(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106459173 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(21)申请号 201580021759.0

(22)申请日 2015.04.30

(30)优先权数据

61/987,566 2014.05.02 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.10.25

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/028645 2015.04.30

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2015/168469 EN 2015.11.05

(71)申请人 爱默蕾大学

地址 美国佐治亚州

(72)发明人 布兰特利·R·赫林

马克斯·戴尔·库珀

鲁道夫·埃尔哈特

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 王思琪 郑霞

(51)Int.Cl.

C07K 14/705(2006.01)

C07K 14/725(2006.01)

C07K 19/00(2006.01)

C12N 15/62(2006.01)

C12N 15/63(2006.01)

权利要求书2页 说明书31页

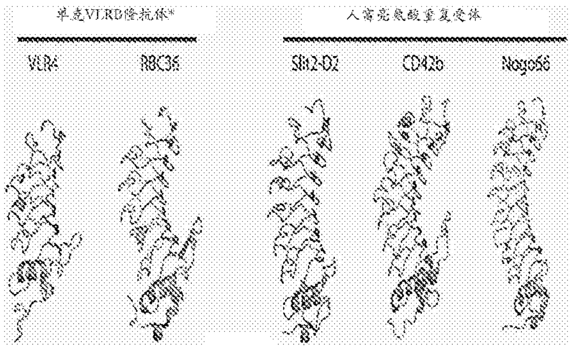
序列表78页 附图9页

(54)发明名称

人源化可变淋巴细胞受体(VLR)及其相关组合物和用途

(57)摘要

本披露涉及可变淋巴细胞受体(VLR)修饰，如包括特异性结合靶分子的此类序列的人源化序列和多肽，及其相关用途。在某些实施例中，本披露涉及本文中所披露的重组多肽VLR及其变体。在某些实施例中，本披露涉及治疗或预防一种疾病或病症，其包括将一个有效量的在本文中所披露的重组多肽或变体给予一名对其有需要的受试者。



CN 106459173 A

1.一种分离的经修饰的人氨基酸序列，其特异性结合由一种工艺制得的分子，该工艺包括，

提供结合一种分子的无颌类脊椎动物的可变淋巴细胞受体(VLR)的氨基酸序列；

评估该可变淋巴细胞受体中的哪些氨基酸空间最接近该结合的分子和/或提供了离子相互作用和/或氢键合和/或向提供该可变淋巴细胞受体中的靶氨基酸的结合的分子提供了范德华力；

提供了与该可变淋巴细胞受体(VLR)氨基酸序列具有大于20％或更高序列一致性的一种已知人氨基酸序列；

取代在该已知的人氨基酸序列内可变淋巴细胞受体中的靶氨基酸和靶氨基酸周围的足够数量的氨基酸，来提供被构造来特异性结合该分子的经修饰的人氨基酸序列；并且

从一种重组核酸表达该经修饰的人氨基酸序列。

2.如权利要求1所述的分离的经修饰的人氨基酸序列，其中该可变淋巴细胞受体是一种七鳃鳗可变淋巴细胞受体B(VLRB)。

3.如权利要求1所述的分离的经修饰的人氨基酸序列，其中该已知的人氨基酸序列是人富亮氨酸重复受体。

4.如权利要求1所述的分离的经修饰的人氨基酸序列，其中该已知的人氨基酸序列是Slit家族蛋白(Slit 1、2、和3)、CD42b、或Nogo-66。

5.如权利要求1所述的分离的经修饰的人氨基酸序列，其中该分子是一种病毒抗原或微生物抗原。

6.如权利要求5所述的分离的经修饰的人氨基酸序列，其中该病毒抗原或微生物抗原是炭疽芽孢杆菌、流行性感冒、或HIV-1抗原。

7.如权利要求1所述的分离的经修饰的人氨基酸序列，其中该分子是是一种肿瘤相关抗原。

8.如权利要求1所述的分离的经修饰的人氨基酸序列，其中该分子与正常或恶性人细胞特异性有关。

9.如权利要求8所述的分离的经修饰的人氨基酸序列，其中该正常或恶性人细胞是一种O型血红细胞、B细胞白血病细胞、或B淋巴瘤细胞系。

10.一种包括如权利要求1所述的分离的经修饰的人氨基酸序列的重组载体。

11.一种包括如权利要求12所述的载体的表达系统。

13.一种融合蛋白，包括如权利要求1所述的经修饰的人氨基酸序列和Fc序列。

14.一种包括如权利要求13所述的融合蛋白的重组载体。

15.一种包括如权利要求14所述的载体的表达系统。

16.一种包括一个或多个序列的重组多肽

这些序列包括<u>X</u> L <u>X</u> <u>L</u> <u>XX</u> NKLQTIAKGTFSPLRAIQ <u>X</u> M <u>X</u> L<u>XX</u>(SEQ ID NO:38)，其中各位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个，这些野生型Slit2-D2序列选自(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。

17.如权利要求16所述的重组多肽，包括一种人Fc序列。

18.具有以下序列的如权利要求16所述的重组多肽

YLDLNNNKLQTIAKGTFGTFSPLRAIQHMWLY(SEQ ID NO:66)、YLDLNNNKLQTIAKGTFGTFSPLRAIQHMWLYQ(SEQ ID NO:67)、或YLDLNNNKLQTIAKGTFGTFSPLRAIQHMWLYG(SEQ ID NO:68)。

19.如权利要求16所述的重组多肽,其能够特异性结合浆细胞而不结合B细胞。

20.包括SEQ ID NO:56,其变体的重组多肽。

21.一种包括编码如权利要求20所述的重组多肽的核酸的重组载体。

22.一种包括如权利要求21所述的载体的表达系统。

人源化可变淋巴细胞受体(VLR)及其相关组合物和用途

[0001] 关于联邦资助研究的声明

[0002] 本发明是根据由美国国立卫生研究院(National Institutes of Health)授予的批准5R01A1072435在政府支持下进行。美国政府享有本发明的某些权利。

[0003] 相关申请的交叉引用

[0004] 本申请要求于2014年5月2日提交的美国临时申请号61/987,566的优先权,将其通过引用以其全文结合在此。

[0005] 背景

[0006] 免疫性研究指示出在脊椎动物中两种类型的适应性免疫系统(AIS)的出现。人类主要通过Ig V-(D)-J基因区段和体细胞高变的组装产生了庞大组库的基于Ig结构域的T和B细胞抗原受体。七鳃鳗和盲鳗具有基于可变淋巴细胞受体(VLR)的可替代的AIS,其多样性是从富亮氨酸重复(LRR)盒产生的。组合的VLR组装可以产生可以与人类免疫球蛋白类多样性相比较的庞大组库受体。参见,韩(Han)等人。通过可变淋巴细胞受体的抗原识别,科学(Science),2008 321:1834-183;希拉诺(Hirano)等人,脊椎动物中适应性免疫的进化(The evolution of adaptive immunity in vertebrates),免疫学进展(Adv Immunol),2011,109:125-57;WO 2013/078425;US 2011/0230374;WO 2010/065407;和WO 2008/016854。郭(Guo)等人报道了七鳃鳗中的适应性免疫系统。自然(Nature),2009,459(7248):796-80。奈都子(Tasumi)等人报道了高亲和力七鳃鳗VLRA和VLRB单克隆抗体。美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci U S A)2009,106(31):12891-6。中原(Nakahara)等人报道了用七鳃鳗独特位特异性抗体监测的慢性淋巴细胞白血病。癌症免疫学研究(Cancer Immunol Res)2013,1(4):223-228。

[0007] 宾兹(Binz)等人报道了来自非免疫球蛋白结构域的工程结合蛋白。自然生物技术(Nat Biotechnol.),2005,23(10):1257-68。

[0008] 李(Lee)等人报道了通过模块工程基于无颌类脊椎动物的可变淋巴细胞受体的结合支架。美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci U S A)2012,109(9):3299-304。

[0009] 在此引用的参考文献并非对现有技术的承认。

[0010] 概述

[0011] 本披露涉及可变淋巴细胞受体(VLR)修饰,如包括特异性结合靶分子的此类序列的人源化序列和多肽,及其相关用途。在某些实施例中,本披露涉及本文中所披露的重组多肽VLR及其变体。在某些实施例中,本披露涉及治疗或预防一种疾病或病症,其包括将一个有效量的在本文中所披露的重组多肽或变体给予一名对其有需要的受试者。

[0012] 在某些实施例中,本披露涉及特异性结合人细胞,如浆细胞、B细胞、或T细胞的重组多肽VLR。

[0013] 在某些实施例中,本披露涉及将人抗体Fc序列与可变淋巴细胞受体轭合,该可变淋巴细胞受体任选地修饰为包括人源化氨基酸序列。在某些实施例中,本披露涉及从无颌类脊椎动物的可变淋巴细胞受体(VLR)嫁接氨基酸位置到包括富亮氨酸重复(LRR)序列的人类蛋白。在某些实施例中,本披露涉及创建与可变淋巴细胞受体序列具有相似性的蛋白

展示文库，这些可变淋巴细胞受体序列富含人类样序列及其中兼容治疗应用用途的识别序列。在某些实施例中，将修饰的人源化序列轭合到由Fc受体识别的人抗体Fc序列和足以激活人免疫系统效应子功能的补体上。

[0014] 在某些实施例中，本披露涉及分离的经修饰的人氨基酸序列，这些人氨基酸序列特异性结合由一种工艺制得的分子，该工艺包括：提供结合一种分子的无颌类脊椎动物的可变淋巴细胞受体(VLR)的氨基酸序列；评估可变淋巴细胞受体中的哪些氨基酸空间最接近结合的分子和/或提供了离子相互作用、和/或氢键合和/或向提供可变淋巴细胞受体中的靶氨基酸的结合的分子提供了范德华力；提供了与可变淋巴细胞受体(VLR)氨基酸序列具有大于20%、25%、或30%或更高序列一致性的已知人氨基酸序列；取代在该已知的人氨基酸序列内可变淋巴细胞受体中的靶氨基酸和靶氨基酸周围的足够数量的氨基酸，来提供被构造来特异性结合该分子的修饰的人氨基酸序列；并且从重组核酸表达修饰的人氨基酸序列。

[0015] 在某些实施例中，本披露涉及包括核酸的重组载体，这些核酸编码由本文中所披露的工艺制备的修饰的已知的人氨基酸序列。在某些实施例中，本披露涉及包括多个重组载体的表达系统，这些重组载体包括多个核酸，这些核酸编码由本文中所披露的工艺制备的修饰的已知的人氨基酸序列。

[0016] 在某些实施例中，本披露涉及融合蛋白，这些融合蛋白包括能够开始适应性免疫功能的本文中披露的修饰的人氨基酸序列和人Fc序列或其片段。

[0017] 在某些实施例中，本披露涉及包括序列XLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXX(SEQ ID NO:38)的重组多肽，其中各位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个，这些野生型Slit2-D2序列选自(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，重组多肽进一步包括人Fc序列。在某些实施例中，重组多肽具有以下序列：YLDLNNNKLQTIAKGTFGTFSPLRAIQHMWLY(SEQ ID NO:66)、YLDLNNNKLQTIAKGTFGTFSPLRAIQHMWLYQ(SEQ ID NO:67)、或YLDLNNNKLQTIAKGTFGTFSPLRAIQHMWLYG(SEQ ID NO:68)。在某些实施例中，重组多肽能够特异性结合浆细胞而不结合B细胞。

[0018] 在某些实施例中，本披露涉及包括MM3序列SEQ ID NO:56或其变体的重组多肽。在某些实施例中，本披露涉及一种包括编码该重组多肽的核酸的重组载体。在某些实施例中，本披露涉及包括该载体的表达系统。

[0019] 附图简要说明

[0020] 图1说明了作为VLR人源化支架的人Slit2-D2。已经将该Slit2的第二VLR样RRR结构域(Slit-D2)与其配体Robo1共结晶，该配体以抗原结合VLR的相同方式结合到凹面的β链。

[0021] 图2说明了VLR和Slit2-D2的比对，显示出了大量的重叠。

[0022] 图3说明了七鳃鳗VLRB抗体和人LRR受体的三级结构。(左)特异性针对炭疽芽孢杆菌(VLR4)和H三糖(RBC36)的七鳃鳗VLRB克隆的三级结构。(右)人类表达许多具有类似于七鳃鳗VLRB的三级结构的富亮氨酸的重复受体。例如，Slit-D2、CD42b、和Nogo-66受体具有与VLRB相同的月牙形状，包括由平行β片层构成的凹面。

[0023] 图4说明了对人免疫效应机理的VLRB特异性的偶联。(左)人IgG1抗体由具有三个

恒定结构域(CH1-CH3)和一个可变结构域(VH)的重链和具有一个恒定结构域(CL)和一个可变结构域(VL)的轻链组成。该可变结构域负责抗原结合,同时该CH2和CH3结构域起将这些抗原与免疫效应子功能结合的作用,这些免疫效应子功能包括补体依赖细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、和通过巨噬细胞的抗体包被细胞的吞噬作用(MΦ)。重链恒定区还通过与FcRn的相互作用提高了循环中抗体半衰期,其从核内体再循环这些抗体。(右)VLRB可变结构域与IgG1的CH2和CH3结构域的融合将偶联对人免疫清除机理的VLRB特异性。

[0024] 图5说明了哺乳动物表达载体。

[0025] 图6示出了指示出人源化RB36结合至H三糖的数据。人Slit2-D2野生型(左)、七鳃鳗RBC36 VLR(中)和SLIT2-RBC36突变体(右)被表达为从HEK-293T细胞所分泌的IgG1-Fc融合蛋白,并且被用于染色被工程化以表达H三糖的CHO细胞。灰色阴影指示未染色的细胞,并且线指示用融合蛋白染色。

[0026] 图7示出七鳃鳗VLRB单克隆抗体的序列(RBC36)(SEQ ID NO:73)。人Slit2-D2包含四种VLR样LRR结构域,并且已经解决了Slit2(Slit-D2)的第二结构域的晶体结构,这允许了与七鳃鳗VLRB进行结构比较。已经确定了RBC36在具有其抗原(H三糖)的复合物中的结构。通过灰色阴影盒指示出接触该抗原的残基。Slit2-D2缺乏LRRCT可变插入环,该LRRCT可变插入环存在于VLRB中并且形成了部分抗原结合位点,但是该序列允许人们将灰色盒子中的残基插入如SEQ ID NO:1中所提供的Slit2-D2中的位置中。

[0027] 图8示出SEQ ID NO:1(询问序列)和Slit2-D2区段(目标序列)、智人(SEQ ID NO:72)的比较。

[0028] 图9数据指示出VLR Mm3是具有人血浆细胞特异性的。Mm3结合至人血浆细胞,而不是包括生发中心和记忆B细胞的其他B系细胞。

[0029] 图10示出在人类骨髓中浆细胞亚群上观察到的关于高密度面染色的数据。

[0030] 图11示出VLR抗原接触的氨基酸残基特征。相对于全VLR中所发现的全部氨基酸,接触残基中每种氨基酸的过高或过低的使用。

[0031] 图12说明了七鳃鳗MM3 VLR mAB的LRRVe和LRRCP结构域(部分序列SEQ ID NO:69)、人Slit2-D2(部分序列SEQ ID NO:70)和合并序列(huMM3-1)(SEQ ID NO:71)的人源化Slit-MM3序列比对。灰色盒子突出显示了来自七鳃鳗MM3的可变氨基酸残基。

[0032] 图13说明了LRRCT环的比较。

[0033] 发明详述

[0034] 在更详细地描述本披露之前,应理解的是本披露不限于所描述的具体实施例,因此这些当然可以改变。还应理解的是,在此使用的术语仅是出于描述具体实施例的目的,并不旨在是限制性的,因为本披露的范围将仅由所附权利要求书限制。

[0035] 除非另外定义,在此所用的全部技术术语和科学术语具有与本披露所属领域的普通技术人员通常所理解的相同意义。虽然与在此所述的那些方法和材料相似或等同的任意方法和材料也可以用于实施或测试本披露中,然而现在描述优选的方法和材料。

[0036] 在本说明书中引用的所有公开物和专利通过引用结合于此,就好像每个单独的公开物或专利被确切地并单独地指示为通过引用结合,并且通过引用结合于此从而结合引用的公开物披露和描述这些方法和/或材料。任何公开物的引用内容是针对在提交日之前的披露,并且不能理解为承认因为先前披露而本披露不能获得比这些公开物更早的申请日。

此外，所提供的公开日期可能与实际的公开日期不同，实际的公开日期可能需要单独地确认。

[0037] 如将对于本领域技术人员清楚的是，在阅读本披露时，在此描述和展示的单独实施例的每一个具有离散的组成部分和特征，这些组成部分和特征可以在不偏离本披露的范围或精神的情况下易于与任何其他一些实施例的特征分离或组合。可以按照所叙述的事件的顺序或按照逻辑上可行的任何其他顺序来进行任何叙述的方法。

[0038] 除非另外说明，本披露的实施例将采用免疫学、医学、有机化学、生物化学、分子生物学、药理学、生理学等的技术，这些技术是在本领域的技术之内。此类技术在文献中得到充分解释。

[0039] 必须指出，如在说明书和所附权利要求书中所使用，单数形式“一个/一种(a/an)”和“该(the)”包括复数指示物，除非上下文另外清楚地规定。在本说明书和以下权利要求书中，将参考应定义为具有下列含义的大量术语，除非明显是相反的意图。

[0040] 在描述各种实施例之前，提供以下定义并且应使用这些定义，除非另外指明。

[0041] 术语“蛋白质”和“多肽”是指包含经由肽键连接的氨基酸的化合物并且可互换使用。在某些实施例中，该N末端可以用一个或多个乙酰基或链烷酰基基团进行取代，并且该C末端可以是酰胺。

[0042] 当关于多肽使用时，术语“变体”和“突变体”是指在一个或多个氨基酸上彼此不同的氨基酸序列，通常为相关多肽。该变体可以具有“保守”变化，其中取代的氨基酸具有相似的结构或化学特性。一种类型的保守氨基酸取代是指具有相似侧链的残基的可互换性。例如，具有脂族侧链的一组氨基酸是甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、以及异亮氨酸；具有脂族-羟基侧链的一组氨基酸是丝氨酸和苏氨酸；具有含酰胺侧链的一组氨基酸是天冬酰胺和谷氨酸；具有芳族侧链的一组氨基酸是苯丙氨酸、酪氨酸、以及色氨酸；具有碱性侧链的一组氨基酸是赖氨酸、精氨酸、以及组氨酸；并且具有含硫侧链的一组氨基酸是半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸取代组是：缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、以及天冬酰胺-谷氨酸。更为罕见的是，变体可具有“非保守”变化(例如，用色氨酸替代甘氨酸)。类似微小变异还可以包括氨基酸缺失或插入(换言之，添加)或两者。可以使用本领域中熟知的计算机程序(例如，DNAStar软件)发现确定哪些或多少氨基酸残基可以被取代、插入或缺失而不消除生物活性的指导。可在功能测定中测试变体。优选的变体具有小于10%、且优选地小于5%、且仍然更优选地小于2%的变化(取代、缺失等)。

[0043] 术语“核酸”是指如上所述的核苷酸的聚合物或多核苷酸。该术语用于表示一个单个分子或多个分子的集合。核酸可以是单链或双链的，并且可以包括编码区和各种控制元件的区域，如以下所述。

[0044] 术语指定的多肽“编码核酸序列”是指包括基因的编码区的核酸序列或换言之编码基因产物的核酸序列。编码区可以按cDNA、基因组DNA或RNA形式存在。当以DNA形式存在时，寡核苷酸、多核苷酸或核酸可以是单链的(即正义链)或双链的。如果需要允许适当地启动原始RNA转录物的转录和/或正确的加工，则可以紧邻基因的编码区放置适合的控制元件，如增强子/启动子、剪接点、多腺苷酸化信号等。可替代地，在本披露的表达载体中使用的编码区可以包含内源性增强子/启动子、剪接点、间插序列、多腺苷酸化信号等或内源性

