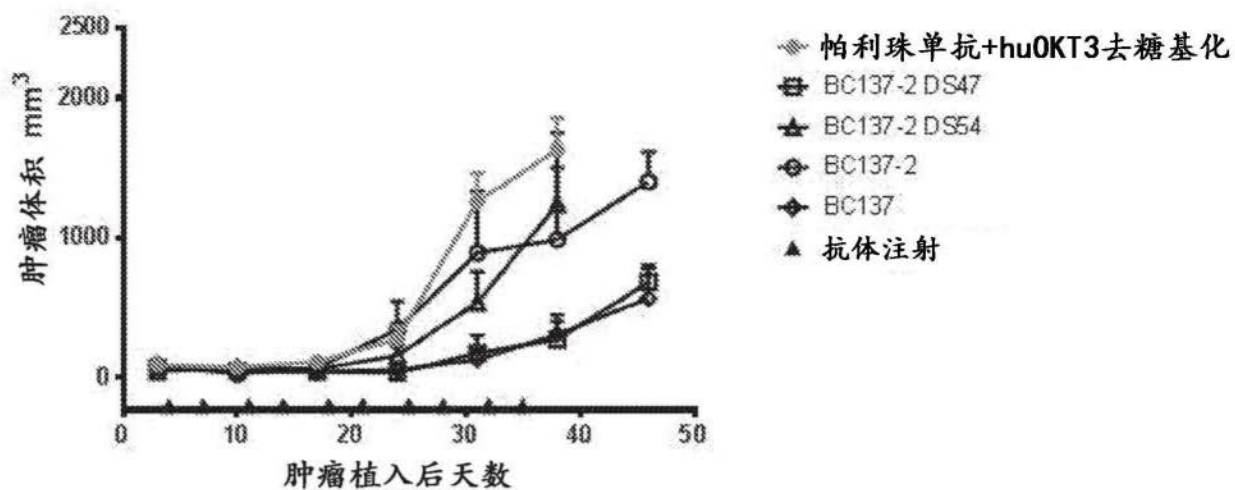


图11

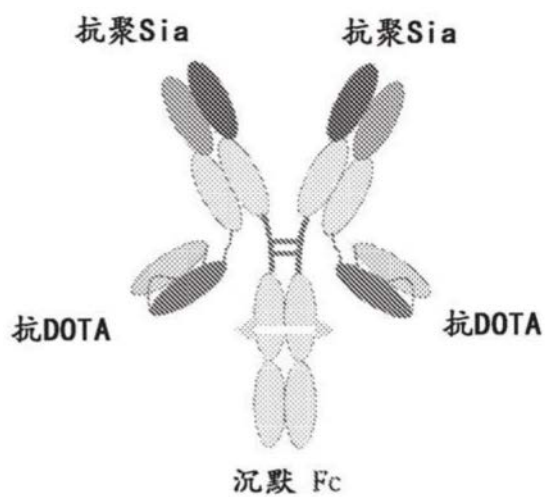


图12

无治疗

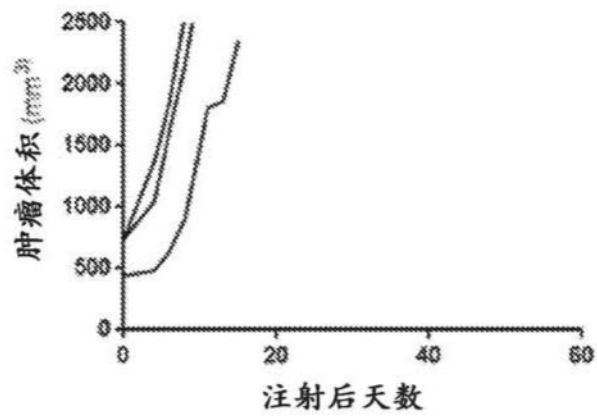


图13(A)

仅Lu177-DOTA-Bn

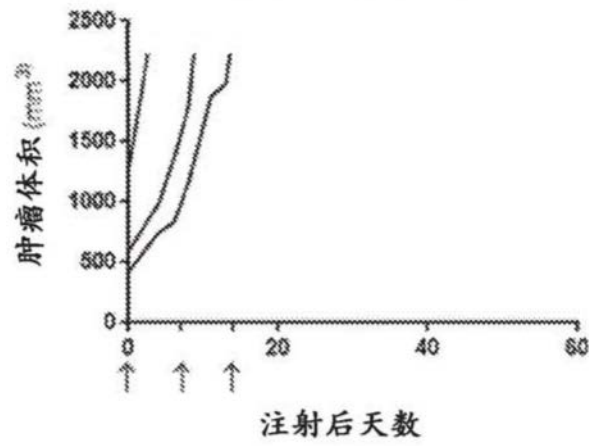


图13(B)

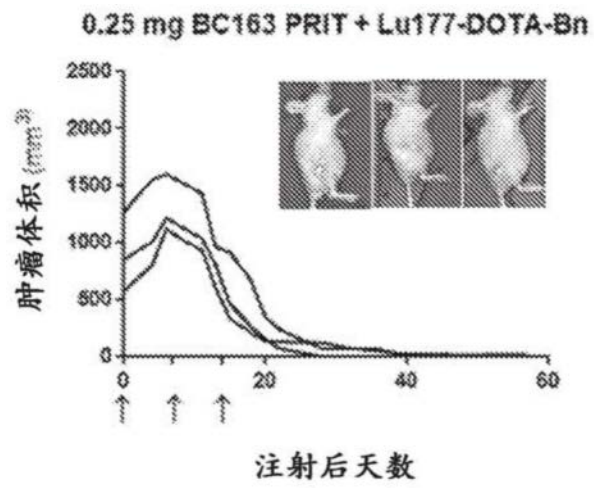


图13(C)