和外源性的两种控制元件的组合。

[0045] 在某些实施例中，序列“一致性”是指在序列比对中比对的两个序列之间的精确配对氨基酸的数目(表示为百分比)，该数目使用一致位置的数目除以最短序列中的较大序列或排除突出端的等效位置的数目来计算，其中内部缺口计为等效位置。例如，多肽GGGGGG和GGGGT具有五分之四或80%的序列一致性。例如，多肽GGGPPP和GGGAPPP具有七分之六或85%的序列一致性。在某些实施例中，在此表述的序列一致性的任何引用可以被替代为序列相似性。“相似性”百分数用来量化比对的两个序列之间的相似性。该方法与测定一致性相同，不同的是，某些氨基酸不必须是一致的，以具有匹配。氨基酸可被归为匹配物，如果它们在根据以下氨基酸组的具有相似特性的一个组中：芳香族-F Y W；疏水性-A V I L；带正电荷：R K H；带负电荷-D E；Polar-S T N Q。

[0046] 如在此使用，术语“共轭”是指通过共价键两个分子实体的接合。这些分子实体可以直接共价结合或者使用标准合成偶联程序，通过连接基团来结合。例如，两个肽可以通过典型地被称为融合蛋白或嵌合蛋白的同时多肽表达来连接在一起。可以通过掺入对应核酸序列到该表达载体中，将一个或多个氨基酸作为连接基团插入到多肽中。其他考虑到的连接基团包括末端被氨基或羧酸基团取代的聚乙二醇或烃类，以允许酰胺与具有氨基酸侧链的蛋白偶联，该氨基酸侧链分别具有羧酸或氨基基团。可替代地，该氨基和羧酸基团可以被其他结合配偶体如叠氮化物和炔取代，这些结合配偶体经历了铜催化的三唑形成。在共轭的另一个实例中，将多肽表达为包含天然存在的或非天然存在的包含硫醇基团的氨基酸。在与羧酸的偶联反应中该硫醇基团可以取代为氨基基团，或者当暴露于氧化条件时两个硫醇基团反应以形成二硫化物。

[0047] 当就核酸分子而言时，术语“重组”是指包含通过分子生物学技术而连接在一起的核酸区段的核酸分子。当就蛋白质或多肽而言时，术语“重组”是指使用重组核酸分子表达的蛋白质分子。

[0048] 术语“载体”或“表达载体”是指包含所希望的编码序列和用于可操作地连接的编码序列在具体宿主有机体或表达系统中的表达所必须的适当核酸序列的重组核酸，例如细胞的或无细胞的。在原核生物中的表达所必须的核酸序列通常包括启动子、操纵子(任选的)、以及核糖体结合位点，经常连同其他序列。已知真核细胞利用启动子、增强子和终止以及聚腺苷酸化信号。

[0049] 蛋白“表达系统”是指体内和体外(无细胞)系统。用于重组蛋白表达的系统典型地利用使用包含模板的DNA表达型载体的细胞转染。将这些细胞在条件下进行培养，这样使得它们翻译所希望的蛋白质。所表达的蛋白被提取用于后续纯化。使用原核和真核细胞的体内蛋白表达系统是所熟知的。而且，使用变性剂和蛋白质重折叠程序回收一些蛋白。体外(无细胞)蛋白表达系统典型地使用全细胞的翻译兼容提取物或包含足以转录、翻译以及任选地翻译后修饰的组分的组合物，这些组分如：RNA聚合酶、调节蛋白因子、翻译因子、核糖体、tRNA辅因子、氨基酸和核苷酸。在表达载体的存在下，这些提取物和组分可以合成感兴趣的蛋白。无细胞系统典型地不包含蛋白酶，并且能够用修饰的氨基酸标记蛋白。一些无细胞系统掺入用于翻译的编码组分到表达载体中。参见，例如，清水(Shimizu)等人，用纯化组分重构的无细胞翻译(Cell-free translation reconstituted with purified components)，2001，自然生物技术(Nat.Biotechnol.)，19，751-755和麻原&宗(Asahara&

Chong),核酸研究(Nucleic Acids Research),2010,38(13):e141,通过引用将这二者以其全文结合在此。

[0050] “可选择标记”是引入编码多肽的重组载体的核酸,该多肽赋予了适用于人工选择或鉴别的性状(报告基因),例如,β-内酰胺酶赋予了抗生素抗性,其允许表达β-内酰胺酶的有机体在生长介质中抗生素的存在下存活。另一个实例是胸苷激酶,其使得宿主对更昔洛韦选择敏感。它可以是可筛选标记,该可筛选标记允许人们基于预期的颜色的存在或不存在,在想要和不想要细胞之间进行区分。例如,lac-z基因产生β半乳糖苷酶,该β半乳糖苷酶在X-gal(5-溴-4-氯-3-吲哚基-β-D-半乳糖苷)的存在下赋予蓝色。如果重组体插入使lac-z基因失活,那么产生的菌落是无色的。可以存在一个或多个可选择标记,例如,一种能够补充表达有机体不能合成的其生长所需的具体化合物(营养缺陷型)的酶和一种能够将化合物转化为对生长有毒的另一种化合物的酶。URA3(乳清酸核苷-5’-磷酸脱羧酶)是尿嘧啶生物合成所必须的,并且可以补充营养缺陷型的ura3突变体的尿嘧啶。URA3还将5-氟乳清酸转化成有毒化合物5-氟尿嘧啶。另外考虑到的可选择标记包括赋予抗细菌抗性或者表达荧光蛋白的任何基因。实例包括但不限于以下基因:amp^r、cam^r、tet^r、杀稻瘟菌素^r、neo^r、hyg^r、abx^r、霉素磷酸转移酶II型基因(nptII)、p-葡萄糖醛酸酶(gus)、绿色荧光蛋白(gfp)、egfp、yfp、mCherry、p-半乳糖苷酶(lacZ)、lacZa、lacZAM15、氯霉素乙酰转移酶(cat)、碱性磷酸酶(phoA)、细菌荧光素酶(luxAB)、双丙氨磷抗性基因(bar)、磷酸甘露糖异构酶(pmi)、木糖异构酶(xylA)、阿拉伯糖醇脱氢酶(atlD)、UDP-葡萄糖:半乳糖-1-磷酸尿苷酰转移酶I(galT)、邻氨基苯甲酸合酶的反馈不敏感的α亚基(OASA1D)、2-脱氧葡萄糖(2-DOGR)、苄腺嘌呤-N-3-葡糖苷酸、大肠杆菌苏氨酸脱氨酶、谷氨酸1-半醛氨基转移酶(GSA-AT)、D-氨基酸氧化酶(DAAO)、耐盐基因(rstB)、铁氧还蛋白样蛋白(pflp)、海藻糖-6-P合成酶基因(AtTPS1)、赖氨酸消旋酶(lyr)、二氢二皮考啉酸合酶(dapA)、色氨酸合酶β1(AtTSB1)、脱卤素酶(dhlA)、甘露糖-6-磷酸还原酶基因(M6PR)、潮霉素磷酸转移酶(HPT)、和D-丝氨酸解氨酶(dsdA)。

[0051] “标记”是指直接或间接与另一种分子(如抗体或蛋白)共轭的可检测的化合物或组合物,以有助于该分子的检测。标记的具体的、非限制性实例包括荧光标签、酶键、和放射性同位素。在一个实施例中,“标记受体”是指受体中掺入异源多肽。标记包括放射性标记的氨基酸的掺入或生物素基部分共价附着于多肽,该多肽可以通过有标记的亲和素进行检测(例如,包含荧光标记或酶活性的链霉抗生物素蛋白,其可以通过光学法或比色法进行检测)。标记多肽和糖蛋白的各种方法在本领域中是已知的,并且可以使用。多肽的标记的实例包括但不限于以下各项:放射性同位素或放射性核苷酸(如^{35}S或^{131}I)、荧光标记(如异硫氰酸荧光素(FITC)、罗丹明、镧系磷光体)、酶促标记(如辣根过氧化物酶、β-半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酶)、化学发光标记、生物素基基团、由次级报道分子识别的预定多肽表位(如亮氨酸拉链对序列、第二抗体的结合位点、金属结合结构域、表位标签)、或磁性试剂,如钆螯合物。在一些实施例中,通过各种长度的间隔臂附接标记,来减少潜在的空间位阻。

[0052] 在某些实施例中,本披露涉及包括本文中所披露的序列或其变体或融合体的重组多肽,其中该氨基酸序列的氨基末端或碳末端任选地附接到异源氨基酸序列、标记或报告分子上。在某些实施例中,本披露涉及一种包括编码本文中披露的多肽或其嵌合蛋白的核酸的重组载体。

[0053] 在某些实施例中，该重组载体任选地包括哺乳动物、人、昆虫、病毒、细菌、细菌质粒、酵母有关的复制原点或基因，如基因或反转录病毒基因或慢病毒LTR、TAR、RRE、PE、SLIP、CRS和INS核苷酸区段或基因。

[0054] 在某些实施例中，该重组载体任选地包括基因载体元素(核酸)如选择标记区域、lac操纵子、CMV启动子、杂合鸡B-肌动蛋白/CMV增强子(CAG)操纵子、tac操纵子、T7RNA聚合酶操纵子、SP6RNA聚合酶操纵子、SV40操纵子、内部核糖体进入位点(IRES)序列、顺式作用土拨鼠后调节元件(WPRE)、支架附着区(SAR)、反向末端重复(ITR)、FLAG标签编码区、c-myc标签编码区、金属亲和标签编码区、链亲和素结合肽标签编码区、聚组氨酸标签编码区、HA标签编码区、MBP标签编码区、GST标签编码区、聚腺苷酸化编码区、SV40多腺苷酸化信号、SV40复制起点、Col E1复制起点、f1起点、pBR322起点、或pUC起点、TEV蛋白酶识别位点、loxP位点、Cre重组酶编码区、或多克隆位点，如在小于50或60个核苷酸的连续区段内具有5、6、或7或更多个酶切位点或在小于20或30个核苷酸的连续区段内具有3或4或更多个酶切位点。

[0055] 可变淋巴细胞受体(VLR)

[0056] 在某些实施例中，本披露涉及生产分子的特异性结合试剂的方法，该方法包括：在条件下向无颌类脊椎动物给予分子，这样使得包含可变淋巴细胞受体(VLR)的细胞结合该分子并且无颌类脊椎动物的浆细胞产生结合该分子的可变淋巴细胞受体(VLR)。提供结合靶分子的可变淋巴细胞受体(VLR)的氨基酸序列可以通过各种方法来完成。于(Yu)等人报道了来自用人T细胞免疫的七鳃鳗幼体的单克隆VLR抗体的图的产生，和重组单克隆VLR抗体用于抗原纯化和质谱法鉴别的用途。参见免疫学方法杂志(J Immunol Methods)，2012，386(1-2):43-9，“使用七鳃鳗单克隆抗体纯化和鉴定细胞表面抗原(Purification and identification of cell surface antigens using lamprey monoclonal antibodies)”。

[0057] 在某些实施例中，本披露涉及包括VLR的重组多肽，该VLR具有本文中披露的氨基酸序列、序列或其变体。在某些实施例中，本披露涉及包括VLR序列及其他多肽序列(如荧光蛋白、标签、或标记)的重组多肽，这样使得该重组肽不是天然存在的。在某些实施例中，本披露涉及通过在条件下将无颌类脊椎动物暴露于抗原的工艺制得的重组蛋白，这样使得形成抗体，其中该抗原是这样，使得无颌类脊椎动物不会自然经历暴露于这种抗原。

[0058] 在某些实施例中，变体包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸取代或者具有大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、或99%的其一致性或相似性。在某些实施例中，这些变体提供了非天然存在的序列。在某些实施例中，氨基酸取代是保守的氨基酸取代。在某些实施例中，这些氨基酸取代不是在VLR内的XXLXLXX内，该VLR，例如MM3，其中X是任何氨基酸并且L可以是亮氨酸或异亮氨酸。在某些实施例中，该重组核酸编码VLR Mm3或其变体。在某些实施例中，重组载体包括编码在此披露的VLR或其变体的核酸。在某些实施例中，本披露涉及包括本文中披露的重组载体的表达系统。

[0059] 在某些实施例中，本披露涉及通过在表达系统中表达编码蛋白的核酸或其变体的工艺制得的本文中披露的重组VLR或其变体。

[0060] 通过嫁接靶序列修饰的来自VLR的人序列

[0061] 在某些实施例中，本披露涉及分离的经修饰的人氨基酸序列，这些人氨基酸序列

特异性结合由一种工艺制得的分子，该工艺包括：提供结合一种分子的无颌类脊椎动物的可变淋巴细胞受体(VLR)的氨基酸序列；评估可变淋巴细胞受体中的哪些氨基酸空间最接近结合的分子和/或提供了离子相互作用、和/或氢键合和/或向提供可变淋巴细胞受体中的靶氨基酸的结合的分子提供了范德华力；提供了与可变淋巴细胞受体(VLR)氨基酸序列具有大于20%、25%、或30%或更高序列一致性的已知人氨基酸序列；取代在该已知的人氨基酸序列内可变淋巴细胞受体中的靶氨基酸和靶氨基酸周围的足够数量的氨基酸，来提供被构造来特异性结合该分子的修饰的人氨基酸序列；并且从重组核酸表达修饰的人氨基酸序列。

[0062] 该无颌类脊椎动物(七鳃鳗和盲鳗)具有适应性免疫系统，该适应性免疫系统由表达可变淋巴细胞受体(VLR)的克隆多样性淋巴细胞组成。该种系VLRB基因是不完全的，由被非编码插入序列分开的不变的5’和3’恒定区组成。该5’恒定区编码信号肽和部分N末端LRR(LRR-NT)。该3’恒定区编码LRR-CT的一部分和不变的茎区。该不完全的种系基因两侧是数以百计的部分LRR基因区段。在发育的淋巴细胞中，该侧翼LRR基因区段是随机并顺序地复制到不完全的VLRB基因中。因为每个LRR基因区段被复制到基因座中，它代替插入序列的一部分。该组装机理一直继续直到所有的插入序列被LRR模块替代，并且表达功能性VLRB。VLRB基因组装发生在唯一的一个等位基因上，这样使得每个淋巴细胞表达一个VLRB基因。该VLRB基因组装机理可以产生超过10^{14}个独特的抗原受体，这比得上人抗体谱的理论多样性。

[0063] 该成熟VLRB基因编码新月形蛋白，其中氨基酸序列多样性集中在凹面上。该凹面由平行的β链和C末端可变环组成。每个LRR亚基促进形成一个β链，并且每个β链具有五个可变氨基酸位置。VLRB抗体还具有可变数量的LRR亚基。最小VLRB抗体具有4个LRR亚基并且最大的具有11个LRR亚基。每个LRR亚基以约10°增加凹面的曲率，并且以约220 Å增加凹面面积。C末端LRR，LRR-CT，编码可变长度的环和投影在凹面上方的序列构成。具有颗粒抗原(如炭疽杆菌孢子外壁或人血红细胞(RBC))的免疫作用诱导抗原结合的VLRB+细胞增殖和分化成浆细胞。这些浆细胞分泌在血液中循环的多价VLRB抗体。每个分泌的VLRB抗体是由安置到二聚体的五聚体或四聚体中的相同VLRB多肽链组成，这些二聚体通过在可弯曲的、不变的茎区的C末端处的二硫键连在一起。由于这种多价，VLRB抗体以高亲和力结合至其抗原。

[0064] 哺乳动物细胞系(HEK-293T和CHO细胞)中所表达的VLRB cDNA作为二硫键连接的多价抗体被分泌到组织培养上清液中，像体内VLRB。重组VLRB抗体是非常稳定的。在暴露于极端pH(<1.5和>12)和温度(在55℃下36小时)后，它们仍保留了其抗原结合能力。为了分离抗原特异性VLRB克隆，从免疫的七鳃鳗的淋巴细胞制备VLRB cDNA文库。将这些VLRB cDNA转染到HEK-293T中，并且针对抗原结合筛选包含VLRB的组织培养上清液。这些单克隆VLRB抗体高度特异性针对免疫抗原。尽管具有90%的氨基酸序列一致性，特异性针对炭疽杆菌的BclA孢子包被蛋白的VLRB抗体忠实地(7分之7)区分了炭疽杆菌和蜡样芽孢杆菌的BclA。

[0065] 与人红细胞H三糖抗原复合的VLRB抗体(RBC-36)的X线衍射晶体分析法确认，该凹面是抗原结合位点。通过氢键稳定了该H三糖相互作用，并且范德华力与凹VLRB面上的七个β链的六个中的氨基酸接触。该RBC-36的LRR-CT形成了一个扩展环，该扩展环经由在该环尖端附近的色氨酸(TRP204)残基有助于与H三糖的半乳糖环的关键相互作用。

[0066] 在实验中，在重复免疫后的小鼠中VLRB蛋白是免疫原性的。VLRB抗体的免疫原性

限制了其在人类中作为治疗试剂的潜能。结构上类似于VLRB的富亮氨酸重复受体发现于脊椎动物、无脊椎动物、植物、和原核生物中。若干人富亮氨酸重复受体,如Slit家族蛋白(Slit 1、2、和3)、CD42b、和Nogo-66,具有与VLRB的结构重叠。负责抗原结合的VLRB抗体(RBC36)的序列可以嫁接到结构相似的人LRR受体(Slit2-D2)上,来"人源化"该VLRB。在实践中,不是凹面的β片层上的所有的氨基酸将必须取代,因为选择的氨基酸可能参与抗原结合。此外,主要以体内抗原结合状态存在的高亲和性VLRB将主要使完全人源化的凸面暴露于体液免疫系统。Slit2-D2和CD42b二者都是人类中的分泌性蛋白,并且分别结合至凹面上的其天然配体,Robo1和血管性血友病因子(vWF)。VLRB序列嫁接到这些人类LRR受体上将添加VLRB抗体的抗原结合表位,同时废除结合至其天然配体。

[0067] 具体参考韩(Han)等人,科学(Science),2008,321:1834-183,其报道了用于评估VLR内的哪些氨基酸与结合的分子相互作用的详细方法。评估可变淋巴细胞受体中的2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个氨基酸,该可变淋巴细胞受体空间最接近结合的分子和/或提供了离子相互作用、和/或氢键合和/或提供与可变淋巴细胞受体中的提供靶氨基酸的感性趣分子一起的范德华力可以通过各种方法来完成。范德华力是指分子之间的吸引力或排斥力,而不是由于共价键、氢键、或离子彼此之间或离子与中性分子或带电分子的静电作用产生的那些。该术语包括两个永久偶极之间的力(科梭姆力)、永久偶极和对应诱导偶极之间的力(德拜力)、两个瞬时诱导偶极之间的力(伦敦色散力)。这些力典型地通过计算机模拟来评估。参见欧惠(Ohue)等人,MEGADOCK:使用三级结构数据的多对多蛋白质相互作用预测系统,(An All-to-all Protein-protein Interaction Prediction System Using Tertiary Structure Data),蛋白质和肽快报(Protein Pept Lett),2013;松崎(Matsuzaki)等人,MEGADOCK 3.0:使用针对千万亿次级超级计算环境的杂合并行计算的高性能蛋白质相互作用预测软件(a high-performance protein-protein interaction prediction software using hybrid parallel computing for petascale supercomputing environments),生物学和医学源代码(Source Code Biol Med),2013,8(1):18;图恩拜戈(Tuncbag)等人,通过在界面处使用PRISM匹配进化和结构相似性预测蛋白质组规模上的蛋白质相互作用(Predicting protein-protein interactions on a proteome scale by matching evolutionary and structural similarities at interfaces using PRISM)。自然协议(Nat Protoc),2011,6(9):1341-54。王(Wang)等人,通过构象和相互诱导拟合的蛋白质识别和选择(Protein recognition and selection through conformational and mutually induced fit),美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci U S A),2013,110(51):20545-50;佐勒诺和费尔南德斯-雷西奥(Solernou&Fernandez-Recio),pyDockCG:用于蛋白蛋白对接的新粗粒化潜能(new coarse-grained potential for protein-protein docking),物理化学期刊B(J Phys Chem B),2011,115(19):6032-9;安特斯(Antes),DynaDock:针对包括受体的灵活性的蛋白-肽对接的新基于分子动力学的算法(A new molecular dynamics-based algorithm for protein-peptide docking including receptor flexibility),蛋白质(Proteins),2010,78(5):1084-104;塞尔凯拉(Cerqueira)等人,MADAMM:多级对接与自动化制作分子模型方案(a multistaged docking with an automated molecular modeling protocol),蛋白质(Proteins),2009,74(1):192-206;克劳森(Claussen)等人,FlexE:考虑到蛋白质结构变化的有效分子对接

(efficient molecular docking considering protein structure variations)。分子生物学杂志(J Mol Biol),2001,308(2):377-95。

[0068] 在其他实施例中,人们利用计算机模拟和X线衍射晶体分析法、NMR光谱术或冷冻电子显微术实验的组合。典型地,可变淋巴细胞受体和感兴趣的结合分子的结构形成了结晶复合物。即使该复合物未能结晶,人们可以尝试其他方法。在一些情况下,二维核磁共振技术,任选地与计算方法相结合,可以用来评估分子间相互作用和空间关系。参见西田和岛田(Nishida&Shimada),一种研究蛋白质相互作用的NMR方法(An NMR method to study protein-protein interactions),分子生物学方法(Methods Mol Biol),2012,757:129-37和奥康奈尔(O'Connell)等人,通过NMR光谱术的蛋白质相互作用的结构分析(The structural analysis of protein-protein interactions by NMR spectroscopy),蛋白质组学(Proteomics),2009,9(23):5224-32。

[0069] 提供与可变淋巴细胞受体(VLR)氨基酸序列具有大于20%、25%、30%、35%、或40%或更高序列一致性的已知人氨基酸序列可以使用公开获得的数据库如BLAST来完成。在某些实施例中,跨100个、150个、200个、或250个氨基酸制成序列一致性或相似性的比较窗口。

[0070] 取代在位置相关的已知人氨基酸序列内可变淋巴细胞受体中,如有不同,在已知人氨基酸序列中的靶氨基酸,典型地通过进行序列比对随后进行取代来完成。除靶氨基酸之外,还可以取代靶氨基酸的N-或C-侧上的一个、两个、或更多个氨基酸(如有不同)。在一些实施例中,人们取代可变淋巴细胞受体中邻近每个靶氨基酸的至少一个氨基酸,该可变淋巴细胞受体在位置与人氨基酸序列相关的已知的人氨基酸序列内。在某些实施例中,取代在各靶氨基酸的N侧上的两个和C侧上的一个,C侧上的两个和N侧上的一个,或N侧上的两个和C侧上的两个。

[0071] 在某些实施例中,本披露涉及分离的经修饰的人氨基酸序列,这些人氨基酸序列特异性结合一种分子,包括:提供结合一种分子的无颌类脊椎动物的可变淋巴细胞受体(VLR)的氨基酸序列;确定、选择或评估在可变淋巴细胞受体中的2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个氨基酸,氢键合该分子和/或具有与结合的分子的离子相互作用和/或与在可变淋巴细胞受体中提供靶氨基酸的结合的分子空间最接近;提供了与可变淋巴细胞受体(VLR)氨基酸序列具有大于20%、25%、30%、或40%或更高序列一致性的已知人氨基酸序列;取代在位置相关的已知人氨基酸序列内可变淋巴细胞受体中,如有不同,在已知人氨基酸序列中的靶氨基酸;当产生提供特异性结合该分子的多肽时,在条件下用位置相关的已知人氨基酸序列取代可变淋巴细胞受体中邻近每个靶氨基酸的至少一个氨基酸,来提供修饰的人氨基酸序列和修饰的人氨基酸序列;并且通过从重组核酸表达修饰的人氨基酸序列,生产特异性结合结合该分子的多肽。

[0072] 在某些实施例中,该分子包括多肽序列或多糖。

[0073] 在某些实施例中,该无颌类脊椎动物是七鳃鳗或盲鳗。在某些实施例中,该可变淋巴细胞受体是七鳃鳗可变淋巴细胞受体B(VLRB)。

[0074] 在某些实施例中,氢键合该分子和/或与该分子空间最接近的可变淋巴细胞受体中的2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多氨基酸选自β链的可变氨基酸位置和新月形VLR的凹面的C末端可变环内。

[0075] 在某些实施例中,该分子是病毒的或微生物的相关分子。

[0076] 在某些实施例中，该病毒的或微生物的相关分子是炭疽杆菌、流感、或HIV-1抗原。

[0077] 在某些实施例中，该分子是与具体正常或恶性人细胞有关的分子。在某些实施例中，该正常或恶性人细胞是一种O型血红细胞、B细胞白血病细胞、B淋巴瘤细胞系。在某些实施例中，该已知的人氨基酸序列是人富亮氨酸重复受体。在某些实施例中，该已知的人氨基酸序列是Slit家族蛋白(Slit1、2、和3)、CD42b、或Nogo-66。

[0078] 在某些实施例中，本披露涉及包括核酸的重组载体，这些核酸编码由本文中所披露的工艺制备的分离的经修饰的人氨基酸序列。

[0079] 在某些实施例中，本披露涉及包括多个重组载体的表达系统，这些重组载体包括多个核酸，这些核酸编码由本文中所披露的工艺制备的分离的经修饰的人氨基酸序列。

[0080] 在某些实施例中，本披露涉及生产分子的特异性结合试剂的方法，该方法包括：在条件下向无颌类脊椎动物给予分子，这样使得包含可变淋巴细胞受体(VLR)的细胞结合该分子并且无颌类脊椎动物的浆细胞产生结合该分子的可变淋巴细胞受体(VLR)；提供结合该分子的可变淋巴细胞受体(VLR)的氨基酸序列；评估可变淋巴细胞受体中的2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个氨基酸，该可变淋巴细胞受体空间最接近该分子和/或氢键合可变淋巴细胞受体中提供靶氨基酸的分子；提供了与可变淋巴细胞受体(VLR)氨基酸序列具有大于20%、25%、30%、35%、或40%或更高序列一致性的已知人氨基酸序列；将VLR序列和该已知人氨基酸序列进行比对；取代在位置相关的已知人氨基酸序列内可变淋巴细胞受体中，如有不同，在已知人氨基酸序列中的靶氨基酸；在条件下用位置相关的已知人氨基酸序列中的氨基酸取代可变淋巴细胞受体中邻近每个靶氨基酸的至少一个氨基酸，这样使得修饰的人氨基酸序列被构造来特异性结合该分子；并且从重组核酸通过表达修饰的人氨基酸序列生产特异性结合试剂。

[0081] 可变淋巴细胞受体典型地包含N末端LRR序列、C末端LRR序列、和约12-25个氨基酸的多个内部LRR模块。该C末端LRR序列典型地包含可变环(高度可变插入片段)。在内部LRR模块内，七个氨基酸典型地包含一个或两个亮氨酸或异亮氨酸，如果两个，由单个氨基酸分开，例如，(SEQ ID NO:21)XXLXLXX，其通常位于凹面上，其中X可以是任何氨基酸并且L可以是亮氨酸或异亮氨酸。在一些情况下，一个L(亮氨酸或异亮氨酸)可以被任何氨基酸取代。在某些实施例中，用于嫁接到人序列中的靶氨基酸是在针对至少1、2、3、或所有LRR模块中相关的7个残基内的2、3、4、5、6、或7个氨基酸并且任选地是C末端高度可变插入片段中所有的或一部分的氨基酸。在某些实施例中，该可变淋巴细胞受体具有序列VXCXXXXLXSVPAXIPTTTXXLXXXXNXITKXXPGVFDXLXXLXXXXLXXNXLXXXPXGXFD(SEQ ID NO:25)，其中X可以是任何氨基酸。

[0082] 在某些实施例中，本披露涉及包括多肽的组合物，该多肽包括SEQ ID NO:1或10或其具有大于83%、85%、90%、95%、97%、98%、或99%序列一致性或大于85％、90％、95％、97％、98％、或99％序列相似性的变体。在某些实施例中，该变体包括一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、或十个个氨基酸取代。在某些实施例中，这些氨基酸取代是保守取代。

[0083] 在某些实施例中，该变体包括氨基酸取代，这些氨基酸取代不在以下各项之内：SEQ ID NO:3(IIYLHD)、SEQ ID NO:4(EIYLGS)、SEQ ID NO:5(VLDLGT)、SEQ ID NO:6(ELFLCC)、SEQ ID NO:7(HLALDQ)、SEQ ID NO:8(HMYLFG)、SEQ ID NO:9

(IAMRWDGKAVNDPDS)。

[0084] 在某些实施例中，该变体包括以下序列中的两个、三个、四个、五个、或六个：SEQ ID NO:3(IIYLHD)、SEQ ID NO:4(EIYLGS)、SEQ ID NO:5(VLDLGT)、SEQ ID NO:6(ELFLCC)、SEQ ID NO:7(HLALDQ)、SEQ ID NO:8(HMYLFG)、SEQ ID NO:9(IAMRWDGKAVNDPDS)。

[0085] 在某些实施例中，该变体任选地包括在以下序列中每一个内的一个保守氨基酸取代：SEQ ID NO:3(IIYLHD)、SEQ ID NO:4(EIYLGS)、SEQ ID NO:5(VLDLGT)、SEQ ID NO:6(ELFLCC)、SEQ ID NO:7(HLALDQ)、SEQ ID NO:8(HMYLFG)、SEQ ID NO:9(IAMRWDGKAVNDPDS)。

[0086] 在某些实施例中，该多肽包括SEQ ID NO:9(IAMRWDGKAVNDPDS)或具有一、二、或三个氨基酸取代的变体。

[0087] 人源化Slit2-VLR

[0088] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:10)或其变体的分离重组多肽，

[0089]

CPAACTCSNNXXXCXXKGLTEIPTNLPETITXIXXXXNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYLH[X]nARCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRC

[0090] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n是在5和20之间或n是在10和18之间，或者n是14、15、或16，其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、或所有，这些序列选自以下各项：(SEQ ID NO:11)IVDCRG、(SEQ ID NO:12)EIRLEQ、(SEQ ID NO:13)RIDLSN、(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代，条件是这些氨基酸取代不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0091] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:26)或其变体的分离重组多肽，

[0092]

CPAACTCSNNXXXCXXKGLTEIPTNLPETITXIXXXXNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRC

[0093] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n是在5和20之间或n是在10和18之间，或者n是14、15、或16，任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、或所有，这些序列选自以下各项：(SEQ ID NO:11)IVDCRG、(SEQ ID NO:12)EIRLEQ、(SEQ ID NO:13)RIDLSN、(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。

[0094] 在某些实施例中，针对本文中所披露的任何序列，[X]n是$[X]_m$-[VLR或MM3的环序列]或$[X]_m$-[VLR或MM3的环序列]A，其中$[X]_m$任选地是X^1、X^1X^2、$X^1X^2X^3$、$X^1X^2X^3X^4$，其中X^1是H，X^2是T，X^3是N，并且X^4是P。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0095] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:27)或其变体的分离重组多肽，

[0096]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITXIXXXXNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0097] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸,并且n是在5和20之间或n是在10和18之间,或者n是14、15、或16,任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、五个、或所有,这些序列选自以下各项:(SEQ ID NO:12)EIRLEQ、(SEQ ID NO:13)RIDLSN、(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中,这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入,条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中,这些取代是保守取代。

[0098] 在某些实施例中,本披露涵盖包括(SEQ ID NO:28)或其变体的分离重组多肽,

[0099]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0100] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸,并且n是在5和20之间或n是在10和18之间,或者n是14、15、或16,任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、或所有,这些序列选自以下各项:(SEQ ID NO:13)RIDLSN、(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中,这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入,条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中,这些取代是保守取代。

[0101] 在某些实施例中,本披露涵盖包括(SEQ ID NO:29)或其变体的分离重组多肽,

[0102]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0103] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸,并且n是在5和20之间或n是在10和18之间,或者n是14、15、或16,任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、或所有,这些序列选自以下各项:(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中,这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入,条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中,这些取代是保守取代。

[0104] 在某些实施例中,本披露涵盖包括(SEQ ID NO:30)或其变体的分离重组多肽,

[0105]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLXLXGNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0106] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸,并且n是在5和20之间或n是在

10和18之间,或者n是14、15、或16,任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、或所有,这些序列选自以下各项:(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中,这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入,条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中,这些取代是保守取代。

[0107] 在某些实施例中,本披露涵盖包括(SEQ ID NO:31)或其变体的分离重组多肽,

[0108]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0109] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸,并且n是在5和20之间或n是在10和18之间,或者n是14、15、或16,任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、或所有,这些序列选自以下各项:(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中,这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入,条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中,这些取代是保守取代。

[0110] 在某些实施例中,本披露涵盖包括(SEQ ID NO:32)或其变体的分离重组多肽,

[0111]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLLLNANKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXIXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0112] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸,并且n是在5和20之间或n是在10和18之间,或者n是14、15、或16,任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、或所有,这些序列选自以下各项:(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中,这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入,条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中,这些取代是保守取代。

[0113] 在某些实施例中,本披露涵盖包括(SEQ ID NO:33)或其变体的分离重组多肽,

[0114]

GLTEIPTNLPETITXIXXXXNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nARCTSPRRLAN

[0115] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸,并且n是在5和20之间或n是在10和18之间,或者n是14、15、或16,任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、五个、或所有,这些序列选自以下各项:(SEQ ID NO:12)EIRLEQ、(SEQ ID NO:13)RIDLSN、(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中,这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入,条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中,这些取代是保守取代。

[0116] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:34)或其变体的分离重组多肽，

[0117]

AFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0118] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n是在5和20之间或n是在10和18之间，或者n是14、15、或16，任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、或所有，这些序列选自以下各项：(SEQ ID NO:13)RIDLSN、(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0119] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:35)或其变体的分离重组多肽，

[0120]

AFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0121] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n是在5和20之间或n是在10和18之间，或者n是14、15、或16，任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、四个、或所有，这些序列选自以下各项：(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0122] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:36)或其变体的分离重组多肽，

[0123] XLXGNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXX

[0124] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n是在5和20之间或n是在10和18之间，或者n是14、15、或16，任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、三个、或所有，这些序列选自以下各项：(SEQ ID NO:14)SLVLYG、(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0125] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:37)或其变体的分离重组多肽，

[0126] XLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXX

[0127] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n是在5和20之间或n是在10和18之间，或者n是14、15、或16，任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个、或所有，这些序列选自以下各项：(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0128] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:38)或其变体的分离重组多肽，

[0129] XLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXX

[0130] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n是在5和20之间或n是在10和18之间，或者n是14、15、或16，任选地其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个或所有，这些序列选自以下各项：(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。

[0131] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:23)或其变体的分离重组多肽，

[0132] XLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYLH

[0133] 其中各位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个，这些野生型Slit2-D2序列选自(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代，条件是这些氨基酸取代不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0134] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:65)或其变体的分离重组多肽，

[0135] XLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNXLXLXXNKLQTIAKGTFSPLRAIQXMXLXXNPFICDCHLKWLADYLH

[0136] 其中各位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，其条件是该多肽不包含以下野生型Slit2-D2序列中的至少一个、两个或所有，这些野生型Slit2-D2序列选自(SEQ ID NO:15)LLLLNA、(SEQ ID NO:16)LLSLYD、和(SEQ ID NO:17)TMHLAQ。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代，条件是这些氨基酸取代不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0137] 人源化的Slit2-MM3序列

[0138] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:39)或其变体的分离重组多肽，

[0139]

CPAACTCSNNXXXCXXKGLTEIPTNLPETITXIXXXXNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRC

[0140] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，针对本文中所披露的任何序列，[X]n是[X]m-[VLR或MM3的环序列]或[X]$_m$-[VLR或MM3的环序列]A，其中[X]$_m$任选地是X^1、X^1X^2、$X^1X^2X^3$、$X^1X^2X^3X^4$，其中X^1是H，X^2是T，X^3是N，并且X^4是P。

[0141] 在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0142] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:40)或其变体的分离重组多肽，

[0143]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITXIXXXXNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0144] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，

这些取代是保守取代。

[0145] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:41)或其变体的分离重组多肽，

[0146]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0147] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0148] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:42)或其变体的分离重组多肽，

[0149]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0150] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0151] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:43)或其变体的分离重组多肽，

[0152]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLXLXGNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0153] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0154] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:44)或其变体的分离重组多肽，

[0155]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0156] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0157] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:45)或其变体的分离重组多肽，

[0158]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLLLNANKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0159] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0160] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:46)或其变体的分离重组多肽，

[0161]

GLTEIPTNLPETITXIXXXXNTIKVIPPGAFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0162] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0163] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:47)或其变体的分离重组多肽，

[0164]

AFSPYKKLRXIXXXXNQISELAPDAFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0165] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0166] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:48)或其变体的分离重组多肽，

[0167]

AFQGLRSLNXLXLXXNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL[X]nRCTSPRRLAN

[0168] 其中每个位置处的X单独地且独立地是任何氨基酸，并且n在5和20之间，或者n在10和18之间，或者n是14、15、或16。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0169] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:49)或其变体的分离重组多肽，

[0170] LXLXGNKITELPKSLFEGLFSLQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL

[0171] 其中每个位置处的X单独地或独立地是任何氨基酸。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0172] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:50)或其变体的分离重组多肽，

[0173] LQXLXLXXNKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKIQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL

[0174] 其中每个位置处的X单独地或独立地是任何氨基酸。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0175] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:51)或其变体的分离重组多肽，

[0176] AFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMWLYXNPFICDCHLKWLADYL

[0177] 其中每个位置处的X单独地或独立地是任何氨基酸。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入，条件是这些氨基酸取代、缺失或插入不是X氨基酸。在某些实施例中，这些取代是保守取代。

[0178] 在某些实施例中，本披露涵盖包括(SEQ ID NO:58-63)或其变体的融合体或Slit2-MM3多肽，

[0179]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLYLNANKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHIWLYQNPFICDCHLKWLADYLHASIVNPHPYGGVDNARCTSPRRLAN(SEQ ID NO:58)

[0180]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLYLNANKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHIWLYQNPFICDCHLKWLADYLSIVNPHPYGGVDARCTSPRRLAN(SEQ ID NO:59)

[0181]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLYLNANKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHIWLYQNPFICDCHLKWLADYLIVQHASIVNPHPYGGVDARCTSPRRLAN(SEQ ID NO:60)

[0182]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLLLNANKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHIWLYQNPFICDCHLKWLADYLHASIVNPHPYGGVDNARCTSPRRLAN(SEQ ID NO:61)

[0183]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLLLNANKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHIWLYQNPFICDCHLKWLADYLSIVNPHPYGGVDARCTSPRRLAN(SEQ ID NO:62)

[0184]

CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETTTEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLSNNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLLLNANKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFSPLRAIQHIWLYQNPFICDCHLKWLADYLIVQHASIVNPHPVGGVDARCTSPRRLAN(SEQ ID NO:63)

[0185] 通过从蛋白质展示文库的选择，来自VLR的修饰的人序列

[0186] 使用蛋白质展示技术，例如，噬菌体展示、酵母表面展示、细菌展示、或无细胞系统，可以将人源化特异性结合试剂从变体蛋白的组合文库中分离出来。参见芬利(Finlay)

等人,分子生物学方法(Methods Mol.Biol.),2011,681:87-101;多尔蒂(Daugherty),现代结构生物学评论(Curr.Opin.Struct.Biol.),2007,17:474-480;盖和维特罗浦(Gai&Wittrup),现代结构生物学评论(Curr.Opin.Struct.Biol.),2007,17:467-473;周(Zhou)等人,MAbs.,2010,2:508-518;沈(Shen)等人,美国科学院院刊(Proc.Nat.Acad.Sci.USA),2005,102:5969-5974。典型地,独特的变体蛋白的集合是经展示平台通过从对应的突变核酸表达进行连接的。在将展示平台上所表达的变体蛋白与该靶分子暴露/混合后,将分子结合的变体进行鉴定和/或分离用于分析。典型地,通过将展示平台中有关的核酸测序来确定该蛋白质序列。例如,在酵母表面展示中,重组酵母细胞表达变体蛋白,其中该酵母细胞表达与细胞壁蛋白共轭的变体蛋白。该酵母细胞可以包含编码变体蛋白的质粒DNA,该变体蛋白在酵母细胞的表面上进行表达,并且将该质粒DNA测序提供变体蛋白的蛋白质序列。参见格拉(Gera)等人,使用酵母表面展示的蛋白质选择(Protein selection using yeast surface display),方法(Methods),2013,60(1):15-26。在噬菌体展示中,变体蛋白质典型地共轭到噬菌体外壳蛋白。基于细胞的系统也典型地依赖于与细胞表面蛋白共轭的变体蛋白的表达,例如,在细菌、酵母、和哺乳动物细胞中,并且该宿主细胞携带编码这些变体蛋白的质粒载体。还已经研发出了无细胞系统,其中该变体蛋白直接共轭到其编码mRNA上,称为核糖体展示或mRNA展示。

[0187] 在某些实施例中,本披露涵盖了生产人源化特异性结合试剂的方法,该方法包括以下步骤中的一个或多个,

[0188] a)提供特异性结合靶分子的七鳃鳗抗体序列,

[0189] b)鉴别富亮氨酸重复序列的文库,其由包括以下步骤的工艺进行:

[0190] 1)将七鳃鳗抗体序列与人富亮氨酸重复序列进行比较,并且在比较窗口内鉴别重叠的氨基酸位置、包含保守性取代的非重叠的氨基酸位置、和包含非保守性取代的非重叠的氨基酸位置;

[0191] 2)指定重叠的氨基酸位置为那些各自位置的氨基酸;

[0192] 3)向包含那些各自位置的保守取代的非重叠的氨基酸位置,指定人富含重复序列的氨基酸;

[0193] 4)指定在人富亮氨酸重复序列或七鳃鳗的氨基酸序列的氨基酸之间随机选择,以提供那些各自位置的变体富亮氨酸重复序列的文库;

[0194] b)制备包含各自位置的指定氨基酸的变体富亮氨酸重复序列的展示文库,并且与该靶分子混合来结合;

[0195] c)鉴别结合靶分子的变体富亮氨酸重复序列中的一个或多个,该靶分子提供人源化特异性结合试剂;并且

[0196] d)表达包括重组载体的表达系统中人源化的特异性结合试剂,该重组载体编码该人源化特异性结合试剂。

[0197] 在某些实施例中,该比较窗口长度是或是至少或大于50、100、250、500、或1000个氨基酸。在某些实施例中,该比较窗口是跨一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、或更多/所有以下结构域:LRRNT、LRR1、LRRV1、LRRV2、LRRV3、$(LRRVX)_n$、LRRVe、LRRCP、和LRRCT,其中X和n是指整数,例如,0、1、2、3、4、5、或6。

[0198] 在某些实施例中,本披露涵盖了识别多种人源化特异性结合试剂,并且人们通过

平衡多个因素，例如将结合亲和力最大化和将重叠人氨基酸位置的数目最大化，来选择所希望的候选物。

[0199]　在某些实施例中，如果氨基酸在具有根据以下氨基酸基团的类似特性的基团中，则这些氨基酸是保守取代：芳香族的-F Y W；疏水的-A V I L；带正电的-R K H；带负电的-D E；极性的-S T N Q。

[0200]　在某些实施例中，如果在人富亮氨酸序列中存在一个或多个氨基酸缺失，那么人们指定那些各自位置的七鳃鳗的氨基酸。

[0201]　在某些实施例中，该人富亮氨酸重复序列是Slit-D2。例如，多肽文库可以在各自位置处指定氨基酸用于鉴定人源化结合剂，其中该文库表达包括以下序列的LRRNT结构域：$CPX^1X^2CTCSX^3NX^4VDCRGKX^5X^6$(SEQ ID NO:22)，其中$X^1$至$X^6$是任何氨基酸。在某些实施例中，$X^1$是A或S，$X^2$是A或Q，$X^3$是N或G，$X^4$是I或T，$X^5$是G或R，$X^6$是L或H。

[0202]　在某些实施例中，该人富亮氨酸重复序列包括以下结构域中的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、或更多个：LRRNT、LRR1、LRRV1、LRRV2、LRRV3、LRRV4、LRRV5、LRRV6、LRRV7、LRRV8、LRRV9、LRRVe、LRRCP、和LRRCT。

[0203]　在某些实施例中，该人富亮氨酸重复序列包括以下结构域中的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、或所有：LRRNT、LRR1、LRRV1、LRRV2、LRRV3、LRRVe、LRRCP、和LRRCT。

[0204]　在某些实施例中，该人富亮氨酸重复序列包括以下结构域中的一个、两个、三个、四个、五个、或所有：LRRV1、LRRV2、LRRV3、LRRVe、LRRCP、和LRRCT。

[0205]　在某些实施例中，该人富亮氨酸重复序列包括以下结构域中的一个、两个、三个、四个、或所有：LRRV2、LRRV3、LRRVe、LRRCP、和LRRCT。

[0206]　在某些实施例中，该人富亮氨酸重复序列包括以下结构域中的一个、两个、三个、或所有：LRRV3、LRRVe、LRRCP、和LRRCT。

[0207]　在某些实施例中，该人富亮氨酸重复序列包括以下结构域中的一个、两个、或所有：LRRVe、LRRCP、和LRRCT。

[0208]　在某些实施例中，该人富亮氨酸重复序列包括以下结构域中的一个或两个：LRRCP和LRRCT。

[0209]　在某些实施例中，本披露涵盖了人富亮氨酸重复序列的文库可以包含结构域(如LRRNT、LRR1、LRRV1、LRRV2、LRRV3、LRRVe、LRRCP、和LRRCT)的组合，这些结构域被所希望的序列取代以允许在肽文库表达系统中的高水平的表达。例如，李(Lee)等人，美国国家科学院院刊(Proc NatlAcad Sci U S A)，2009，106(31)：12891-6，报道了内化蛋白B的LRRNT、LRR1、和LRRV1的取代允许在细菌中高水平表达。在某些实施例中，本披露涵盖了文库，这些文库包含与如本文中所产生的人富亮氨酸重复文库的结构域$(LRRVX)_n$、LRRVe、LRRCP、和LRRCT共轭的内化蛋白B的LRRNT、LRR1、和LRRV1，其中X和n是指整数，例如，其中X和n是指整数，例如，3、4、5、6、7、或8。

[0210]　融合蛋白

[0211]　在某些实施例中，本披露涉及可变淋巴细胞受体，该可变淋巴细胞受体任选地被修饰为包括如本文中所披露的人源化氨基酸序列(其与由Fc受体所识别的人抗体恒定区共轭)和足以用于人免疫系统的效应子功能的补体。在某些实施例中，本披露涉及融合蛋白，该融合蛋白包括本文中所披露的修饰人氨基酸序列和能够提供效应子功能，例如，引发体

内或体外抗体依赖性细胞毒性，以及任选地与野生型人抗体可比较的半衰期的Fc序列或其片段。治疗抗体典型地采用完整的IgG分子。IgG1Fc可以与激发效应子功能的Fcγ受体相互作用。Fc包含补体活化剂C1q的结合位点。新生儿Fc受体(FcRn)的结合位点影响半衰期。

[0212] 天然产生的抗体包含附接到Fc区域上的Fab抗原结合位点臂。该IgG Fc区域是包含CH3结构域和CH2结构域的同源二聚体。这些CH2结构域典型地被糖基化直至在Asn297。IgG Fc Ch2结构域包含FcgammaRI、FcgammaRII、FcgammaRIII和C1q效应子配体的相互作用位点，这些相互作用位点负责效应机理如抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

[0213] 在某些实施例中，本披露涵盖Fc融合蛋白，其中该Fc序列能够引发抗体依赖性细胞毒性并且包含FcgammaRI、FcgammaRII、FcgammaRIII、补体活化剂C1q、新生儿Fc受体(FcRn)、及其组合的结合位点。在某些实施例中，本披露涵盖了该融合蛋白是修饰的人序列和Fc序列的单链融合体。鲍尔斯(Powers)等人报道了单链Fv-Fc融合体，这些单链Fv-Fc融合体能够使用人外周血单核细胞作为效应子介导对肿瘤靶细胞的抗体依赖性细胞毒性。免疫法杂志(J Immunol Methods)，2001，251(1-2)：123-35。

[0214] 在某些实施例中，本披露涵盖了Fc序列可以包含某些缺失和突变，例如，CH3结构域。沃兹尼亚克-诺普(Wozniak-Knopp)等人报道了制备人IgG1Fc区域，其中将CH3结构域的C末端处的环序列进行随机化。这些蛋白能够提供类似于野生型抗体的抗原结合、效应子功能和体内半衰期。蛋白质工程(Protein Engineering)，设计和选择(Design and Selection)，2010，23(4)：289-297。

[0215] 在某些实施例中，本披露涵盖包括本文中所披露的融合蛋白的重组载体和包括这些载体的表达系统。

[0216] 在某些实施例中，本披露涉及包括多肽的组合物，该多肽包括SEQ ID NO:19、20、24或其具有大于83%、85%、90%、95%、97%、98%、或99%序列一致性或大于85%、90%、95%、97%、98%、或99%序列相似性的变体。在某些实施例中，该变体包括一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、或十个个氨基酸取代。在某些实施例中，这些氨基酸取代是保守取代。

[0217] 在某些实施例中，VLR或修饰的VLR或片段可以与T细胞抗原受体(如CD3-ζ)的信号转导组分融合。在某些实施例中，该T细胞抗原受体的信号转导组分是具有免疫受体酪氨酸基活化基序的肽，该基序具有共有序列YXXLXXXXXXXXYXXL(SEQ ID NO:52)，其中X是任何氨基酸，L是亮氨酸或异亮氨酸，其中SEQ ID NO:15任选地在中间区段XXXXXXXX(SEQ ID NO:53)内具有一个或两个X氨基酸缺失。该免疫受体酪氨酸基活化基序(已加下划线的)是在部分CD3-ζ序列DPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQL<u>YNELNLGRREEYDVL</u>DKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ(SEQ ID NO:54)或片段或变体中，例如，这些变体具有1个、2个、或3个氨基酸缺失、添加，或取代变体，或与其具有大于50%、60%、70%、80%、90%、95%或更大一致性的序列。

[0218] 在某些实施例中，该T细胞抗原受体的信号转导组分是具有免疫受体酪氨酸基活化基序(已加下划线的)的肽，该肽具有免疫球蛋白ε受体亚基γ前体EPQLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSYEKSDGV<u>YTGLSTRNQETYETL</u>KHE(SEQ ID NO:55)片段或其变体的序列或具有与其大于50%、60%、70%、80%、90%、95%或更大一致性的序列。

[0219] 使用方法

[0220] B细胞呈递抗原给T细胞，典型刺激B细胞分化成更特化的细胞，如未成熟和成熟的浆细胞。浆细胞生产大量的抗体。多发性骨髓瘤是在浆细胞中形成的癌症。B细胞癌变通过特异性针对CD20表面抗原的治疗性抗体来有效治疗，其导致正常和恶性B细胞的耗尽。尽管在治疗B细胞淋巴瘤和白血病中成功，但是抗CD20抗体在治疗多发性骨髓瘤中不是有效的，因为当成熟B细胞分化成浆细胞时失去了CD20表面表达。还通过许多其他细胞类型和组织表达在当前研究下用于靶向多发性骨髓瘤浆细胞的其他浆细胞表面抗原，因为不可接受的副作用的可能性，这使得浆细胞寻靶复杂化。目前，还没有单克隆抗体基治疗可用于患有多发性骨髓瘤的患者。用化疗药物和自身造血干细胞移植的治疗延长了总体存活期，但是有时并不能治愈受试者。因此，需要鉴定改进的治疗方法。

[0221] 在某些实施例中，本披露涵盖了通过向对其有需要的受试者给予一个有效量的本文中所披露的融合蛋白或多肽或其片段，治疗浆细胞恶性肿瘤，如多发性骨髓瘤。在某些实施例中，该融合蛋白包括MM3序列或人源化MM3序列和T细胞抗原受体的信号转导组分，如人类Fc序列。在某些实施例中，将该融合蛋白与来那度胺和地塞米松、硼替佐米、或其组合结合给予。在某些实施例中，将该治疗与自体或异体干细胞移植结合。

[0222] 在某些实施例中，本披露涵盖治疗或预防癌症，包括向对其有需要的受试者基于有效量的VLR基融合蛋白，该融合蛋白包括结合至肿瘤相关抗原的本文中所披露的修饰的人序列。该融合蛋白可以包括VLR或修饰的VLR序列或人源化VLR序列、Slit2-VLR序列，该融合蛋白使用本文中报道的方法产生。

[0223] 在某些实施例中，该VLR基融合蛋白结合选自以下的与肿瘤相关抗原:CD20、CD20、CD30、CD33、CD52、EpCAM、上皮细胞粘附分子、gpA33、糖蛋白A33、黏蛋白、TAG-72、肿瘤相关糖蛋白72、叶酸结合蛋白、VEGF、血管内皮生长因子、整合素αVβ3、整合素α5β1、FAP、成纤维细胞活化蛋白、CEA、癌胚抗原、腱生蛋白、Le^{y}、Lewis Y抗原、CAIX、碳酸酐酶IX、表皮生长因子受体(EGFR;又称为ERBB1)、ERBB2(又称为HER2)、ERBB3、MET(又称为HGFR)、胰岛素样生长因子1受体(IGF1R)、肝配蛋白受体A3(EPHA3)、肿瘤坏死因子(TNF)-相关的诱导凋亡的配体受体1(TRAILR1;又称为TNFRSF10A)、TRAILR2(又称为TNFRSF10B)和核因子κB配体的受体活化因子(RANKL;又称为TNFSF11)及其片段。

[0224] 在某些实施例中，受试者是处于以下各项的风险，表现出以下各项症状，或诊断患有以下各项:淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、乳癌、前列腺癌、结肠直肠癌、胃癌、肺癌、皮肤癌、膀胱癌、脑癌、肾癌、子宫内膜癌、胰腺癌、和甲状腺癌。

[0225] 在某些实施例中，考虑到的方法包括进一步给予第二抗癌剂如贝伐单抗、如吉非替尼、厄洛替尼、替莫唑胺、多西他赛、顺铂、5-氟尿嘧啶、吉西他滨、替加氟、雷替曲塞、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、羟基脲、阿霉素、博莱霉素、多柔比星、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、丝裂霉素C、放线菌素D、光辉霉素、长春新碱、长春碱、长春地辛、长春瑞滨紫杉醇、泰索帝、依托泊苷、替尼泊苷、安吖啶、拓扑替康、喜树碱、硼替佐米、阿那格雷、他莫昔芬、托瑞米芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬、吲哚昔芬(iodoxyfene)、氟维司群、比卡鲁胺、氟他胺、尼鲁米特、环丙孕酮、戈舍瑞林、亮丙瑞林、布舍瑞林、甲地孕酮、阿那曲唑、来曲唑、伏氯唑(vorazole)、依西美坦、非那雄胺、马立马司他、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、达沙替尼、伊马替尼、考布他汀、沙利度胺和/或来那度胺(enalidomide)或其组合。

[0226] 在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和一种或多种其他

抗癌剂来治疗或预防乳癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和曲妥珠单抗和/或拉帕替尼来治疗或预防乳癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和多西他赛和环磷酰胺来治疗或预防乳癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和多西他赛、卡铂、和曲妥珠单抗来治疗或预防乳癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和环磷酰胺、多柔比星、和5-氟尿嘧啶(5-FU)来治疗或预防乳癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和多西他赛、多柔比星、和环磷酰胺来治疗或预防乳癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和多柔比星和环磷酰胺，随后紫杉醇或多西他赛，来治疗或预防乳癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和5-FU、表柔比星、和环磷酰胺，随后多西他赛或紫杉醇，来治疗或预防乳癌。

[0227] 在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和一种或多种其他抗癌剂来治疗或预防前列腺癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和亮丙瑞林、戈舍瑞林、或布舍瑞林来治疗或预防前列腺癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和氟他胺、比卡鲁胺、恩杂鲁胺、或尼鲁米特来治疗或预防前列腺癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和酮康唑或氨鲁米特来治疗或预防前列腺癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和、比卡鲁胺、卡巴他塞、比卡鲁胺、地加瑞克、地舒单抗、多西他赛、恩杂鲁胺、卡巴他塞、亮丙瑞林、强的松、地舒单抗、西普鲁塞T、或二氯镭223及其组合来治疗或预防前列腺癌。

[0228] 在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和一种或多种其他抗癌剂来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和5-FU、亚叶酸、或卡培他滨或其组合来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和卡培他滨和奥沙利铂来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和5-FU、亚叶酸、和奥沙利铂来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和亚叶酸、5-FU、和伊立替康来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和亚叶酸、5-FU、奥沙利铂、和伊立替康来治疗或预防结肠癌。

[0229] 在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和贝伐单抗或西妥昔单抗来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和5-FU和亚叶酸任选地用贝伐单抗来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和卡培他滨任选地用贝伐单抗来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和伊立替康任选地用西妥昔单抗来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和西妥昔单抗来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和帕木单抗来治疗或预防结肠癌。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和瑞格菲尼来治疗或预防结肠癌。

[0230] 在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和选自以下各项的化学治疗剂来治疗或预防肺癌：长春瑞滨、依托泊苷、丝裂霉素C、吉西他滨、伊立替康、培美曲塞、吉非替尼、埃罗替尼、拉帕替尼、克唑替尼、和长春花生物碱或其组合。在某些实施例

中，该长春花生物碱是长春碱、长春新碱、长春地辛、或长春瑞滨。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和化学治疗剂来治疗或预防肺癌，该化学治疗剂是贝伐单抗、帕木单抗、扎芦木单抗、尼妥珠单抗、马妥珠单抗、或西妥昔单抗。在某些实施例中，本披露涵盖了使用本文中所披露的融合蛋白和铂基试剂和/或紫杉烷(例如，紫杉醇和多西他赛或其组合)来治疗或预防肺癌。

[0231] 在某些实施例中，本披露涵盖了治疗或预防脑癌、多形性成胶质细胞瘤、少突神经胶质瘤、原始神经外胚叶瘤、室管膜瘤、或神经胶质瘤。在某些实施例中，任选地将该融合蛋白与替莫唑胺、甲基苄肼、卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)、长春新碱、及其组合结合给予。在某些实施例中，结合甲基苄肼、洛莫司汀(CCNU)和长春新碱。在某些实施例中，任选地将融合蛋白与伊立替康、顺铂、卡铂、甲氨蝶呤、依托泊苷、博来霉素、长春碱、放线菌素(放线菌素D)、环磷酰胺、或异环磷酰胺结合给予。

[0232] 在某些实施例中，本披露涵盖了给予本文中披露的融合蛋白与替莫唑胺的组合。成胶质细胞瘤的治疗包括在放射治疗期间和之后进行化疗。平均来说，外科手术和放射治疗后化疗可以最初减小肿瘤尺寸。在放射治疗期间和放射治疗后六个月使用替莫唑胺导致中位存活期的显著增加，伴随最小的额外毒性。目前这种治疗方案针对成胶质细胞瘤的大部分案例是标准的，其中该患者没有在临床试验中登记。替莫唑胺似乎是通过使肿瘤细胞对辐射过敏来工作的。美国食品药物管理局批准阿瓦斯丁(贝伐单抗)来治疗在标准治疗后处于进展中的患有成胶质细胞瘤的患者。

[0233] 在某些实施例中，本披露涉及通过增强对流递送(CED)给予本文中所披露的组合物用于管理脑中的癌症或肿瘤。CED是在导管放置后利用流体压力梯度通过直接输注到脑胞间隙中来给予组合物的方法。

[0234] 除治疗癌症和浆细胞恶性肿瘤之外，分泌抗体的浆细胞的耗尽还可以用来治疗抗体介导的自体免疫(例如，红斑狼疮)和过敏性疾病，如通过B细胞耗尽用抗CD20单克隆抗体未能缓解的那些，因为通过缺乏CD20抗原的长寿命浆细胞产生有害的自身抗体和过敏原反应性的抗体。

[0235] 在某些实施例中，本披露涉及治疗自身免疫性疾病，包括向对其有需要的受试者给予一个有效量的MM3融合体或人源化Slit2-MM3融合体。在某些实施例中，该自身免疫性疾病是红斑狼疮、多发性硬化症、肌萎缩性侧索硬化、自身免疫性肝炎、自身免疫性胰腺炎、贝切特氏病、乳糜泻、1型糖尿病、格林-巴利综合征、银屑病关节炎、和类风湿关节炎。

[0236] 实验

[0237] 具有独特的结合特异性的单克隆VLR抗体

[0238] 结合大进化距离的从根本上不同的蛋白质结构表明VLR抗体可以检测因结构或耐受性的原因不能通过常规抗体来检测的抗原(即，宿主防止产生识别“自身”并且由此导致自身免疫性并发症的抗体的需要)。七鳃鳗的进化距离和VLR抗体的完全不同的蛋白结构使其成为用于发现生物标记的理想试剂，该生物标记因为结构和耐受性的原因不能使用常规抗体进行检测。VLR抗体MM3的结合特征不对应于任何已知的细胞表面抗原，从而支持VLR抗体的独特的抗原识别特性。已经鉴定为了结合具体的人造血细胞群的单克隆七鳃鳗VLR抗体。若干这些VLR抗体的结合特异性的分析指示出它们识别抗原结构，针对这些抗原结构未产生常规哺乳动物单克隆抗体。

[0239] 通过将编码抗体的cDNA转染到人类HEK293细胞中，来产生重组VLR抗体。这些重组VLR抗体被分泌到细胞上清液中，并且随后用于确定细胞特异性。这些VLR序列的重组版本包括掺入的具有编码组氨酸残基的6个密码子的片段，用于有效纯化单克隆VLR抗体连同用于流式细胞术检测结合的VLR抗体。

[0240] 使用人类Slit2-D2作为支架的人源化VLRB克隆RBC36

[0241] 韩(Han)等人报道了，2008，科学(Science)321:1834-183，通过使用我们七鳃鳗VLR2913晶体结构的分子置换，在1.67 Å分辨率下，在具有源自人类0型红细胞的H抗原的H三糖的复合物中VLR RBC36胞外结构域(ECD)的晶体结构。II型H抗原三糖是α-1-Fucp-(1→2)-β-d-Galp-(1→4)-β-d-GlcNacp-OH。

[0242] 为了使用Slit2-D2支架产生人源化VLRB抗体，将来自RBC36的可变氨基酸位置嫁接到Slit-D2(参见图7)上的对应位置上，产生以下序列(SEQ ID NO:1)，

[0243]

CPAACTCSNNTVDCRSKGLTEIPTNLPETITIIYLHDNTIKVIPPGAFSPYKKLREIYIGSNQISELAPDAFQGLRSLNVLDLGTNKITELPKSLFEGLFSLQELFLCCNKINCLRVDAFQDLHNLNHLALDQNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMYLFGNPFICDCHLKWLADYLHIAMRWDGKAVNDPDSARCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRC.