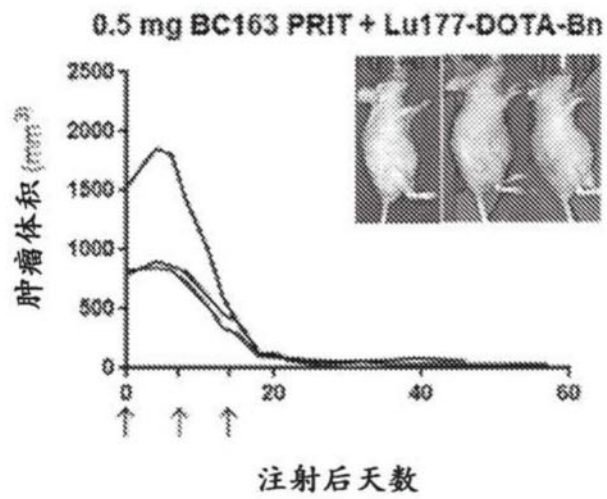


图13(D)

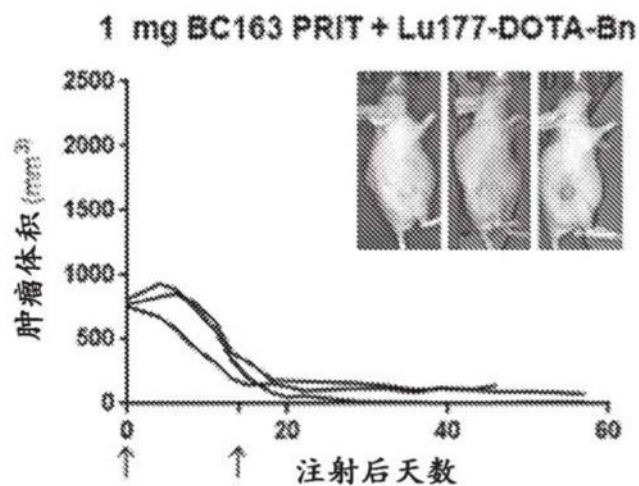


图13(E)

克隆	VH中人种系含量百分比
m735 VH	69.4
P35 H1	75.5
P35 H2	80.6
HP35 H1	86.7
HP35 H2	87.8
HP35 H3	86.7
HP35 H4	87.8
HP35 H5	86.7
HP35 H6	86.7
HP35 H7	86.7
HP35 H8	86.7

图14(A)

克隆	VL中人种系含量百分比
m735 VL	83.0
P35 L1	86.0
P35 L2	88.0
HP35 L1	92.0
HP35 L2	92.0
HP35 L3	92.0

图14(B)

嵌合 P35**重链 (SEQ ID NO: 23)**

QIQLQQSGPELVPRGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPGEGLWIGWIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGGKFAMDYWGQGTSTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图15(A)

嵌合 P35**重链 (SEQ ID NO: 24)**

DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFS
GVPPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCFQGTHVPYTFGGGTRLEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15(B)

人源化 P35 H1 重链

氨基酸: (SEQ ID NO: 25)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

核苷酸: (SEQ ID NO: 92)

CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTGAAGA
TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTACCCGACTACTACATCCACTGGGTCAAGCAG
CGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTGGATCTATCCCGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGCCTCCAC
CGCCTACATGGAAGTGTCTCTCCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTAG
CGTTCTACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT
GTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCCGTCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAG
AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCAACCGTGCCAGCACCTGAA
CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGAT
CTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG
GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC
GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA
GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCC
CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGG
TCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA
GAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT
AAATGA

图16(A)

人源化 P35 H2 重链**氨基酸:** (SEQ ID NO: 26)

QIQLVQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGRATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

核苷酸: (SEQ ID NO: 93)

CAGATCCAGCTGGTGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTGAAGA
TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTACCCGACTACTACATCCACTGGGTGCGACAG
GCCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTGGATCTACCCTGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGCCTCCAC
CGCTACATGGAAGTGTCTCCTCGCGAGCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTAG
CGTTCTACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT
GTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCCGTCTCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAG
AGTTGAGCCCAAATCTTGAGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAA
CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGAT
CTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG
GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC
GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTGCTGCACCA
GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCC
CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGG
TCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA
GAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT
AAATGA

图16(B)

人源化 P35 L1 重链**氨基酸:** (SEQ ID NO: 27)

DVVMTQSPLSLPVTLGDAQASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFS
GVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGGGTRLEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC

核苷酸: (SEQ ID NO: 94)

GACGTCGTGATGACACAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGCGATCAGGCCTC
CATCTCCTGCAGATCCTCCAGTCCCTGGTGCCTCAACGGCAACACCTACCTGTACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCAAGCCCCTGATCTACAGAGTGTTCAACCG
GTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCTGA
AGATCTCCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTTCTGTTTTCAAGGCACCCA
CGTGCCCTACACCTTCGGCGGAGGCACCCGGCTGGAAATCAAGAGAACCGTGGCCGCT
CCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGT
CGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACA
GCACCTACTCCCTGTCTCCACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA
GGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTC
AACCGGGGCGAGTGCTAG

图17(A)

人源化 P35 L2 轻链**氨基酸:** (SEQ ID NO: 28)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGGGTRLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT
LSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC

核苷酸: (SEQ ID NO: 95)

GACGTCGTGATGACACAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCCTC
CATCTCCTGCAGATCCTCCAGTCCCTGGTGCCTCAACGGCAACACCTACCTGTACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCAAGCCCCTGATCTACAGAGTGTTCAACCG
GTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCTGA
AGATCTCCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTTCTGTTTTCAAGGCACCCA
CGTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCCGGCTGGAAATCAAGAGAACCGTGGCCGCT
CCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGT
CGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACA
GCACCTACTCCCTGTCTCCACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA
GGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTC
AACCGGGGCGAGTGCTAG

图17(B)

人源化 P35 H1L2 IgG1**重链 (SEQ ID NO: 25)**

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSED~~TAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS~~
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图18(A)

人源化 P35 H1L2 IgG1**轻链 (SEQ ID NO: 28)**

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGHV~~PYTFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPP~~
SDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图18(B)

带有D31R突变的人源化P35 H1重链 (SEQ ID NO: 29)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFT~~RY~~YYIHVVKQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSED~~TAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS~~
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图19

直接筛选克隆45 (DS45) VH (SEQ ID NO: 30)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYYIHVVKQRPGQGLEWIGSIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSED~~TAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSS~~