[0244] 野生型Slit-D2(参见图7，上，SEQ ID NO:2)由206个已加下划线的氨基酸组成，一些氨基酸从LRRCT区域中去除。GSLHCPAACTCSNNIVDCRG KGLTEIPTNL PETITEIRLE QNTIKVIPPG AFSPYKKLRRIDLSNNQISE LAPDAFQGLR SLNSLVLYGN KITELPKSLF EGLFSLQLLLLNANKINXLR VDAFQDLHNL NLLSLYDNKL QTIAKGTFSP LRAIQTMHLAQNPFICDCHL KWLADYLHTN PIETSGARCT SPRRLANKRI GQIKSKKFRCSAAAHHHHHH。

[0245] 将来自VLRB克隆RBC36的41个氨基酸嫁接到Slit-D2支架的剩余196个氨基酸上，这196个氨基酸包括在LRRNT、LRR1、LRRV(红色与灰色背景)中的26个氨基酸的取代、和15个氨基酸到编码可变插入环的LRRCT区域的插入(红色与灰色背景并且已加下划线)。在最终的213个氨基酸人源化序列中，41个源自七鳃鳗VLR，并且172个源自人Slit2-D2。(人类的%=172/213=80.8%；七鳃鳗VLR%=41/213=19.2%)。可变位置中的一些不与RBC36-H三糖晶体结构中的抗原接触。例如，LRRNT中没有氨基酸并且LRR1中只有一个残基与H三糖接触。因此，它可能只对取代接触残基以及可能一些邻近残基的抗原是必要的。然而，当VLR抗原晶体结构或突变结合位点数据不可得时，所有可变氨基酸位置的取代可以用作将VLRB单克隆抗体人源化的一般方法。例如，SEQ ID NO:24包含RBC38的环和嫁接到Slit2-D2中的三个氨基酸，命名“Slit-M4”。Slit-M4结合至II型H抗原三糖，该II型H抗原三糖是α-1-Fucp-(1→2)-β-d-Galp-(1→4)-β-d-GlcNacp-OH，

[0246] CPAACT CSNNIVDCRG KGLTEIPTNL PETITEIRLE QNTIKVIPPGAFSPYKKLRR IDLSNNQISE LAPDAFQGLR SLNSLDLGGN KITELPKSLFEGLFSLQLLL LNANKINXLR VDAFQDLHNL N L L S L D D N K L Q T I A K G T F S P L R A I Q T M H L A Q N P F I C D C H L KWLADYLSIAMRWDGKAVNDPDSARCTSPRRLANKRI GQIKSKKFRC(SEQ ID NO:24)。在Slit-M4中，214个氨基酸位置中的195个是人类的(91%)。

[0247] VLR凹面上的每个β链(通过LRRNT、LRR1、LRRV、LRRVe和LRRCP所编码的)具有4个可变位置，其由xLxLxx基序所定义的，其中x是任何氨基酸(注意此基序中的亮氨酸残基偶尔被其他疏水性氨基酸替换，这些疏水性氨基酸包括异亮氨酸、缬氨酸和甲硫氨酸)。基序中

的亮氨酸不使抗原接触，而是面对蛋白内部，通过对位于凸面上的保守苯丙氨酸残基包装，以形成LRR螺线管的疏水核，该凸面还面对该内部。在凹面上，该可变氨基酸位置朝外，并且连同LRRCT中的可变插入环一起，共同形成抗原结合表面。由于可变氨基酸位于形成刚性二级结构的β链上，并且它们一直位于xLxLxx基序中的四个位置之一，因此来自VLR至Slit2-D2支架的残基的对应位置可以从初级氨基酸序列，甚至没有结构数据的情况下确定。

[0248] 使用RBC36作为实例，Asp153位于LRRVe LRR基序(HLALDQ)的第三个可变位置中。该Slit2-D2的LRRVe中的LRR基序序列是LLSLYD，这样使得将Asp153从RBC36嫁接到Slit2-D2支架上，它仅需要交换LRRVexLxLXx基序的第三位置处的对应氨基酸。在这种情况下，取代将是RBC36的天冬氨酸对Slit2-D2的酪氨酸(例如，来自Slit2-D2的LRRVe，从LLSLYD变为LLSLDD)。尽管原则上，任何氨基酸可以用于可变位置上，但是氨基酸使用偏向氨基酸子集。酪氨酸(Tyr)是最常用的氨基酸，接着是其他芳香族氨基酸(苯丙氨酸(Phe)、色氨酸(Trp)和组氨酸(His))、天冬酰胺(Asn)和天冬胺酸(Asp)。此外，在四个可用VLR:抗原晶体结构中，大部分抗原接触是通过此氨基酸子集形成的(图11)。在具有接触H三糖的12个氨基酸的RBC36中，存在2个Tyr、2个Phe、1个Trp、2个Asp、和1个His，这样使得12个抗原结合氨基酸中的9个来自此残基子集。在其他三个VLR结构中观察到了类似模式。同时，在所有四个VLR:抗原晶体结构中，更多个C末端LRR模块(LRRVe、LRRCP和LRRCT，图7)使得大部分抗原接触，并且LRRNT只使得与结构之一(VLR4-BclA)中的抗原接触，并且即使如此，这只是一个单一的氨基酸。因此，即使在没有VLR抗原晶体结构数据的情况下，这些观察可以用于指导选择残基嫁接到Slit2-D2支架上。

[0249] 在SLIT2支架上的VLRB LRRCT环的融合可以适于变体。VLR和SLIT结构二者中LRRCT环在α螺旋之前(图13中所示)。具体考虑的变体可以添加或缺失1个、2个、3个、或4个氨基酸，其中SLIT2序列端和VLR环序列在α螺旋后开始。VLR的LRRCT环长度和序列组成可以变化，因此人们可以添加氨基酸和实验确定的最佳序列-在α螺旋:环接合点处的另外的残基，来得到了在用于结合的正确方向的环。在该环的另一侧，其中它融合回SLIT2支架，在定义LRRCT环末端的VLR和SLIT2二者中，在R或K残基前存在保守的半胱氨酸(图13)。在某些实施例中，本披露涉及包括在LRRCT环末端处添加或缺失1、2、3、或4个氨基酸的变体。

[0250] 因此，在某些实施例中，本披露涵盖了本文中Slit2-D2序列的变体，其中该人源化Slit2VLR序列或人源化Slit2-MM3序列包括片段(SEQ ID NO:78)CDCH**LKWLADYL**-[X]$_m$-[VLR或MM3的环序列]-X^{5}C或CDCH**LKWLADYL**-[X]$_m$-[VLR或MM3的环序列]-AX^{5}C，其中粗体的是α螺旋，[X]$_m$任选地是X^1、X^{1}X^2、X^{1}X^{2}X^3、X^{1}X^{2}X^{3}X^4，其中X^{1}是H，X^{2}是T，X^{3}是N，X^{4}是P，并且X^{5}是R或K。

[0251] VLR的人源化将不限于Slit家族蛋白。存在许多具有与七鳃鳗VLR的结构相似性(例如，大于30%-40%序列一致性)的其他人LRR基受体，该七鳃鳗VLR也可以用作支架。此实例仅用来说明一般人源化概念。除可变氨基酸位置的取代以外，对远离抗原结合位点的氨基酸做小改变也可以是必须的，以便优化人源化VLR的构象和表面互补性。

[0252] 人源化VLRB融合体

[0253] 通过许多治疗用抗体的体内肿瘤细胞清除是由抗体的恒定区(Fc)介导的。人IgG1的恒定区经由CH2结构域结合至补体和Fcγ受体(FcγR)，这有利于经由补体依赖细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、和通过FcγR承载巨噬细胞的抗体调理的细胞的吞噬

细胞吞噬杀死靶细胞。由VLR的抗原结合域和人抗体的恒定区(如IgG1)组成的融合蛋白将使VLR抗体的独特的抗原检测与免疫清除的人类机制偶联。人IgG抗体的恒定区还增加了人血浆中抗体的半衰期。FcRn结合至IgG恒定区的CH2和CH3结构域,并且有利于抗体从胞吞区室中再循环,这延长其在循环中存在并且增加其作为治疗的功效。

[0254]　制备载体用于表达与以下各项的Fc区融合的VLR:(1)猕猴IgG1、(2)人IgG1和(3)小鼠IgG2a(图5)。在延长因子1α(EF1α)启动子的控制下,表达构建体在慢病毒基载体中,该启动子允许通过在包装细胞系中的构建体的转染后的瞬时转染或稳定慢病毒转导来表达。在HEK-293和CHO细胞中,两种方法都用于表达VLR。该表达载体还包含用于分选具有高度表达的细胞的IRES-GFP序列。使用静置培养CELLine生物反应器烧瓶(INTEGRA生物科学公司)获得MM3 VLR-IgG1-Fc蛋白。

[0255]　在某些实施例中,本披露涵盖将修饰的人氨基酸序列、人源化VLRB序列,与人类Fc序列,典型地共有序列共轭,以在大肠杆菌中作为与人IgG1Fc的融合体表达它们。某些具体化的Fc融合蛋白的人IgG1 Fc序列部分的氨基酸序列如下:

[0256]

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:18)

[0257]　人源化VLRB序列-Fc序列融合蛋白的某些实施例的完整氨基酸序列如下M-Fc序列-人源化VLRB序列MDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKCPAACTCSNNTVDCRSKGLTEIPTNLPETITIIYLHDNTIKVIPPGAFSPYKKLREIYLGSNQISELAPDAFQGLRSLNVLDLGTNKITELPKSLFEGLFSLQELFLCCNKINCLRVDAFQDLHNLNHLALDQNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMYLFGNPFICDCHLKWLADYLHIAMRWDGKAVNDPDSARCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRC(SEQ ID NO:19)

[0258]　M-人源化VLRB序列-Fc序列

[0259]

MCPAACTCSNNTVDCRSKGLTEIPTNLPETITIIYLHDNTIKVIPPGAFSPYKKLREIYLGSNQISELAPDAFQGLRSLNVLDLGTNKITELPKSLFEGLFSLQELFLCCNKINCLRVDAFQDLHNLNHLALDQNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMYLFGNPFICDCHLKWLADYLHIAMRWDGKAVNDPDSARCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS(SEQ ID NO:20)

[0260]　人们可以使用高压匀浆,和包涵体,来裂解表达人源化VLRB序列和Fc序列融合蛋白的大肠杆菌细胞。在后续蛋白质折叠,选择性沉淀,和过滤后,人们可以采用色谱纯化步骤(例如离子交换色谱、蛋白A、或羟磷灰石层析)。

[0261]　在某些实施例中,VLR或修饰的VLR或片段可以与T细胞抗原受体(如CD3-ζ)的信号转导组分融合。在某些实施例中,该T细胞抗原受体的信号转导组分是具有免疫受体酪氨酸

基活化基序的肽，该基序具有共有序列YXXLXXXXXXXXYXXL(SEQ ID NO:52)，其中X是任何氨基酸，L是亮氨酸或异亮氨酸，其中SEQ ID NO:52任选地在中间区段XXXXXXXX(SEQ ID NO:53)内具有一个或两个X氨基酸缺失。该免疫受体酪氨酸基活化基序(已加下划线的)是在部分CD3-ζ序列AQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR(SEQ ID NO:54)或片段或变体中，例如，这些变体具有1个、2个、或3个氨基酸缺失、添加，或取代变体，或与其具有大于50％、60％、70％、80％、90％、95％或更大一致性的序列。

[0262] 在某些实施例中，该T细胞抗原受体的信号转导组分是具有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(已加下划线的)的多肽，该多肽具有免疫球蛋白ε受体亚基γ前体IPAVVLLLLLLVEQAAALGEPQLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSYEKSDGVYTGLSTRNQETYETLKHEKPPQ(SEQ ID NO:55)片段或其变体的序列或具有与其大于50％、60％、70％、80％、90％、95％或更大一致性的序列。

[0263] 人源化RBC36与H三糖的结合

[0264] 将Slit2-D2突变体克隆到包含IgG1-Fc的慢病毒表达载体中，并且通过瞬时转染在HEK-293T细胞中进行表达。Slit2-D2突变体的表达是通过用抗IgG-HRP共轭的第二抗体对上清液进行蛋白质印迹来证实的。这些上清液用来染色CHO-H细胞系，并且通过流式细胞术用抗IgG-PE共轭的第二Ab检测结合。作为阳性对照，还将CHO-H细胞用野生型RBC36-IgG-Fc融合蛋白进行染色。Slit-M4-IgG-Fc蛋白染色这些CHO-H细胞，证实H三糖特异性可以转染到Slit2-D2支架(图6)。

[0265] 人浆细胞特异性VLR mAb(MM3)

[0266] 通过用人类多发性骨髓瘤细胞免疫七鳃鳗来产生浆细胞特异性VLR mAb(MM3)。之前已经制备了针对人浆细胞抗原的小鼠抗体，但是没有是浆细胞特异性的。MM3 VLR mAb结合至正常(25个所测试供体样本中的25个)和恶性人浆细胞(32个骨髓瘤患者中的27个)，但是并没有结合至其他B或造血系细胞(图9)。Mm3还识别非人类灵长动物中(猕猴和乌白眉猴(sooty mangabes))的浆细胞，但它并不结合至小鼠浆细胞。为了证实来自猕猴骨髓的$MM3^{+}$细胞是浆细胞，将它们通过流式细胞术进行分选，并且通过透射电子显微术进行分析。这些$MM3^{+}$细胞具有小而密的偏心核和具有大大扩展的粗面内质网和高尔基体的大细胞质容积，这些是浆细胞的特征。非人类灵长动物中浆细胞上的MM3抗原的保守性提供了用于评估VLR抗体靶向并消耗体内浆细胞的能力的模型系统。基于CD19和CD138的表达，使用多参数流式细胞术来分析来自健康人类供体的人骨髓源浆细胞亚群上的MM3的表达(图10)。该MM3 VLR mAb染色所有四种CD38hi浆细胞亚群，包括长寿命浆细胞群(CD19-、CD27+、CD138+、CD38hi)。它还染色不表达CD138(最广泛使用的浆细胞标记)的人类骨髓中的Ab分泌细胞的亚群。

[0267] 在某些实施例中，本披露涉及包括MM3抗原结合域序列(SEQ ID NO:56)的多肽或融合体

[0268]

ACPSQCSCPGTDVNCHERRLASVPAEIPTTTKILRLYINQITKLEPGVFDRLTQLTQLGLWDNQLQALPEGVFDRLVNLQKLYLNQNQLLALPVGVFDKLTQLTYLDLNNNQLKSIPRGAFDNLKSLTHIWLYGNPWDCECSDILYLKNWIVQH

ASIVNPHPYGGVDNVKCSGTNTPVRAVTEASTSPSKCPG或其变体。
[0269]　在某些实施例中，这些变体是与其具有大于80％、85％、90％、95％、97％、98％百分比一致性或相似性的那些。在某些实施例中，这些变体包含一个、两个、或三个氨基酸取代、缺失或插入。在某些实施例中，这些取代是保守取代。
[0270]　MM3全序列，包括信号肽和茎(已加下划线的)(SEQ ID NO:57)MWIKWIATLVAFGALVQSAVACPSQCSCPGTDVNCHERRLASVPAEIPTTTKILRLYINQITKLEPGVFDRLTQLTQLGLWDNQLQALPEGVFDRLVNLQKLYLNQNQLLALPVGVFDKLTQLTYLDLNNNQLKSIPRGAFDNLKSLTHIWLYGNPWDCECSDILYLKNWIVQHASIVNPHPYGGVDNVKCSGTNTPVRAVTEASTSPSKCPGYVATTTTPTTTTPEFIPETTTSPQPVITTQKPKPLWNFNCTSIQERKNDGGDCGKPACTTLLNCANFLSCLCSTCALCRKR
[0271]　MM3 VLR mAb的人源化
[0272]　在某些实施例中，本披露涵盖了包括(SEQ ID NO:64)或其变体的Slit2-MM3多肽，CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLR ILRLYI NQISELAPDAFQGLRSLNQLVLWDNKITELPKSLFEGLFSLQ LLYLNA NKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNN NKLQTIAKGTFSPLRAIQ HIWLYG NPFICDCHLKWLADYLHASIVNPHPYGGVDN ARCTSPRRLAN;
[0273]　(SEQ ID NO:74)或其变体，CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLR ILRLYI NQISELAPDAFQGLRSLNQLVLWDNKITELPKSLFEGLFSLQ LLYLNA NKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNN NKLQTIAKGTFSPLRAIQ HIWLYG NPFICDCHLKWLADYLHHASIVNPHPYGGVDN ARCTSPRRLAN;
[0274]　(SEQ ID NO:75)或其变体，CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLR ILRLYI NQISELAPDAFQGLRSLNQLVLWDNKITELPKSLFEGLFSLQ LLYLNA NKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNN NKLQTIAKGTFSPLRAIQ HIWLYG NPFICDCHLKWLADYLHTHASIVNPHPYGGVDN RCTSPRRLAN;
[0275]　(SEQ ID NO:76)或其变体，CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLR ILRLYI NQISELAPDAFQGLRSLNQLVLWDNKITELPKSLFEGLFSLQ LLYLNA NKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNN NKLQTIAKGTFSPLRAIQ HIWLYG NPFICDCHLKWLADYLHTNHASIVNPHPYGGVDN ARCTSPRRLAN;或
[0276]　(SEQ ID NO:77)或其变体，CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLR ILRLYI NQISELAPDAFQGLRSLNQLVLWDNKITELPKSLFEGLFSLQ LLYLNA NKINCLRVDAFQDLHNLNYLDLNN NKLQTIAKGTFSPLRAIQ HIWLYG NPFICDCHLKWLADYLHTNPHASIVNPHPYGGVDN RCTSPRRLAN。
[0277]　如图11所描述，VLR可变位置中的氨基酸子集使大部分抗原接触。在MM3 VLR mAb的凹面上的β链包含总计这些氨基酸残基中的13个(4个Tyr、2个Trp、4个Asn、2个Asp和1个His)。人源化MM3(huMM3-1)将包含被取代到Slit2-D2支架上的对应位置中的这些残基和在与RBC36 LRRCT相同的位置处所嫁接的MM3 LRRCT插入片段。图12示出这种方法将如何应用于MM3的两个最C末端LRR模块(LRRVe和LRRCP)。该图示出针对于这些模块和VLR，MM3和人Slit2-D2支架的比对，可变氨基位置为灰色阴影。在此实例中，将来自MM3 LRRVe的Tyr、Asp和两个Asn残基和来自MM3 LRRCP的His、Trp和Tyr取代到Slit2-D2支架上。在初始构建体中，MM3 LRRCP中的Gln残基将不被取代，因为它未落在最经常接触抗原的VLR氨基酸的子集中，但是可以添加它。将这种方法应用于其他LRR模块(LRRV、LRR1和LRRNT)。

[0278] 人们表示HuMM3-1二者都作为可溶的IgG-Fc融合蛋白并且在酵母表面展示型式中来评估抗原结合。在酵母展示格式中,将通过用来自MM3+细胞的生物素酰化的裂解物将表达huMM3的酵母染色并且使用用于检测的链亲和素-PE确定抗原结合。遵循类似于用于RBC36人源化的方法的方法,人们可以反复将来自MM3的可变位置的另外的残基掺入到huMM3-1支架上。

序列表

<110> 爱默蕾大学

布兰特利·R·赫林(Herrin, Brantley R.)