图20

直接筛选克隆47 (DS47) VH (SEQ ID NO: 31)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTNYYYIHWVKQRPQGQGLEWIGRIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA
VYFCARGGKFAMDYWGQGTLVTVSS

图21

直接筛选克隆51 (DS51) VH (SEQ ID NO: 32)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYYYIHWVKQRPQGQGLEWIGCIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA
VYFCARGGKFAMDYWGQGTLVTVSS

图22

直接筛选克隆53 (DS53) VH (SEQ ID NO: 33)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVKQRPQGQGLEWIGRIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA
VYFCARGGKFAMDYWGQGTLVTVSS

图23

直接筛选克隆54 (DS54) VH (SEQ ID NO: 34)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTNYYYIHWVKQRPQGQGLEWIGRIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA
VYFCARGGKFAMDYWGQGTLVTVSS

图24

直接筛选克隆55 (DS55) VH (SEQ ID NO: 35)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTNYYYIHWVKQRPQGQGLEWIGCIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA
VYFCARGGKFAMDYWGQGTLVTVSS

图25

动力学筛选克隆2 (KS2) VH (SEQ ID NO: 36)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVKQRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFEGKATLTVDTSASTAHMELSSLTSEDTA
VYFCARGGKFAMDYWGQGTLVTVSS

图26(A)

动力学筛选克隆2 (KS2) VL (SEQ ID NO: 37)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPCRFSGSGSGTDFTLKISRVE^{TED}VG^{VYFC}FQGTHVPYIFGQGTRLEIKR

图26(B)

动力学筛选克隆 10 (KS10) VH (SEQ ID NO: 38)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIH^{WVK}QRPQGQGLEWIG^{CIY}PGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTAVYFCARGGKFAM^{DY}WGQGT^{LV}TVSS

图27(A)

动力学筛选克隆 10 (KS10) VL (SEQ ID NO: 39)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSC
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG^{VYFC}FQGTHVPYTFGQGTRLEIKR

图27(B)

动力学筛选克隆 21 (KS21) VH (SEQ ID NO: 40)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIH^{CVK}QRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTAVYFCARGGKFAM^{DY}WGQGT^{LV}TVSS

图28(A)

动力学筛选克隆 21 (KS21) VL (SEQ ID NO: 41)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNG^{KTY}LYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSC
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG^{VYFC}FQGTHVPYTFGQGTRLEIKR

图28(B)

动力学筛选克隆 23 (KS23) VH (SEQ ID NO: 42)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASAYTFTDYYIH^{WVK}QRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTAVYFCARGGKFAM^{DY}WGQGT^{LV}TVSS

图29(A)

动力学筛选克隆 23 (KS23) VL (SEQ ID NO: 43)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPCRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGTRLEIKR

图29(B)

动力学筛选克隆 26 (KS26) VL (SEQ ID NO: 44)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGKSPKPLIYRVSNRFSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAKDVG VYFCFQGTHVPYTFGQGTRLEIKR

图30

动力学筛选克隆 30 (KS30) VL (SEQ ID NO: 45)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPVISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPCRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHEPYTFGQGTRLEIKR

图31

动力学筛选克隆 34 (KS34) VH (SEQ ID NO: 46)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSVSTAYMELSSLTSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGTLLTVSS

图32(A)

动力学筛选克隆 (KS34) VL (SEQ ID NO: 47)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPCRYSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGTRLEIKR

图32(B)

BC137 (聚Sia x CD3 BsAb) 重链

氨基酸: (SEQ ID NO: 48)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图33(A)

BC137 (聚Sia x CD3 BsAb) 重链

核苷酸: (SEQ ID NO: 96)

CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTGAAGA
TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCGACTACTACATCCACTGGGTCAAGCAG
CGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTGGATCTATCCCGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGCCTCCAC
CGCTACATGGAAGTGTCTCCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTAG
CGTTCTACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTTCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTG
GTGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGT
GTCCTGGAAGTCTGGCGCTCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGT
CTAGCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTCGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACC
CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAATACCAAGGTGGACAAGCGGG
TGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCCTGAAGT
CTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTC
CCGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTG
AAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGA
GAGGAACAGTACGCCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGG
ACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCC
CATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGTACAC
ACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTG
AAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA
ACAATAACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAA
ATGA

图33(B)

BC137 (聚Sia x CD3 BsAb) 轻链 - 人源化 P35 L2 - 接头 - huOKT3scFv
氨基酸: (SEQ ID NO: 49)

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGHVPTFGQGRTRLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECTSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSG
GGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKCLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDR
FTISRDNSKNTAFLQMDSLRLPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGTPTVTVSSGGGGSGGG
GGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQT
PGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCQQWSSNPFTFGCG
TKLQITR

图33C

BC137 (聚Sia x CD3 BsAb) 轻链 - 人源化 P35 L2 - 接头 - huOKT3scFv
核苷酸: (SEQ ID NO: 97)

GACGTCGTGATGACACAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCCTC
CATCTCCTGCAGATCCTCCAGTCCCTGGTGCCTCAACGGCAACACCTACCTGTACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCAAGCCCTGATCTACAGAGTGTTCAACCG
GTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGA
AGATCTCCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATTCTGTTTTCAAGGCACCCA
CGTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCCGGCTGGAAATCAAGAGAACCGTGGCCGCT
CCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGT
CGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACA
GCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA
GGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTC
AACCGGGGCGAGTGCACTAGTGGCGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG
GGAGGATCTCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGA
TCCCTGAGACTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCACTG
GGTGCGACAGGCCCTGGCAAGTGCCTGGAATGGATCGGCTACATCAACCCCTCCCGG
GGCTACACCAACTACAACCAGAAGTTCAAGGACCGGTTACCATCTCCCGGGACAACCT
CCAAGAACACCGCCTTTCTGCAGATGGACTCCCTGCGGCCTGAGGATACCGGCGTGTA
CTTCTGCGCCCGGTACTACGACGACCACTACTCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGAACC
CCTGTGACAGTGTCATCTGGTGGCGGAGGAAGTGGGGGAGGCGGATCAGGTGGTGGTG
GATCAGGCGGGGGAGGTTCAAGGGGTGGCGGTTCTGGGGGAGGGGGCTCTGATATTCA
GATGACTCAGAGCCCTTCCAGCCTGAGCGCCTCCGTGGGAGATCGCGTGACAATTACC
TGCTCTGCCTCCTCCTCCGTGTCTTACATGAATTGGTATCAGCAGACCCCTGGGAAGGC
TCCTAAGCGGTGGATCTACGACACCTCCAAGCTGGCCTCTGGCGTGCCAGCAGGTTTT
CTGGCTCCGGCAGCGGCACAGATTACCTTCACCATCAGCTCCCTGCAGCCAGAAGA
TATCGCTACCTATTATTGTCAGCAGTGGTCTCTCAACCCCTTCACCTTCGGCTGCGGCA
CAAAGCTGCAGATCACAAGATAG