马克斯·戴尔·库珀(Cooper, Max Dale)

鲁道夫·埃尔哈特(Ehrhardt, Rudolf)

<120> 人源化可变淋巴细胞受体(VLR)及其相关组合物和用途

<130> 13203 PCT

<150> US 61/987,566

<151> 2014-05-02

<160> 78

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 213

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Thr Val Asp Cys Arg Ser
1 5 10 15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Ile
20 25 30

Ile Tyr Leu His Asp Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Glu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Gln Ile
50 55 60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Val
65 70 75 80

Leu Asp Leu Gly Thr Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Glu Leu Phe Leu Cys Cys Asn Lys Ile
100 105 110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn His
115 120 125

Leu Ala Leu Asp Gln Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Tyr Leu Phe Gly Asn Pro Phe
145 150 155 160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His Ile Ala
165 170 175

Met Arg Trp Asp Gly Lys Ala Val Asn Asp Pro Asp Ser Ala Arg Cys
180 185 190
Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn Lys Arg Ile Gly Gln Ile Lys Ser
195 200 205
Lys Lys Phe Arg Cys
210

<210> 2
<211> 220
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (118)..(118)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 2

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

Arg Arg Leu Ala Asn Lys Arg Ile Gly Gln Ile Lys Ser Lys Lys Phe
195 200 205
Arg Cys Ser Ala Ala Ala His His His His His His
210 215 220
<210> 3
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 3
Ile Ile Tyr Leu His Asp
1 5
<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 4
Glu Ile Tyr Leu Gly Ser
1 5
<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 5
Val Leu Asp Leu Gly Thr
1 5
<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 6
Glu Leu Phe Leu Cys Cys
1 5
<210> 7
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 7
His Leu Ala Leu Asp Gln
1 5

<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 8
His Met Tyr Leu Phe Gly
1 5
<210> 9
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人
<400> 9
Ile Ala Met Arg Trp Asp Gly Lys Ala Val Asn Asp Pro Asp Ser
1 5 10 15
<210> 10
<211> 213
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (11)..(13)
<223> 其中X是任何氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (15)..(16)
<223> 其中X是任何氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (32)..(32)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (34)..(37)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (56)..(56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>

<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(61)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(128)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (130)..(130)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (132)..(133)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (152)..(152)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (154)..(154)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (156)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (175)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 10

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

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Arg Cys
180 185 190
Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn Lys Arg Ile Gly Gln Ile Lys Ser
195 200 205
Lys Lys Phe Arg Cys
210
<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 11
Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5
<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 12
Glu Ile Arg Leu Glu Gln
1 5
<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 13
Arg Ile Asp Leu Ser Asn
1 5
<210> 14
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 14
Ser Leu Val Leu Tyr Gly
1 5
<210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 15

Leu Leu Leu Leu Asn Ala
1 5
<210> 16
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 16
Leu Leu Ser Leu Tyr Asp
1 5
<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<400> 17
Thr Met His Leu Ala Gln
1 5
<210> 18
<211> 227
<212> PRT
<213> 智人
<400> 18
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly Lys
225
<210> 19
<211> 441
<212> PRT
<213> 智人
<400> 19
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
65 70 75 80
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
100 105 110
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220
Ser Pro Gly Lys Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Thr Val
225 230 235 240
Asp Cys Arg Ser Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu
245 250 255
Thr Ile Thr Ile Ile Tyr Leu His Asp Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro
260 265 270
Pro Gly Ala Phe Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Glu Ile Tyr Leu Gly
275 280 285
Ser Asn Gln Ile Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg
290 295 300
Ser Leu Asn Val Leu Asp Leu Gly Thr Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro
305 310 315 320
Lys Ser Leu Phe Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Glu Leu Phe Leu Cys
325 330 335
Cys Asn Lys Ile Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His
340 345 350
Asn Leu Asn His Leu Ala Leu Asp Gln Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala
355 360 365
Lys Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Tyr Leu Phe
370 375 380
Gly Asn Pro Phe Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr
385 390 395 400
Leu His Ile Ala Met Arg Trp Asp Gly Lys Ala Val Asn Asp Pro Asp
405 410 415
Ser Ala Arg Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn Lys Arg Ile Gly
420 425 430
Gln Ile Lys Ser Lys Lys Phe Arg Cys
435 440

<210> 20
<211> 436
<212> PRT
<213> 智人
<400> 20

Met Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Thr Val Asp Cys Arg
1 5 10 15
Ser Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr
20 25 30
Ile Ile Tyr Leu His Asp Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala
35 40 45
Phe Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Glu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Gln
50 55 60
Ile Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn
65 70 75 80
Val Leu Asp Leu Gly Thr Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu
85 90 95
Phe Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Glu Leu Phe Leu Cys Cys Asn Lys
100 105 110
Ile Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn
115 120 125
His Leu Ala Leu Asp Gln Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr
130 135 140
Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Tyr Leu Phe Gly Asn Pro
145 150 155 160
Phe Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His Ile
165 170 175
Ala Met Arg Trp Asp Gly Lys Ala Val Asn Asp Pro Asp Ser Ala Arg
180 185 190
Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn Lys Arg Ile Gly Gln Ile Lys
195 200 205
Ser Lys Lys Phe Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

305 310 315 320
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
420 425 430
Lys Ser Leu Ser
435
<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(2)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (4)..(4)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (6)..(7)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 21
Xaa Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa
1 5
<210> 22
<211> 19
<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (3)..(4)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (9)..(9)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (11)..(11)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (18)..(19)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 22

Cys Pro Xaa Xaa Cys Thr Cys Ser Xaa Asn Xaa Val Asp Cys Arg Gly
1   5   10   15

Lys Xaa Xaa

<210> 23

<211> 47

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (3)..(3)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (5)..(6)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (25)..(25)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (27)..(27)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (29)..(30)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 23
Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr
1 5 10 15
Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln Xaa Met Xaa Leu Xaa Xaa Asn Pro
20 25 30
Phe Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His
35 40 45
<210> 24
<211> 213
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (114)..(114)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 24
Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30
Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45
Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60
Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65 70 75 80
Leu Asp Leu Gly Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Leu Leu Asn Ala Asn Lys Ile

100 105 110
Asn Xaa Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Leu
115 120 125
Leu Ser Leu Asp Asp Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln Thr Met His Leu Ala Gln Asn Pro Phe
145 150 155 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Ser Ile Ala
165 170 175
Met Arg Trp Asp Gly Lys Ala Val Asn Asp Pro Asp Ser Ala Arg Cys
180 185 190
Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn Lys Arg Ile Gly Gln Ile Lys Ser
195 200 205
Lys Lys Phe Arg Cys
210

<210> 25
<211> 62
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (4)..(7)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (9)..(9)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (14)..(14)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (20)..(21)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (23)..(26)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (28)..(28)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (32)..(33)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (39)..(39)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (41)..(42)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (44)..(47)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (49)..(50)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (52)..(52)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (54)..(56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(58)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (60)..(60)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 25

Val Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Ser Val Pro Ala Xaa Ile Pro
1 5 10 15
Thr Thr Thr Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Ile Thr Lys Xaa
20 25 30
Xaa Pro Gly Val Phe Asp Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
35 40 45
Xaa Xaa Asn Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Gly Xaa Phe Asp
50 55 60

<210> 26
<211> 212
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (11)..(13)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (15)..(16)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (32)..(32)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (34)..(37)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (56)..(56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>

<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(61)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(128)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (130)..(130)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (132)..(133)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (152)..(152)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (154)..(154)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (156)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 26

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

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr
180 185 190

Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn Lys Arg Ile Gly Gln Ile Lys Ser Lys
195 200 205

Lys Phe Arg Cys
210

<210> 27
<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (32)..(32)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (34)..(37)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (56)..(56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(61)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>

<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(128)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (130)..(130)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (132)..(133)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (152)..(152)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (154)..(154)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (156)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 27

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

<210> 28
<211> 197
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (56)..(56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(61)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(128)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (130)..(130)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (132)..(133)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (152)..(152)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (154)..(154)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (156)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(187)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 28

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

195
<210> 29
<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(128)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (130)..(130)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征

<222> (132)..(133)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (152)..(152)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (154)..(154)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (156)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 29

```
Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1               5                   10                  15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
            20                  25                  30
Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
        35                  40                  45
Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
    50                  55                  60
Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Xaa
65                  70                  75                  80
Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
                85                  90                  95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile
            100                 105                 110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Xaa
        115                 120                 125
Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
    130                 135                 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln Xaa Met Xaa Leu Xaa Xaa Asn Pro Phe
145                 150                 155                 160
```

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa
165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr
180 185 190

Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195

<210> 30
<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(84)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(128)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (130)..(130)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>

<221> 尚未归类的特征
<222> (132)..(133)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (152)..(152)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (154)..(154)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (156)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 30

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1   5   10   15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
            20   25   30
Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
        35   40   45
Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
    50   55   60
Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65   70   75   80
Leu Xaa Leu Xaa Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
                85   90   95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile
            100   105   110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Xaa
        115   120   125
Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
    130   135   140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln Xaa Met Xaa Leu Xaa Xaa Asn Pro Phe

145 150 155 160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa

165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr

180 185 190

Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn

195

<210> 31

<211> 199

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (104)..(104)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (106)..(106)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (108)..(109)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (128)..(128)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (130)..(130)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (132)..(133)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (152)..(152)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (154)..(154)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (156)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 31

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

<210> 32
<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(128)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (130)..(130)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (132)..(133)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (152)..(152)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (154)..(154)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (156)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 32

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1   5   10   15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
            20   25   30
Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
        35   40   45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60
Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65 70 75 80
Leu Val Leu Tyr Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Leu Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Xaa
115 120 125
Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln Xaa Met Xaa Leu Xaa Xaa Asn Pro Phe
145 150 155 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa
165 170 175
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr
180 185 190
Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195

<210> 33
<211> 182
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (15)..(15)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (17)..(20)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (39)..(39)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (41)..(44)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (63)..(63)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (65)..(65)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (67)..(68)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (87)..(87)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (89)..(89)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (91)..(92)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (111)..(111)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (113)..(113)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (115)..(116)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征

<222> (135)..(135)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (137)..(137)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (139)..(140)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (157)..(172)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 33

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

<210> 34
<211> 153
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (12)..(15)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (34)..(34)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (36)..(36)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (38)..(39)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(58)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (60)..(60)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (62)..(63)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(84)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (86)..(87)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(108)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (110)..(111)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(143)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 34

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

100 105 110
Pro Phe Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa
115 120 125
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg
130 135 140
Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
145 150
<210> 35
<211> 129
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (12)..(12)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (14)..(15)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (34)..(34)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (36)..(36)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (38)..(39)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(58)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (60)..(60)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (62)..(63)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(84)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (86)..(87)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(119)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 35

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

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala
115 120 125

Asn

<210> 36

<211> 76

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (3)..(3)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (23)..(23)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (25)..(25)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (27)..(28)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (47)..(47)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (49)..(49)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (51)..(52)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (71)..(71)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (73)..(73)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (75)..(76)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 36

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

<210> 37
<211> 54
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (3)..(3)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (5)..(6)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (25)..(25)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (27)..(27)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (29)..(30)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (49)..(49)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (51)..(51)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (53)..(54)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 37

```
Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala
1               5                   10                  15
Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys
            20                  25                  30
Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln
        35                  40                  45
Xaa Met Xaa Leu Xaa Xaa
    50
```

<210> 38
<211> 30
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征

<222> (1)..(1)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (3)..(3)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (5)..(6)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (25)..(25)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (27)..(27)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (29)..(30)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 38
Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr
1   5   10   15
Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln Xaa Met Xaa Leu Xaa Xaa
            20   25   30
<210> 39
<211> 212
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (11)..(13)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (15)..(16)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (32)..(32)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (34)..(37)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (56)..(56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(61)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (157)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 39

```
Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa
1               5                   10                  15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Xaa
            20                  25                  30
Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
        35                  40                  45
Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Gln Ile
    50                  55                  60
Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Xaa
65                  70                  75                  80
Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
                85                  90                  95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile
            100                 105                 110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
        115                 120                 125
Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
    130                 135                 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe
145                 150                 155                 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa
                165                 170                 175
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr
            180                 185                 190
Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn Lys Arg Ile Gly Gln Ile Lys Ser Lys
        195                 200                 205
Lys Phe Arg Cys
    210
```

<210> 40

<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (32)..(32)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (34)..(37)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (56)..(56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(61)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (157)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 40

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

<210> 41
<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (56)..(56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (58)..(61)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (157)..(157)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 41

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

<210> 42
<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (80)..(80)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(85)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (157)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 42
Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30
Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45
Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60
Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Xaa

65 70 75 80
Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile
100 105 110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125
Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe
145 150 155 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa
165 170 175
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr
180 185 190
Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195

<210> 43
<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (82)..(82)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (84)..(84)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征

<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (157)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(189)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 43

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

<210> 44
<211> 198

<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(104)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (106)..(106)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (108)..(109)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (157)..(157)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (174)..(188)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 44

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30
Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45
Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60
Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65 70 75 80
Leu Val Leu Tyr Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile
100 105 110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe
145 150 155 160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa
165 170 175

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr Ser
180 185 190

Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195

<210> 45

<211> 199

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (157)..(157)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (174)..(189)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 45

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30

Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65 70 75 80

Leu Val Leu Tyr Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Leu Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe
145 150 155 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa
165 170 175
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr
180 185 190
Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195

<210> 46
<211> 182
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (15)..(15)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (17)..(20)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (39)..(39)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (41)..(44)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (63)..(63)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (65)..(65)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>

<221> 尚未归类的特征
<222> (67)..(68)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (87)..(87)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (89)..(89)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (91)..(92)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (140)..(140)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (157)..(172)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 46

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

115 120 125

Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe Ile

130 135 140

Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa Xaa

145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr Ser

165 170 175

Pro Arg Arg Leu Ala Asn

180

<210> 47

<211> 153

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (10)..(10)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (12)..(15)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (34)..(34)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (36)..(36)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (38)..(39)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (58)..(58)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (60)..(60)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (62)..(63)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (111)..(111)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (128)..(143)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 47

Ala Phe Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Asn
1 5 10 15
Gln Ile Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu
20 25 30
Asn Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser
35 40 45
Leu Phe Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn
50 55 60
Lys Ile Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu
65 70 75 80
Asn Tyr Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly
85 90 95
Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn
100 105 110
Pro Phe Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa
115 120 125
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg
130 135 140
Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
145 150

<210> 48
<211> 129
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (12)..(12)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (14)..(15)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (34)..(34)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (36)..(36)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (38)..(39)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (87)..(87)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (104)..(119)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 48

Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn
1   5   10   15
Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe Glu Gly Leu Phe Ser Leu
            20   25   30
Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile Asn Cys Leu Arg Val Asp
        35   40   45

Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr Leu Asp Leu Asn Asn Asn
50 55 60
Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile
65 70 75 80
Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe Ile Cys Asp Cys His Leu
85 90 95
Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
100 105 110
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala
115 120 125
Asn
<210> 49
<211> 93
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (4)..(4)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (24)..(24)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (26)..(26)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (28)..(29)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (77)..(77)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 49

Leu Xaa Leu Xaa Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
1 5 10 15

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile
20 25 30

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
35 40 45

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
50 55 60

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe
65 70 75 80

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu
85 90

<210> 50

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (3)..(3)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (7)..(8)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (56)..(56)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 50

Leu Gln Xaa Leu Xaa Leu Xaa Xaa Asn Lys Ile Asn Cys Leu Arg Val
1 5 10 15

Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr Leu Asp Leu Asn Asn
20 25 30

Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala

35 40 45
Ile Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe Ile Cys Asp Cys His
50 55 60
Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu
65 70
<210> 51
<211> 55
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (39)..(39)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 51
Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr Leu Asp Leu Asn Asn Asn
1 5 10 15
Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile
20 25 30
Gln His Met Trp Leu Tyr Xaa Asn Pro Phe Ile Cys Asp Cys His Leu
35 40 45
Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu
50 55
<210> 52
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (2)..(3)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (5)..(12)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (14)..(15)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 52

Tyr Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Leu
1 5 10 15

<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(8)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 53

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 54
<211> 132
<212> PRT
<213> 智人
<400> 54

Asp Pro Lys Leu Cys Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly
1 5 10 15
Val Ile Leu Thr Ala Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
20 25 30
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
35 40 45
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
50 55 60
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln
65 70 75 80
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
85 90 95
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
100 105 110
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
115 120 125
Leu His Met Gln
130

<210> 55
<211> 62
<212> PRT

<213> 智人

<400> 55

Glu Pro Gln Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu Phe Leu Tyr Gly
1 5 10 15
Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile Gln Val Arg Lys
20 25 30
Ala Ala Ile Thr Ser Tyr Glu Lys Ser Asp Gly Val Tyr Thr Gly Leu
35 40 45
Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu Thr Leu Lys His Glu
50 55 60

<210> 56

<211> 193

<212> PRT

<213> 智人

<400> 56

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

Gly
<210> 57
<211> 294
<212> PRT
<213> 智人
<400> 57
Met Trp Ile Lys Trp Ile Ala Thr Leu Val Ala Phe Gly Ala Leu Val
1 5 10 15
Gln Ser Ala Val Ala Cys Pro Ser Gln Cys Ser Cys Pro Gly Thr Asp
20 25 30
Val Asn Cys His Glu Arg Arg Leu Ala Ser Val Pro Ala Glu Ile Pro
35 40 45
Thr Thr Thr Lys Ile Leu Arg Leu Tyr Ile Asn Gln Ile Thr Lys Leu
50 55 60
Glu Pro Gly Val Phe Asp Arg Leu Thr Gln Leu Thr Gln Leu Gly Leu
65 70 75 80
Trp Asp Asn Gln Leu Gln Ala Leu Pro Glu Gly Val Phe Asp Arg Leu
85 90 95
Val Asn Leu Gln Lys Leu Tyr Leu Asn Gln Asn Gln Leu Leu Ala Leu
100 105 110
Pro Val Gly Val Phe Asp Lys Leu Thr Gln Leu Thr Tyr Leu Asp Leu
115 120 125
Asn Asn Asn Gln Leu Lys Ser Ile Pro Arg Gly Ala Phe Asp Asn Leu
130 135 140
Lys Ser Leu Thr His Ile Trp Leu Tyr Gly Asn Pro Trp Asp Cys Glu
145 150 155 160
Cys Ser Asp Ile Leu Tyr Leu Lys Asn Trp Ile Val Gln His Ala Ser
165 170 175
Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Asn Val Lys Cys Ser
180 185 190
Gly Thr Asn Thr Pro Val Arg Ala Val Thr Glu Ala Ser Thr Ser Pro
195 200 205
Ser Lys Cys Pro Gly Tyr Val Ala Thr Thr Thr Thr Pro Thr Thr Thr
210 215 220
Thr Pro Glu Phe Ile Pro Glu Thr Thr Thr Ser Pro Gln Pro Val Ile
225 230 235 240
Thr Thr Gln Lys Pro Lys Pro Leu Trp Asn Phe Asn Cys Thr Ser Ile
245 250 255
Gln Glu Arg Lys Asn Asp Gly Gly Asp Cys Gly Lys Pro Ala Cys Thr

260 265 270

Thr Leu Leu Asn Cys Ala Asn Phe Leu Ser Cys Leu Cys Ser Thr Cys

275 280 285

Ala Leu Cys Arg Lys Arg

290

<210> 58

<211> 199

<212> PRT

<213> 智人

<400> 58

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly

1 5 10 15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu

20 25 30

Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe

35 40 45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile

50 55 60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser

65 70 75 80

Leu Val Leu Tyr Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe

85 90 95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Tyr Leu Asn Ala Asn Lys Ile

100 105 110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr

115 120 125

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe

130 135 140

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gln Asn Pro Phe

145 150 155 160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His Ala Ser

165 170 175

Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Asn Ala Arg Cys Thr

180 185 190

Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn

195

<210> 59

<211> 196

<212> PRT

<213> 智人

<400> 59

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30

Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65 70 75 80

Leu Val Leu Tyr Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Tyr Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gln Asn Pro Phe
145 150 155 160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Ser Ile Val
165 170 175

Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Ala Arg Cys Thr Ser Pro Arg
180 185 190

Arg Leu Ala Asn
195

<210> 60

<211> 201

<212> PRT

<213> 智人

<400> 60

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30

Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65 70 75 80

Leu Val Leu Tyr Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Tyr Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gln Asn Pro Phe
145 150 155 160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Ile Val Gln
165 170 175

His Ala Ser Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Ala Arg
180 185 190

Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195 200

<210> 61

<211> 199

<212> PRT

<213> 智人

<400> 61

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30

Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65 70 75 80

Leu Val Leu Tyr Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Leu Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125
Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gln Asn Pro Phe
145 150 155 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His Ala Ser
165 170 175
Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Asn Ala Arg Cys Thr
180 185 190
Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195

<210> 62
<211> 196
<212> PRT
<213> 智人
<400> 62

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

Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Ala Arg Cys Thr Ser Pro Arg
180 185 190

Arg Leu Ala Asn
195

<210> 63

<211> 201

<212> PRT

<213> 智人

<400> 63

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30

Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Arg Ile Asp Leu Ser Asn Asn Gln Ile
50 55 60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Ser
65 70 75 80

Leu Val Leu Tyr Gly Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Leu Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gln Asn Pro Phe
145 150 155 160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu Ile Val Gln
165 170 175

His Ala Ser Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Ala Arg
180 185 190

Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195 200

<210> 64

<211> 199

<212> PRT

<213> 智人

<400> 64

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1   5   10   15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
            20   25   30

Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
        35   40   45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Ile Leu Arg Leu Tyr Ile Asn Gln Ile
    50   55   60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Gln
65   70   75   80

Leu Val Leu Trp Asp Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
                85   90   95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Tyr Leu Asn Ala Asn Lys Ile
            100   105   110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
        115   120   125

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
    130   135   140

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gly Asn Pro Phe
145   150   155   160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His Ala Ser
                165   170   175

Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Asn Ala Arg Cys Thr
            180   185   190

Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
        195

<210> 65

<211> 71

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (1)..(1)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> 尚未归类的特征

<222> (3)..(3)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (5)..(6)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (25)..(25)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (27)..(27)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (29)..(30)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (49)..(49)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (51)..(51)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (53)..(54)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<400> 65

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

<210> 66
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人
<400> 66
Tyr Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr
1 5 10 15
Phe Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr
20 25 30
<210> 67
<211> 33
<212> PRT
<213> 智人
<400> 67
Tyr Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr
1 5 10 15
Phe Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr
20 25 30
Gln
<210> 68
<211> 33
<212> PRT
<213> 智人
<400> 68
Tyr Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr
1 5 10 15
Phe Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met Trp Leu Tyr
20 25 30
Gly
<210> 69
<211> 43
<212> PRT
<213> 智人
<400> 69
Lys Leu Thr Gln Leu Thr Tyr Leu Asp Leu Asn Asn Asn Gln Leu Lys
1 5 10 15
Ser Ile Pro Arg Gly Ala Phe Asp Asn Leu Lys Ser Leu Thr His Ile
20 25 30
Trp Leu Tyr Gly Asn Pro Trp Asp Cys Glu Cys

35 40

<210> 70

<211> 43

<212> PRT

<213> 智人

<400> 70

Asp Leu His Asn Leu Asn Leu Leu Ser Leu Tyr Asp Asn Lys Leu Gln
1 5 10 15
Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln Thr Met
20 25 30
His Leu Ala Gln Asn Pro Phe Ile Cys Asp Cys
35 40

<210> 71

<211> 43

<212> PRT

<213> 智人

<400> 71

Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln
1 5 10 15
Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Met
20 25 30
Trp Leu Tyr Gln Asn Pro Phe Ile Cys Asp Cys
35 40

<210> 72

<211> 206

<212> PRT

<213> 智人

<400> 72

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

85 90 95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Leu Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Leu
115 120 125
Leu Ser Leu Tyr Asp Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln Thr Met His Leu Ala Gln Asn Pro Phe
145 150 155 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His Thr Asn
165 170 175
Pro Ile Glu Thr Ser Gly Ala Arg Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala
180 185 190
Asn Lys Arg Ile Gly Gln Ile Lys Ser Lys Lys Phe Arg Cys
195 200 205

<210> 73
<211> 199
<212> PRT
<213> 智人
<400> 73

Ala Cys Pro Ser Gln Cys Ser Cys Ser Gly Thr Thr Val Asp Cys Arg
1 5 10 15
Ser Lys Arg His Ala Ser Val Pro Ala Gly Ile Pro Thr Asn Ala Gln
20 25 30
Ile Leu Tyr Leu His Asp Asn Gln Ile Thr Lys Leu Glu Pro Gly Val
35 40 45
Phe Asp Ser Leu Ile Asn Leu Lys Glu Leu Tyr Leu Gly Ser Asn Gln
50 55 60
Leu Gly Ala Leu Pro Val Gly Val Phe Asp Ser Leu Thr Gln Leu Thr
65 70 75 80
Val Leu Asp Leu Gly Thr Asn Gln Leu Thr Val Leu Pro Ser Ala Val
85 90 95
Phe Asp Arg Leu Val His Leu Lys Glu Leu Phe Met Cys Cys Asn Lys
100 105 110
Leu Thr Glu Leu Pro Arg Gly Ile Glu Arg Leu Thr His Leu Thr His
115 120 125
Leu Ala Leu Asp Gln Asn Gln Leu Lys Ser Ile Pro His Gly Ala Phe
130 135 140
Asp Arg Leu Ser Ser Leu Thr His Ala Tyr Leu Phe Gly Asn Pro Trp

145 150 155 160

Asp Cys Glu Cys Arg Asp Ile Met Tyr Leu Arg Asn Trp Val Ala Asp

165 170 175

His Thr Ser Ile Ala Met Arg Trp Asp Gly Lys Ala Val Asn Asp Pro

180 185 190

Asp Ser Ala Lys Cys Ala Gly

195

<210> 74

<211> 200

<212> PRT

<213> 智人

<400> 74

Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly

1 5 10 15

Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu

20 25 30

Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe

35 40 45

Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Ile Leu Arg Leu Tyr Ile Asn Gln Ile

50 55 60

Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Gln

65 70 75 80

Leu Val Leu Trp Asp Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe

85 90 95

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Tyr Leu Asn Ala Asn Lys Ile

100 105 110

Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr

115 120 125

Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe

130 135 140

Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gly Asn Pro Phe

145 150 155 160

Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His His Ala

165 170 175

Ser Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Asn Ala Arg Cys

180 185 190

Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn

195 200

<210> 75

<211> 200
<212> PRT
<213> 智人
<400> 75
Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30
Ile Arg Leu Glu Gln Asn Thr Ile Lys Val Ile Pro Pro Gly Ala Phe
35 40 45
Ser Pro Tyr Lys Lys Leu Arg Ile Leu Arg Leu Tyr Ile Asn Gln Ile
50 55 60
Ser Glu Leu Ala Pro Asp Ala Phe Gln Gly Leu Arg Ser Leu Asn Gln
65 70 75 80
Leu Val Leu Trp Asp Asn Lys Ile Thr Glu Leu Pro Lys Ser Leu Phe
85 90 95
Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Tyr Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125
Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gly Asn Pro Phe
145 150 155 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His Thr His
165 170 175
Ala Ser Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Asn Arg Cys
180 185 190
Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195 200
<210> 76
<211> 202
<212> PRT
<213> 智人
<400> 76
Cys Pro Ala Ala Cys Thr Cys Ser Asn Asn Ile Val Asp Cys Arg Gly
1 5 10 15
Lys Gly Leu Thr Glu Ile Pro Thr Asn Leu Pro Glu Thr Ile Thr Glu
20 25 30

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

<210> 77
<211> 202
<212> PRT
<213> 智人
<400> 77

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

Glu Gly Leu Phe Ser Leu Gln Leu Leu Tyr Leu Asn Ala Asn Lys Ile
100 105 110
Asn Cys Leu Arg Val Asp Ala Phe Gln Asp Leu His Asn Leu Asn Tyr
115 120 125
Leu Asp Leu Asn Asn Asn Lys Leu Gln Thr Ile Ala Lys Gly Thr Phe
130 135 140
Ser Pro Leu Arg Ala Ile Gln His Ile Trp Leu Tyr Gly Asn Pro Phe
145 150 155 160
Ile Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu His Thr Asn
165 170 175
Pro His Ala Ser Ile Val Asn Pro His Pro Tyr Gly Gly Val Asp Asn
180 185 190
Arg Cys Thr Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asn
195 200
<210> 78
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人
<400> 78
Cys Asp Cys His Leu Lys Trp Leu Ala Asp Tyr Leu
1 5 10

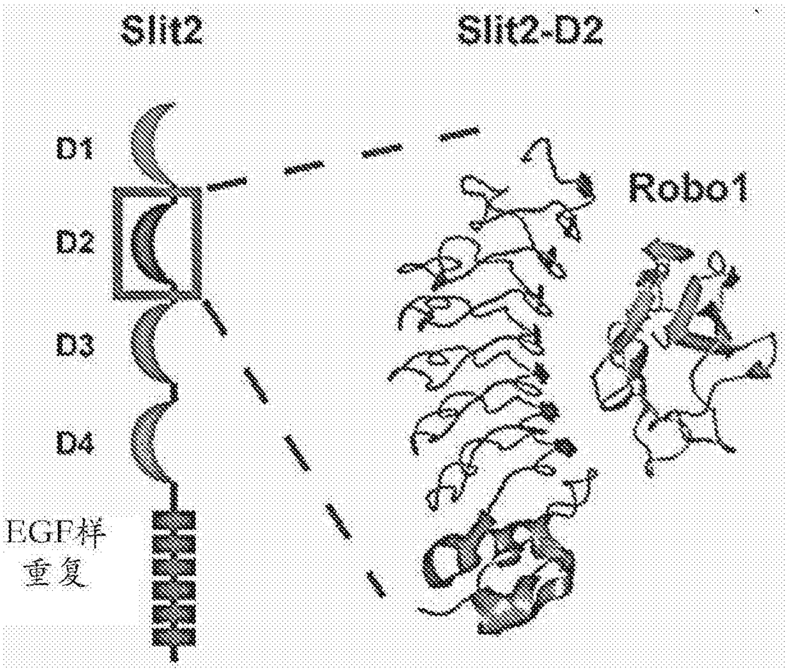


图1

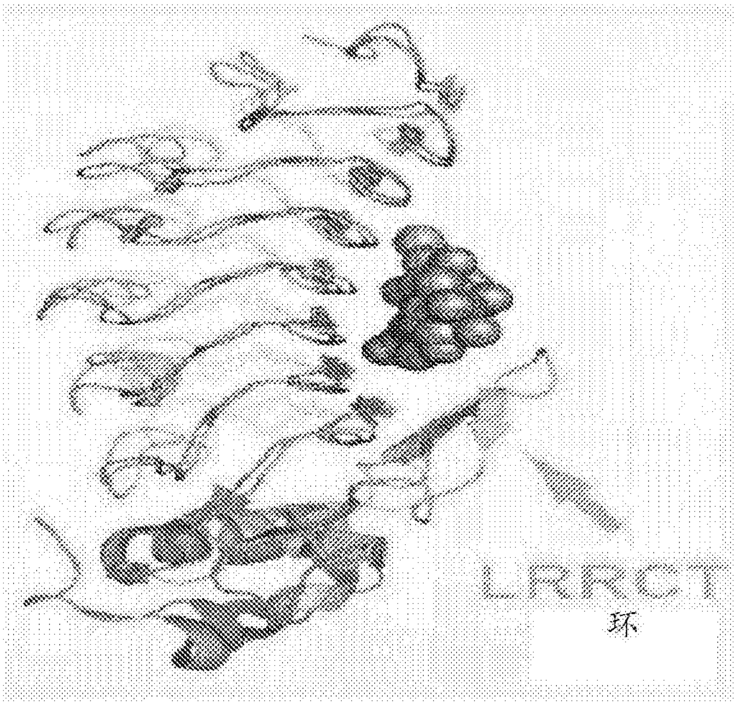


图2

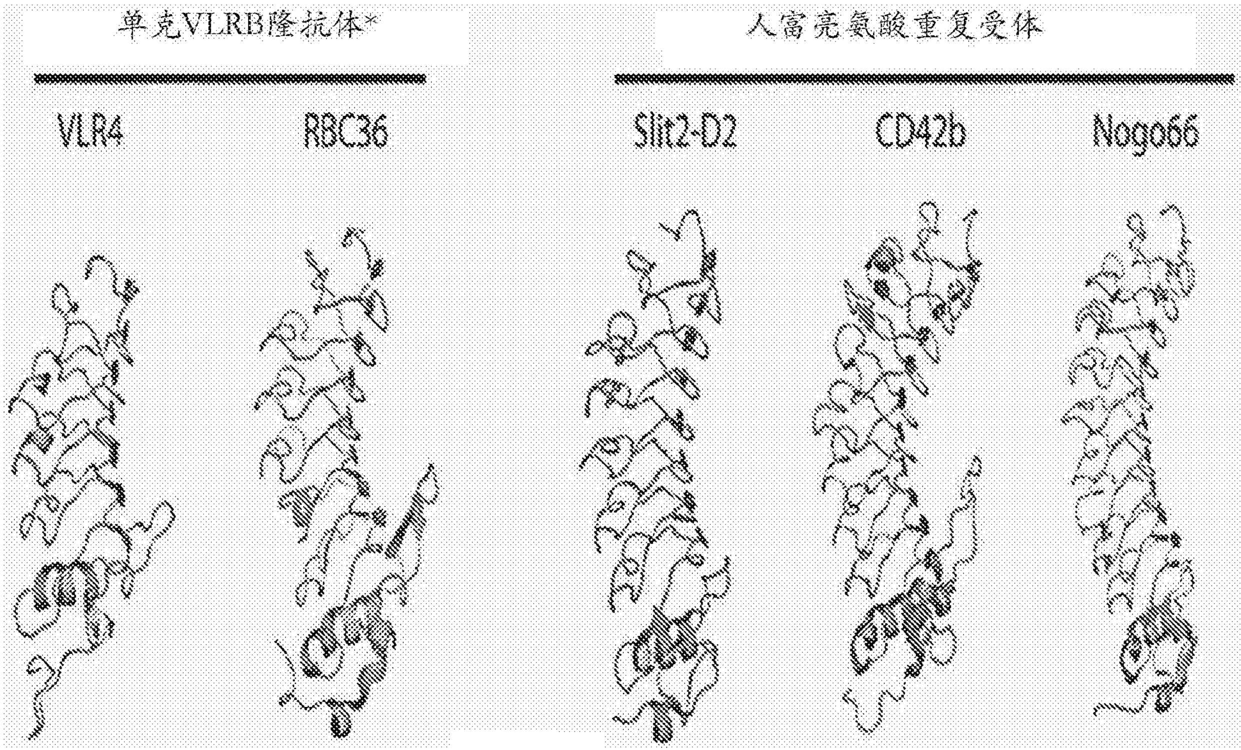

单克VLRB隆抗体*
人富亮氨酸重复受体
VLR4
RBC36
Slit2-D2
CD42b
Nogo66

图3

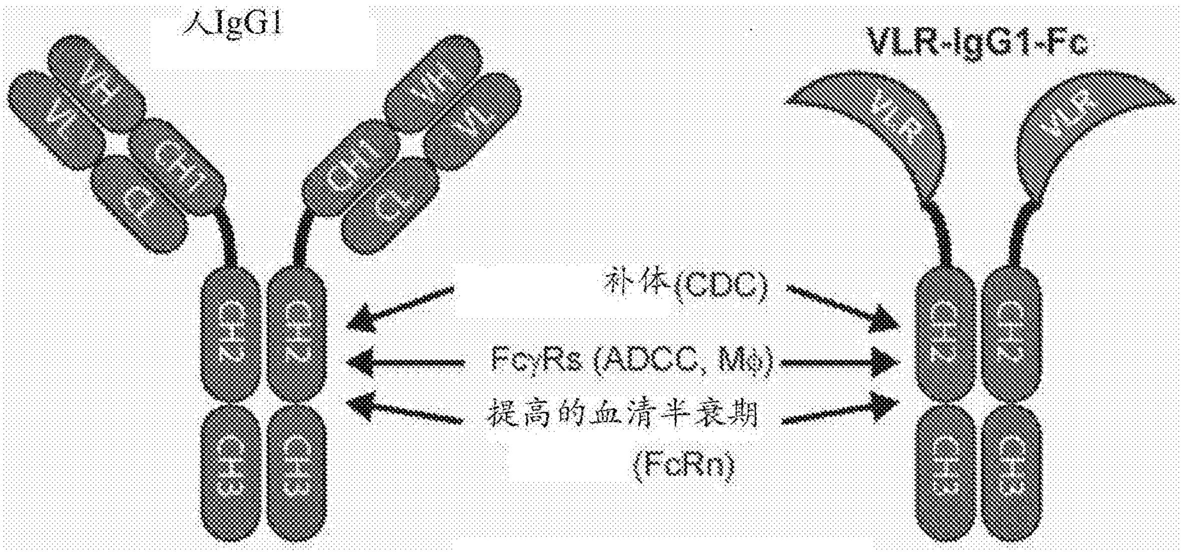

人IgG1
VLR-IgG1-Fc
VH
VL
CH1
CL
VLR
CH2
CH3
补体(CDC)
FcγRs (ADCC, Mφ)
提高的血清半衰期
(FcRn)

图4

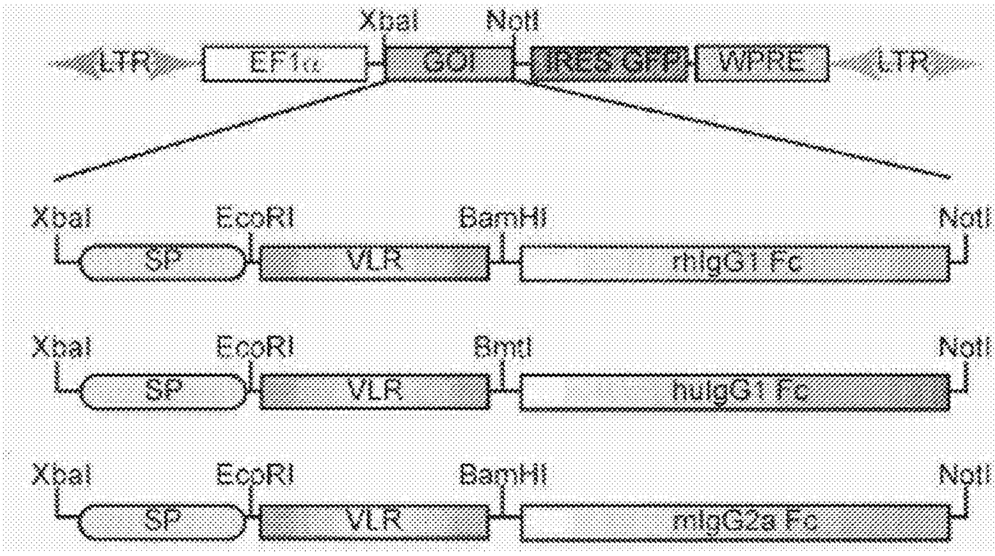

XbaI
NotI
LTR
EF1α
GOI
IRES GFP
WPRE
LTR
XbaI
EcoRI
BamHI
NotI
SP
VLR
mIgG1 Fc
XbaI
EcoRI
BmtI
NotI
SP
VLR
huIgG1 Fc
XbaI
EcoRI
BamHI
NotI
SP
VLR
mIgG2a Fc