图33D

BC137-2 轻链

氨基酸: (SEQ ID NO: 50)

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHTVPTFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECTSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSG
GGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDR
FTISRDNSKNTAFLQMDSLRLPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGTPTVTVSSGGGGSGGG
SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQT
PGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYCYCQWSSNPFTFGQG
TKLQITR

图34A

BC137-2 轻链

核苷酸: (SEQ ID NO: 98)

GACGTCGTGATGACACAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCCTC
CATCTCCTGCAGATCCTCCAGTCCCTGGTGCCTCCAACGGCAACACCTACCTGTACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAAGCCCTGATCTACAGAGTGTCCAACCG
GTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGA
AGATCTCCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTTCTGTTTTCAAGGCACCCA
CGTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCCGGCTGGAAATCAAGAGAACCGTGGCCGCT
CCCTCCGTGTTTATCTTCCACCTTCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGT
CGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACA
GCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA
GGTGTAAGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTC
AACCAGGGCGAGTGCACTAGTGGCGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGGGGA
GGCGGATCTCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGTGGTGGCGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGAT
CCCTGAGACTGTCTTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCACTG
GGTGCGACAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCAACCCCTCCCGG
GGCTACACCAACTACAACCAGAAGTTCAAGGACCGGTTACCATCAGCCGGGACAACCT
CCAAGAACACCGCCTTTCTGCAGATGGACTCCCTGCGGCCTGAGGATACCGGCGTGTA
CTTTTGCGCCCGGTACTACGACGACCACTACAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGAACC
CCTGTGACAGTGTCTAGCGGAGGGGGAGGTTCAAGTGGCGGTGGATCAGGGGGCGGA
GGAAGTGGCGGGGGAGGTAGTGGTGGTGGTGAAGCGGAGGTGGCGGCTCCGATATC
CAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGAGACAGAGTGACAATTA
CATGCTCCGCCAGCTCCAGCGTGTCTACATGAATTGGTATCAGCAGACCCCTGGCAA
GGCTCCCAAGCGGTGGATCTACGACACCTCCAAGCTGGCCTCCGGCGTGCCCTCCAGA
TTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACAGACTATACCTTTACAATCAGCTCCCTGCAGCCGA
AGATATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTGGTCCTCCAACCCCTTCACCTTCGGCCAGG
GCACAAAGCTGCAGATCACCAGATAGTCTAGA

图34B

BC137 KS2 重链

氨基酸: (SEQ ID NO: 51)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFEGKATLTVDTASTAHMELSSLTSEDYAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图35A

BC137 KS2 重链

核苷酸: (SEQ ID NO: 99)

CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTGAAGA
TCTCCTGCAAGGCTCCGGCTACACCTTACCGACTACTACATCCACTGGGTCAAGCAG
CGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTGGATCTATCCCGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCGAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGCCTCCAC
CGCCACATGGAAGTGTCTCCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTAG
CGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT
GTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCCGTCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAATACCAAGGTGGACAAGCGG
GTGGAACCCAAGTCTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCTGAAGT
GCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCT
CCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGT
GAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGACACAACGCCAAGACCAAGCCTAG
AGAGGAACAGTACGCCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG
GACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
CCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAAGGTGTACAC
ACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTG
AAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA
ACAATAACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTATTCTTCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAA
ATGA

图35B

BC137 KS2 轻链

氨基酸: (SEQ ID NO: 52)

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPCRFSGSGSGTDFTLKISRVEDVGVYFCFQGTHVPYIFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECTSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSG
GGVVQPGRLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKCLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDR
FTISRDNSKNTAFLQMDSLRLPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGTPTVSSGGGGSGGG
SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQT
PGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFITISLQPEDATYCYCQWSSNPFTFGCG
TKLQITR

图35C

BC137 KS2 轻链

核苷酸: (SEQ ID NO: 100)

GACGTCGTGATGACACAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCCTC
CATCTCCTGCAGATCCTCCAGTCCCTGGTGCCTCCAACGGCAACACCTACCTGTACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCAAGCCCTGATCTACAGAGTGTCCAACCG
GTTCTCCGGCGTGCCCTGCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGA
AGATCTCCCGGGTGGAACCGAGGACGTGGGCGTGTACTTCTGTTTTCAAGGCACCCA
CGTGCCCTACATCTTCGGCCAGGGCACCCGGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCT
CCCTCCGTGTTTATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGT
CGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACA
GCACCTACTCCCTGTCTCCACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA
GGTGTAAGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTC
AACCGGGGCGAGTGCACTAGTGGCGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG
GGAGGATCTCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGA
TCCCTGAGACTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCACTG
GGTGCGACAGGCCCTGGCAAGTGCCTGGAATGGATCGGCTACATCAACCCCTCCCGG
GGCTACACCAACTACAACCAGAAGTTCAAGGACCGGTTACCATCTCCCGGGACAACCT
CCAAGAACACCGCCTTTCTGCAGATGGACTCCCTGCGGCCTGAGGATACCGGCGTGTA
CTTCTGCGCCCGGTACTACGACGACCACTACTCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGAACC
CCTGTGACAGTGTCTGCTGGTGGCGGAGGAAGTGGGGGAGGCGGATCAGGTGGTGGTG
GATCAGGCGGGGGAGGTTAGGGGGTGGCGGTTCTGGGGGAGGGGGCTCTGATATTCA
GATGACTCAGAGCCCTTCCAGCCTGAGCGCCTCCGTGGGAGATCGCGTGACAATTACC
TGCTCTGCCTCCTCCTCCGTGTCTTACATGAATTGGTATCAGCAGACCCCTGGGAAGGC
TCCTAAGCGGTGGATCTACGACACCTCCAAGCTGGCCTCTGGCGTGCCCAGCAGGTTTT
CTGGCTCCGGCAGCGGCACAGATTATACCTTCACCATCAGCTCCCTGCAGCCAGAAGA
TATCGCTACCTATTATTGTCAGCAGTGGTCTCCAACCCTTTCACCTTCGGCTGCGGCA
CAAAGCTGCAGATCACAAGATAG

图35D

BC137 KS34 重链

氨基酸: (SEQ ID NO: 53)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSTVSTAYMELSSLTSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图36A

BC137 KS34 重链

核苷酸: (SEQ ID NO: 101)

CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTGAAGA
TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCGACTACTACATCCACTGGGTCAAGCAG
CGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTGGATCTATCCCGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGTCTCCAC
CGCTACATGGAAGTGTCTCCCTGACCTCCGAGGATAACGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTAG
CGCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT
GTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCCGTCTCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAATACCAAGGTGGACAAGCGG
GTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCTGAACT
GCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCCAAGGCCAAGGACACCCTGATGATCT
CCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGT
GAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGACACAACGCCAAGACCAAGCCTAG
AGAGGAACAGTACGCCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG
GACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
CCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGTACAC
ACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTG
AAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA
ACAATAACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGTCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAA
ATGA

图36B

BC137 KS34 轻链

氨基酸: (SEQ ID NO: 54)

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPCRYSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYFCFQGTHTVPTFGQGRLEIKRTVAAPS VFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECTSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQS
GGGVVQPGRLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKCLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKD
RFTISRDN SKNTAFLQMDSLRPEDTG VYFCARYYDDHYS LDYWGQGTPTVTVSSGGGGSGG
GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQ
TPGKAPKRWIYDTSK LASGVPSRFSGSGSGTDYTFITISSLQPEDIATYYCQQWSSNPFTFGC
GTKLQITR

图36C

BC137 KS34 轻链

核苷酸: (SEQ ID NO: 102)

GACGTCGTGATGACACAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCCTC
CATCTCCTGCAGATCCTCCAGTCCCTGGTGCCTCCAACGGCAACACCTACCTGTACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAAGCCCTGATCTACAGAGTGTCCAACCG
GTTCTCCGGCGTGCCCTGCAGATACTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGA
AGATCTCCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTTCTGTTTTCAAGGCACCCA
CGTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCCGGCTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCT
CCCTCCGTGTTTATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGT
CGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACA
GCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA
GGTGTAAGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTC
AACCGGGGCGAGTGCCTAGTGCGCGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG
GGAGGATCTCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGA
TCCCTGAGACTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCACTG
GGTGCGACAGGCCCTGGCAAGTGCCTGGAATGGATCGGCTACATCAACCCCTCCCGG
GGCTACACCAACTACAACCAGAAGTTCAAGGACCGGTTACCATCTCCCGGGACAAC
CCAAGAACACCGCCTTTCTGCAGATGGACTCCCTGCGGCCTGAGGATACCGGCGTGTA
CTTCTGCGCCCGGTACTACGACGACCACTACTCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGAACC
CCTGTGACAGTGTCTGCTGGTGGCGGAGGAAGTGGGGGAGGCGGATCAGGTGGTGGTG
GATCAGGCGGGGGAGGTTAGGGGGTGGCGGTTCTGGGGGAGGGGGCTCTGATATTCA
GATGACTCAGAGCCCTTCCAGCCTGAGCGCCTCCGTGGGAGATCGCGTGACAATTACC
TGCTCTGCCTCCTCCTCCGTGTCTTACATGAATTGGTATCAGCAGACCCCTGGGAAGGC
TCCTAAGCGGTGGATCTACGACACCTCCAAGCTGGCCTCTGGCGTGCCCGAGCAGGTTTT
CTGGCTCCGGCAGCGGCACAGATTATACCTTCACCATCAGCTCCCTGCAGCCAGAAGA
TATCGCTACCTATTATTGTCAGCAGTGGTCTCCAACCCTTTCACCTTCGGCTGCGGCA
CAAAGCTGCAGATCACAAGATAG

图36D

BC137 DS47 重链

氨基酸: (SEQ ID NO: 55)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTNYYIHWMQRPQGQLEWIGRIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图37A

BC137 DS47 重链

核苷酸: (SEQ ID NO: 103)

CCGCCACCGGCCAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCG
CCTCCGTGAAGATCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCACTACTACATCCAC
TGGGTCATGCAGCGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCCGGATCTATCCCGGCT
CCGGCAACACCAAGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACA
CCTCTGCCTCCACCGCCTACATGGAAGTGTCTCCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTG
TACTTCTGTGCCAGAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCG
TGACCGTGTCTAGCGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCC
AAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG
AACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCC
GGCGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCA
GCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAATACCAA
GGTGGACAAGCGGGTGGAAACCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGT
CCTGCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGA
CACCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCAC
GAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCA
AGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACGCCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC
AGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCGCCGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAA
CCCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCC
TGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAAC
GGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCAT
TCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGAGGGCAACGTGTT
CTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCC
TGAGCCCCGGCAAATGA

图37B

BC137 DS54 重链

氨基酸: (SEQ ID NO: 56)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTNYYIHVVKQRPQGQGLEWIGRIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSEDTA VYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图38A

BC137 DS54 重链

核苷酸: (SEQ ID NO: 104)

CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTTAAGA
TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACTACTACATCCACTGGGTCAAGCAG
CGGCCAGGCCAAGGCCTGGAATGGATCGGCCGGATCTATCCCGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGCCTCCAC
CGCTACATGGAAGTGTCTCCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTAG
CGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT
GTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCCGTCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAATACCAAGGTGGACAAGCGG
GTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCTGAACT
GCTGGGCGGACCTTCCGTGTTTCTGTTCCCCCAAGGCCAAGGACACCCTGATGATCT
CCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGT
GAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAG
AGAGGAACAGTACGCCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG
GACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
CCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGTACAC
ACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTG
AAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA
ACA ACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAA
ATGA

图38B

BC137 DS47 D31R 重链

氨基酸:(SEQ ID NO: 57)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFT**RY**YIHWVMQRPQGQLEWIG**RI**YPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSED**TAV**YFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV**EP**KS**CD**K**TH**TCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEK**TISK**AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK**TT**PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图39A

BC137 DS47 D31R 重链

核苷酸:(SEQ ID NO: 105)

CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTGAAGA
TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCCGGTACTACATCCACTGGGTCATGCAG
CGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCCGGATCTATCCCGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGCCTCCAC
CGCTACATGGAAGTGTCTCCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTAG
CGCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT
GTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCCGTCTCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAATACCAAGGTGGACAAGCGG
GTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCCTGAAGT
GCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGGCCAAGGACACCCCTGATGATCT
CCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCCTGAAGT
GAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGACACAACGCCAAGACCAAGCCTAG
AGAGGAACAGTACGCCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG
GACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
CCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGTACAC
ACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTG
AAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA
ACAATAACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAA
ATGA

图39B

BC137 DS54 D31R 重链

氨基酸: (SEQ ID NO: 58)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTRYYYIHWVKQRPGQGLEWIGRIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图40A

BC137 DS54 D31R 重链

核苷酸: (SEQ ID NO: 106)

CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTTAAGA
TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCCGGTACTACATCCACTGGGTCAAGCAG
CGGCCAGGCCAAGGCCTGGAATGGATCGGCCGGATCTATCCCGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGCCTCCAC
CGCCTACATGGAAGTGTCTCCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTCGTGACCGTGTCTAG
CGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG
GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT
GTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCCGTCTCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCAC
CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAATACCAAGGTGGACAAGCGG
GTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCCTGAAGT
GCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCCTGTTCCCCCAAGGCCAAGGACACCCTGATGATCT
CCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGT
GAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAG
AGAGGAACAGTACGCCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAG
GACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC
CCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGTACAC
ACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTG
AAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA
ACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGTCTCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAA
ATGA

图40B

BC163 (聚Sia x DOTA bsAb)**重链****氨基酸:** (SEQ ID NO: 59)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSEDTAVYFCARGGKFAMDYWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图41A

BC163 (聚Sia x DOTA bsAb)**重链****核苷酸:** (SEQ ID NO: 107)

CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCCGAGGTCGTGAAGCCTGGCGCCTCCGTGAAGA
TCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCGACTACTACATCCACTGGGTCAAGCAG
CGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTGGATCTATCCCGGCTCCGGCAACACCA
AGTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCTCTGCCTCCAC
CGCTACATGGAAGTGTCTCCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGTACTTCTGTGCCA
GAGGCGGCAAGTTCGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCTCGTGACCGTGTCTAG
CGTTCTACCAAGGGCCCCTCTGTGTTTCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTG
GTGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGT
GTCCTGGAAGTCTGGCGCTCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGT
CTAGCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTCGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGCACC
CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAATACCAAGGTGGACAAGCGGG
TGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCTGAACTG
CTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTC
CCGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTG
AAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGA
GAGGAACAGTACGCCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGG
ACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCC
CATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCAGGTGTACAC
ACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTG
AAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA
ACAATAACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCCTTCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAA
ATGA

图41B

BC163 (聚Sia x DOTA bsAb)

轻链 - 人源化 P35 L2 - 接头 - huC825scFv

氨基酸: (SEQ ID NO: 60)

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKPLIYRVSNRFSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGHVPTFTFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECTSGGGGSGGGGSGGGGSHVQLVESG
GGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTDYGVHWVRQAPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRFT
ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGSYPYNYFDAWGCGLTVTVSSGGGSGGGG
SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTASNYANW
VQQKPGQCPRLIGGHNNRPPGVPARFSGSLLGKKAALTLLGAQPEDEAEYYCALWYSDH
WVIGGGTKLTVLG

图41C

BC163 (聚Sia x DOTA bsAb)

轻链 - 人源化 P35 L2 - 接头 - huC825scFv

核苷酸: (SEQ ID NO: 108)

GACGTCGTGATGACACAGTCCCCTCTGTCCCTGCCTGTGACCCTGGGACAGCCTGCCTC
CATCTCCTGCAGATCCTCCAGTCCCTGGTGCCTCCAACGGCAACACCTACCTGTACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCAAGCCCTGATCTACAGAGTGTCCAACCG
GTTCTCCGGCGTGCCCGACAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGA
AGATCTCCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTTCTGTTTTCAAGGCACCCA
CGTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCCGGCTGGAAATCAAGAGAACCGTGGCCGCT
CCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGT
CGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACA
GCACCTACTCCCTGTCTCCACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA
GGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTC
AACCGGGGCGAGTGCACTAGTGGCGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGGGGA
GGCGGATCTCATGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCCTGGTGCAGCCTGGGGGAT
CTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCTCCCTGACCGATTATGGCGTGCAGTGG
GTGCGACAGGCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGCTGGGAGTGATTTGGAGTGGCGGA
GGCACCGCCTACAACACCGCCCTGATCTCCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACCTCA
AGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCTGTGTACTA
CTGCGCCAGACGGGGCTCCTACCCCTACAATACTTCGACGCTTGGGGCTGCGGCACC
CTCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGGGGAGGTTCTGGGGGCGGAGGTTACAGGTGGTGGTG
GTTCCGGGGGTGGTGGCTCTGGTGGCGGTGGTCTGGCGGTGGCGGATCTCAGGCTGT
CGTGACCCAGGAACCCAGCCTGACTGTGTCTCCTGGCGGAACCGTGACCCCTGACCTGC
GGATCTTCTACCGGCGCTGTGACCGCCAGCAACTACGCCAATTGGGTGCAGCAGAAAC
CTGGACAGTGCCCTAGAGGCCTGATCGGCGGCCACAACAACAGACCTCCAGGCGTGCC
AGCCCGGTTCTCTGGATCTCTGCTGGGCGGAAAGGCCGCTCTGACACTGCTGGGTGCTC
AGCCTGAGGACGAGGCCGAGTACTACTGTGCCCTGTGGTACTCCGACCACTGGGTTCAT
CGGAGGCGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGATAGT

图41D

直接筛选45 (DS45) ScFv (SEQ ID NO: 61)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYYYIHWVKQRPQGQGLEWIGSIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA VYFCARGGKFAMDYWGQGT LVTVSSGG
GSGGGGSGGGGSDVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSP
KPLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGT RLEI
KR

图42

直接筛选47 (DS47) ScFv (SEQ ID NO: 62)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTNYYIHWVMQRPQGQGLEWIGRIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA VYFCARGGKFAMDYWGQGT LVTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSDVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQ
SPKPLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGT RLEI
EIKR

图43

直接筛选51 (DS51) ScFv (SEQ ID NO: 63)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYYYIHWVKQRPQGQGLEWIGCIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA VYFCARGGKFAMDYWGQGT LVTVSSGG
GSGGGGSGGGGSDVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSP
KPLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGT RLEI
KR

图44

直接筛选53 (DS53) ScFv (SEQ ID NO: 64)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVMQRPQGQGLEWIGRIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSASTAYMELSSLTSEDTA VYFCARGGKFAMDYWGQGT LVTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSDVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQ
SPKPLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGT RLEI
EIKR

图45

直接筛选54 (DS54) ScFv (SEQ ID NO: 65)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTNYYIHVVKQRPQGQGLEWIGRIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSEDVAVYFCARGGKFAMDYWGQGTLLTVSSGGG
GSGGGGSGGGGSDVVMQTSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSP
KPLIYRVSNRFSGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGTREI
KR

图46

直接筛选55 (DS55) ScFv (SEQ ID NO: 66)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTNYYIHVVKQRPQGQGLEWIGCIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSEDVAVYFCARGGKFAMDYWGQGTLLTVSSGGG
GSGGGGSGGGGSDVVMQTSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSP
KPLIYRVSNRFSGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGTREI
KR

图47

直接筛选2 (KS2) ScFv (SEQ ID NO: 67)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFEGKATLTVDTASTAHMELSSLTSEDVAVYFCARGGKFAMDYWGQGTLLTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSDVVMQTSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQ
SPKPLIYRVSNRFSGVPCRFSGSGSGTDFTLKISRVETEDVGVYFCFQGTHVPYIFGQGTREI
IKR

图48

直接筛选10 (KS10) ScFv (SEQ ID NO: 68)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPQGQGLEWIGCIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSEDVAVYFCARGGKFAMDYWGQGTLLTVSSGGG
GSGGGGSGGGGSDVVMQTSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSP
KPLIYRVSNRFSVCVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGTREI
KR

图49

直接筛选21 (KS21) ScFv (SEQ ID NO: 69)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHCVKQRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKYN
EKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSED~~TAVYFCARGGKFAMDYWGQGT~~LVTVSSGGG
GSGGGGSGGGGSDVVM~~TQSPLSLP~~VTLGQPASISCRSSQSLVHSNGKTYLYWYLQKPGQS
PKPLIYRVSNRFS~~CV~~PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGTRLEI
KR

图50

直接筛选23 (KS23) ScFv (SEQ ID NO: 70)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASAYTFTDYYIHWVKQRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSED~~TAVYFCARGGKFAMDYWGQGT~~LVTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSDVVM~~TQSPLSLP~~VTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQ
SPKPLIYRVSNRFS~~GV~~PCRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGTRL
EIKR

图51

直接筛选26 (KS26) ScFv (SEQ ID NO: 71)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVKQRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSED~~TAVYFCARGGKFAMDYWGQGT~~LVTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSDVVM~~TQSPLSLP~~VTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGK
SPKPLIYRVSNRFS~~GV~~PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAKDVG~~VYFCFQGTHVPYTFGQ~~GTRL
EIKR

图52

动力学筛选30 (KS30) ScFv (SEQ ID NO: 72)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVKQRPQGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTASTAYMELSSLTSED~~TAVYFCARGGKFAMDYWGQGT~~LVTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSDVVM~~TQSPLSLP~~VTLGQPV~~SISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQ~~
SPKPLIYRVSNRFS~~GV~~PCRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTH~~EPYTFGQ~~GTRL
EIKR

图53

动力学筛选(KS34) ScFv (SEQ ID NO: 73)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVKQRPQGQLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGKATLTVDTSVSTAYMELSSLTSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGTSLTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSDVVMQTSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQ
SPKPLIYRVSNRFSGVPCRYSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHVPYTFGQGTSL
EIKR

图54

重人源化 HP35 HC1 重链 (SEQ ID NO: 74)

QIQLQQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYIHVVKQAPGQRLEWIGWIYPGSGNTKY
NQKFQGRVTLTVDTASTAYMELSSLRSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGTSLTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图55

重人源化 HP35 HC2 重链 (SEQ ID NO: 75)

QVQLQQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVVRQAPGQRLEWMGWIYPGSGNTK
YSQKFQGRATLTVDTSASTAYMELSSLRSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGTSLTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图56

重人源化 HP35 HC3 重链 (SEQ ID NO: 76)

QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHVVVRQAPGQRLEWMGWIYPGSGNTKY
SEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDNAVYFCARGGKFAMDYWGQGTSLTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图57

重人源化 HP35 HC4 重链 (SEQ ID NO: 77)

QVQLVQSGPEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVRQAPGQRLEWIGWIYPGSGNTKY
SOKFOGKATITVDTSASTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARGGKFAMDYWGQGT~~SVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图58

重人源化 HP35 HC5 重链 (SEQ ID NO: 78)

QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY
SOKFKGRATLTRDTSASTAYMELSSLRSED~~TAVYFCARGGKFAMDYWGQGT~~SVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图59

重人源化 HP35 HC6 重链 (SEQ ID NO: 79)

QIQLQQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVRQAPGQRLEWIGWIYPGSGNTKY
SOKFOGRATLTVDTASTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARGGKFAMDYWGQGT~~SVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图60

重人源化 HP35 HC7 重链 (SEQ ID NO: 80)

QIQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYYIHWVRQAPGQRLEWMGWIYPGSGNTK
YNEKFKGRATITVDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGKFAMDYWGQGTSTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图61

重人源化 HP35 HC8 重链 (SEQ ID NO: 81)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYYIHWVRQAPGQRLEWIGWIYPGSGNTKY
NEKFKGRVTLTVDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGKFAMDYWGQGTSTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图62

重人源化 HP35 LC1 轻链 (SEQ ID NO: 82)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYQQRPGQSPRRLIYRVSNRFS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFOGTHVPYTFGGGTRLEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图63

重人源化 HP35 LC2 轻链 (SEQ ID NO: 83)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYQQRPGQSPRPLIYRVSNRFSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGTHTVPYTFGGGTRLEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图64

重人源化 HP35 LC3 轻链 (SEQ ID NO: 84)

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWFQQRPGQSPRPLIYRVSNRFSG
 VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCFQGTHTVPYTFGGGTRLEIKRTVAAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLT
 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图65

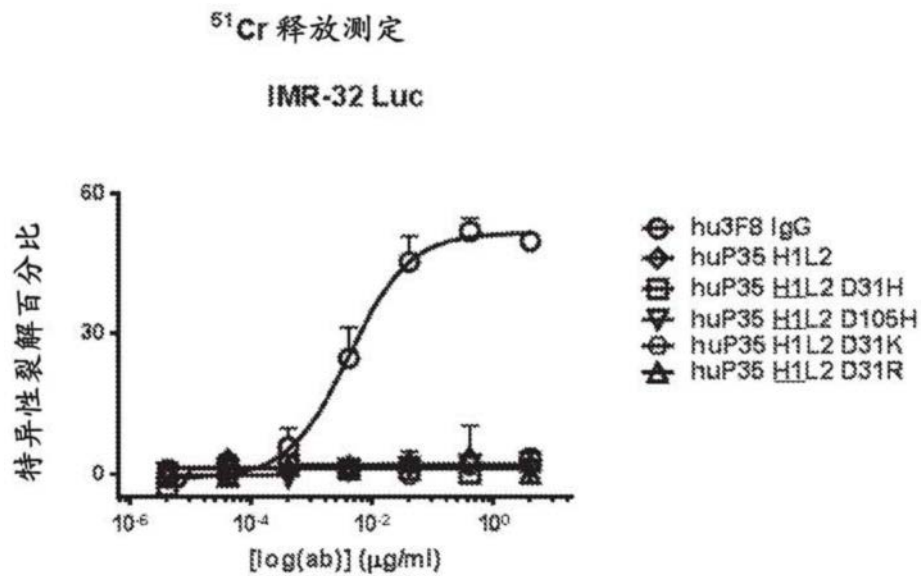


图66

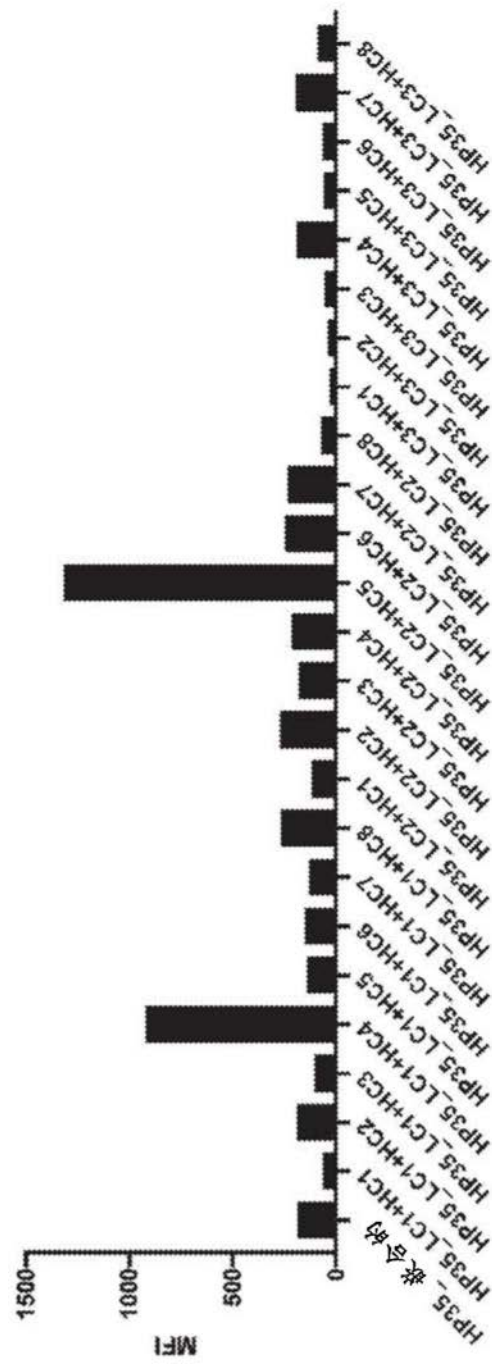


图67

样品	MFI	结合亲和力	稳定性
HP35_ 嵌合的			
HP35_LC1+HC1			
HP35_LC1+HC2			
HP35_LC1+HC3			
HP35_LC1+HC4			
HP35_LC1+HC5			
HP35_LC1+HC6			
HP35_LC1+HC7			
HP35_LC1+HC8			
HP35_LC2+HC1			
HP35_LC2+HC2			
HP35_LC2+HC3			
HP35_LC2+HC4			
HP35_LC2+HC5			
HP35_LC2+HC6			
HP35_LC2+HC7			
HP35_LC2+HC8			
HP35_LC3+HC1			
HP35_LC3+HC2			
HP35_LC3+HC3			
HP35_LC3+HC4			
HP35_LC3+HC5			
HP35_LC3+HC6			
HP35_LC3+HC7			
HP35_LC3+HC8			

图68