图5

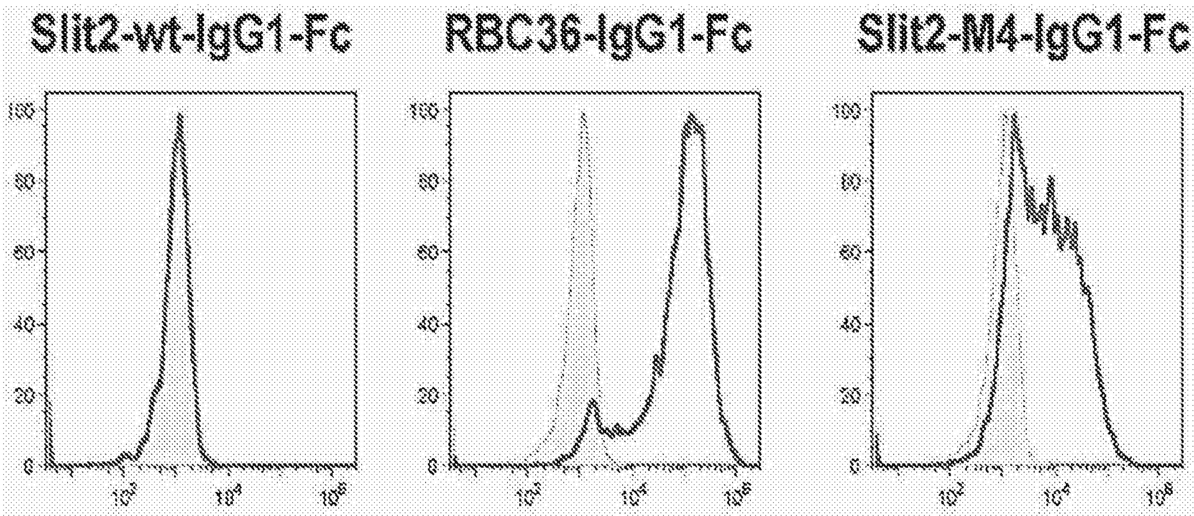

Slit2-wt-IgG1-Fc
RBC36-IgG1-Fc
Slit2-M4-IgG1-Fc

图6

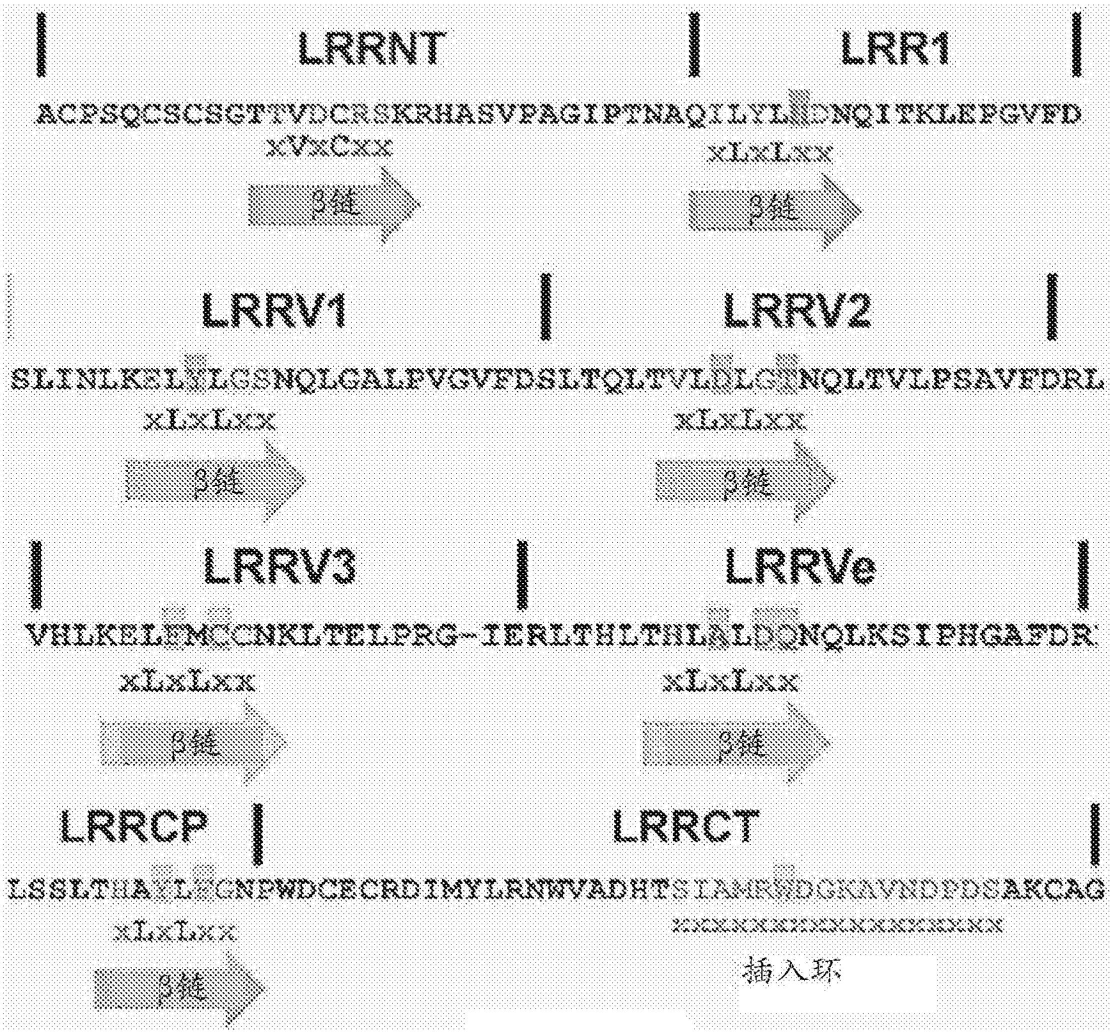

LRRNT
LRR1
ACPSQCSCSGTTVDCRSKRHASVPAGIPTNAQILYLHDNQITKLEPGVFD
xVxCxx
xLxLxx
β链
β链
LRRV1
LRRV2
SLINLKELYLGSNQLGALPVGVFDSLTQLTVLDLGTNQLTVLPSAVFDRL
xLxLxx
xLxLxx
β链
β链
LRRV3
LRRVe
VHLKELFMCCNKLTELPRG-IERLTHLTHLALDQNQLKSIPHGAFDR
xLxLxx
xLxLxx
β链
β链
LRRCP
LRRCT
LSSLTHAYLFGNPWDCECRDIMYLRNWVADHTSIAMRWDGKAVNDPDSAKCAG
xLxLxx
xxxxxxxxxxxxxxxxxxx
β链
插入环

图7

得分	期望	方法	一致性	阳性	空位
313 位(802)	4e-95	组成的基质调整	172/213(81%)	176/213(82%)	7/213(3%)

```
询问序列  1    CPAACTCSNNTVDCRSKGLTEIPTNLPETITIIYLHDNTIKVIPPGAFSPYKKLREIYLG
 60
               CPAACTCSNN VDCR KGLTEIPTNLPETIT I L  NTIKVIPPGAFSPYKKLR I L
目标序列  277  CPAACTCSNNIVDCRGKGLTEIPTNLPETITEIRLEQNTIKVIPPGAFSPYKKLRRIDLS
 336

询问序列  61   SNQISELAPDAFQGLRSLNVLDLGTNKITELPKSLFEGLFSLQELFLCCNKINCLRVDAF
 120
               +NQISELAPDAFQGLRSLN L L  NKITELPKSLFEGLFSLQ L L  NKINCLRVDAF
目标序列  337  NNQISELAPDAFQGLRSLNSLVLYGNKITELPKSLFEGLFSLQLLLLNANKINCLRVDAF
 396

询问序列  121  QDLHNLNHLALDQNKLQTIAKGTFSPLRAIQHMYLFGNPFICDCHLKWLADYLHIAMRWD
 180
               QDLHNLN L+L  NKLQTIAKGTFSPLRAIQ M+L  NPFICDCHLKWLADYLH
目标序列  397  QDLHNLNLLSLYDNKLQTIAKGTFSPLRAIQTMHLAQNPFICDCHLKWLADYLHTNPI--
 454

询问序列  181  GKAVNDPDSARCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRC  213
                    +    ARCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRC
目标序列  455  ------ETSGARCTSPRRLANKRIGQIKSKKFRC  482
```

图8

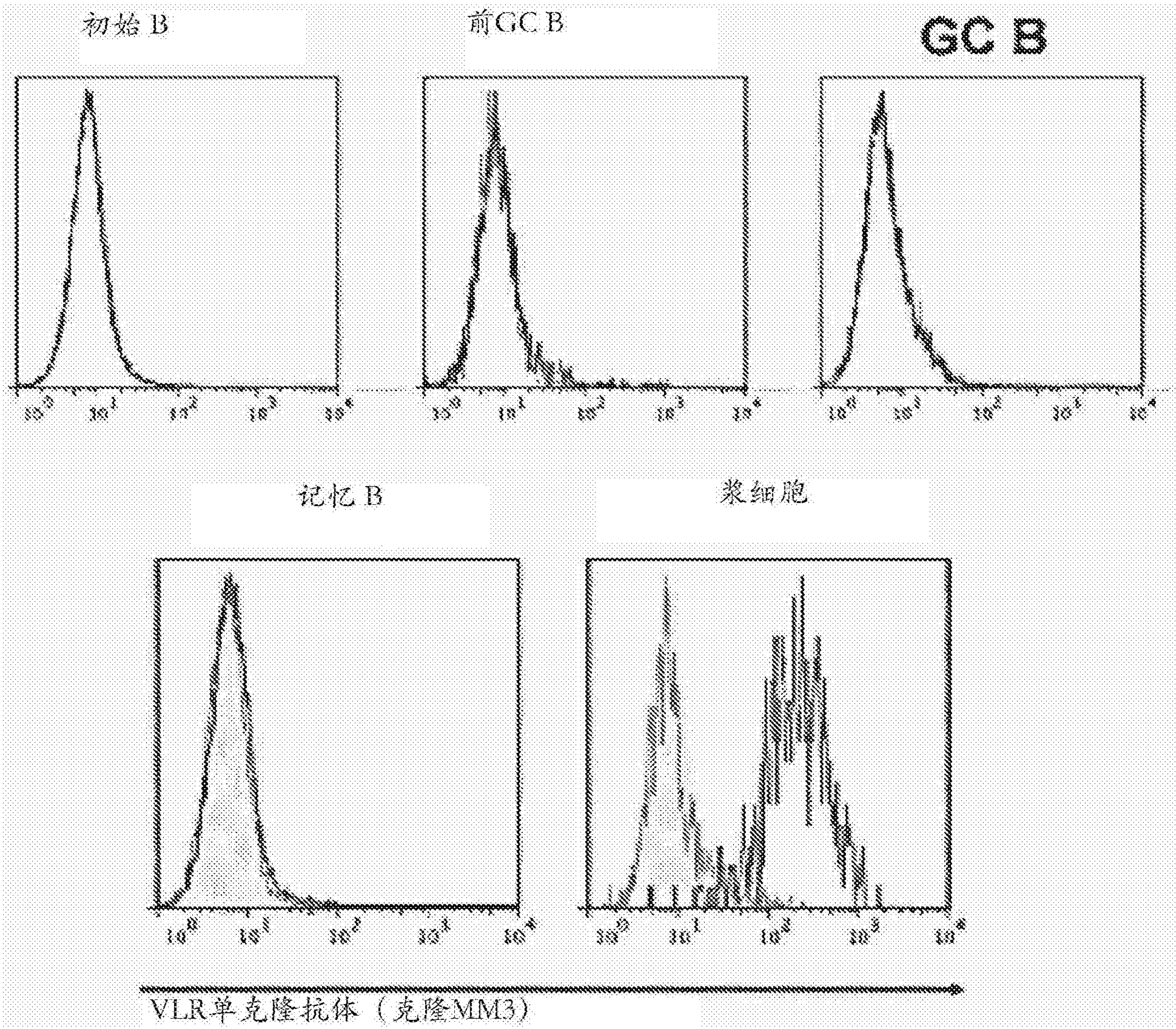


图9

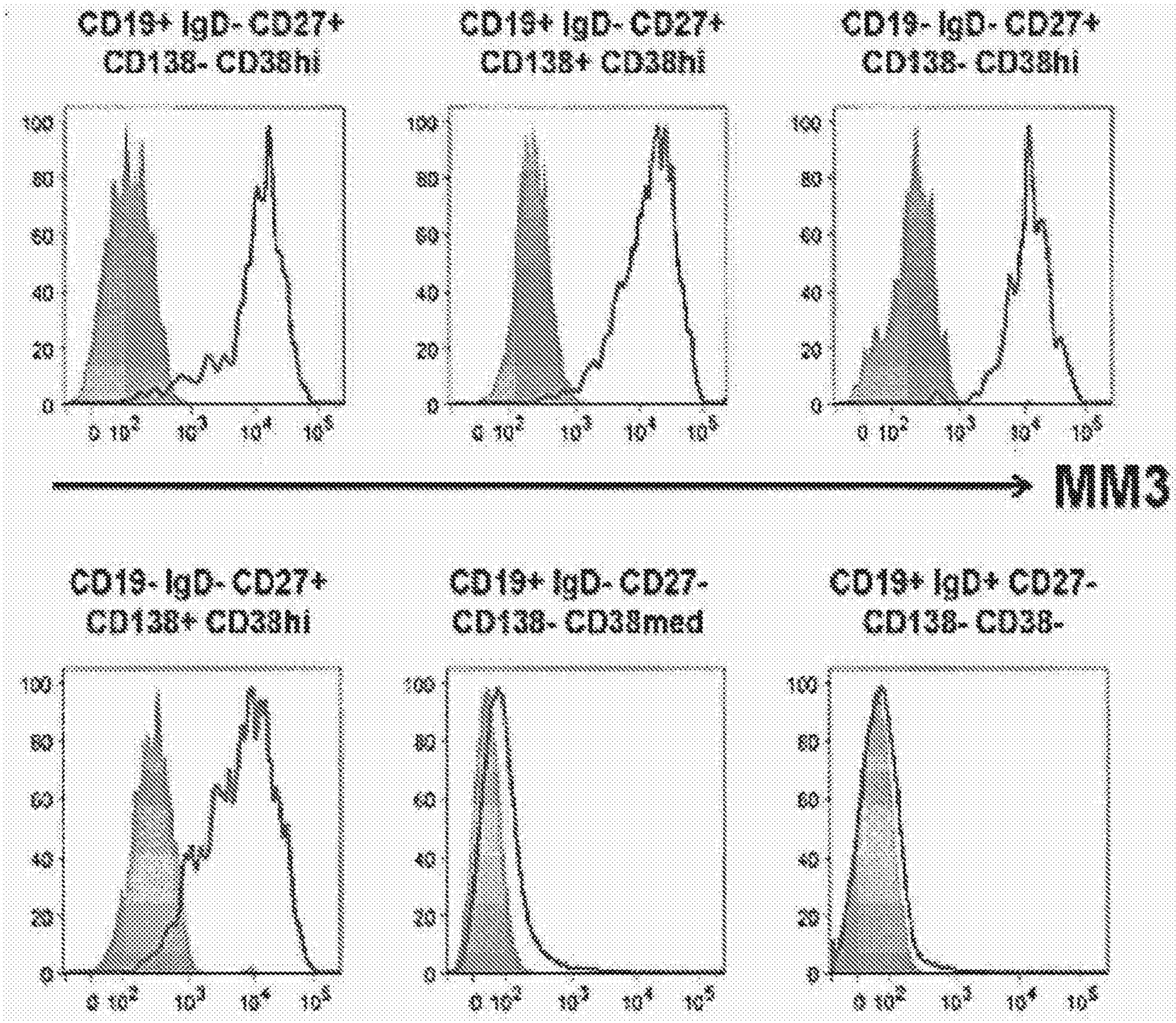

CD19+ IgD- CD27+
CD138- CD38hi
CD19+ IgD- CD27+
CD138+ CD38hi
CD19- IgD- CD27+
CD138- CD38hi
MM3
CD19- IgD- CD27+
CD138+ CD38hi
CD19+ IgD- CD27-
CD138- CD38med
CD19+ IgD+ CD27-
CD138- CD38-

图10

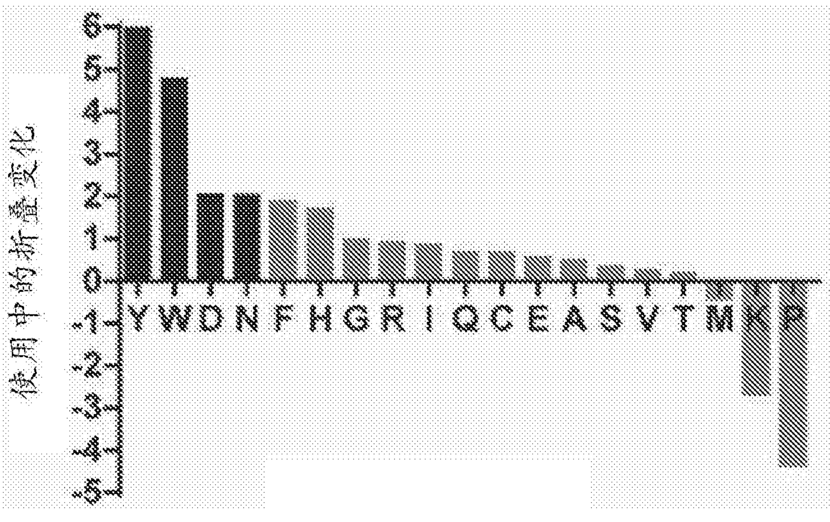

使用中的折叠变化
Y W D N F H G R I Q C E A S V T M K P

图11

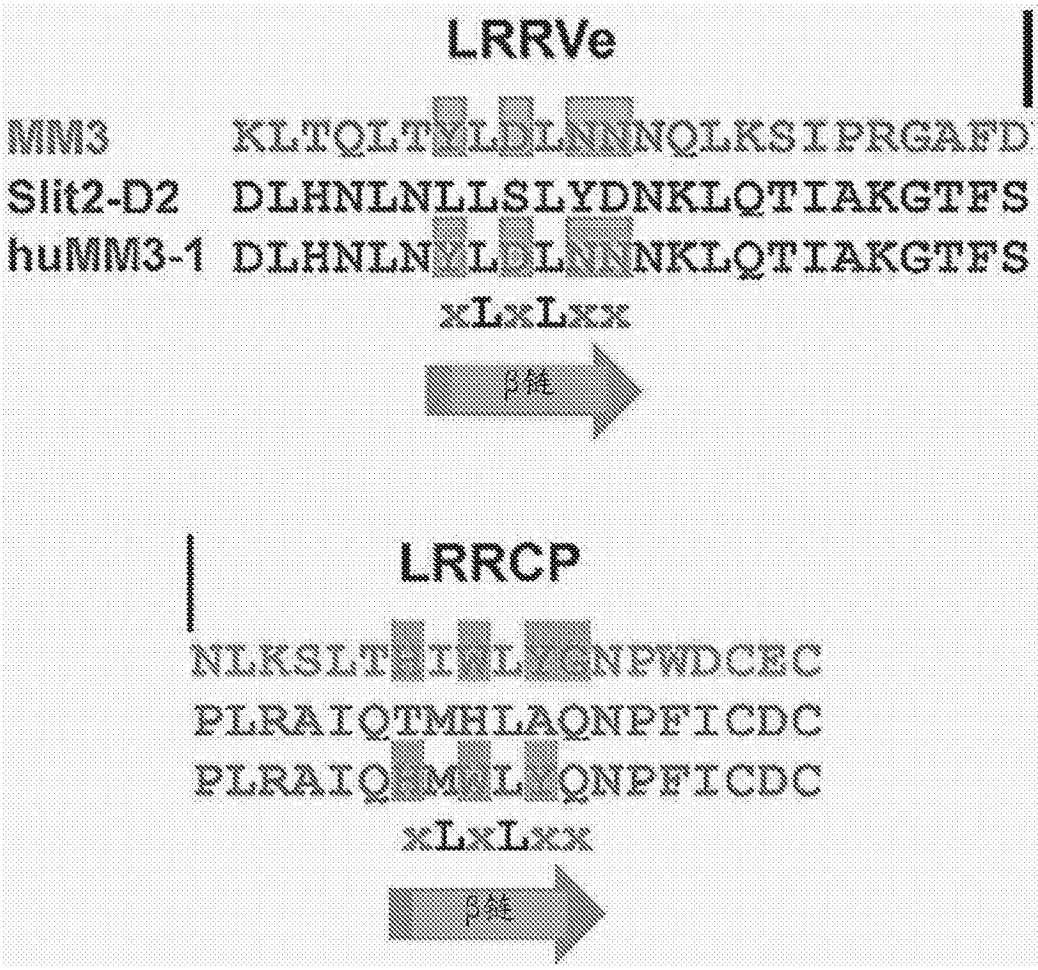

LRRVe
MM3 KLTQLTYLDLNNNQLKSIPRGAFD
Slit2-D2 DLHNLNLLSLYDNKLQTIAKGTFS
huMM3-1 DLHNLNYLDLNNNKLQTIAKGTFS
xLxLxx
β链
LRRCP
NLKSLT I L NPWDCEC
PLRAIQTMHLAQNPFICDC
PLRAIQ M L QNPFICDC
xLxLxx
β链

图12

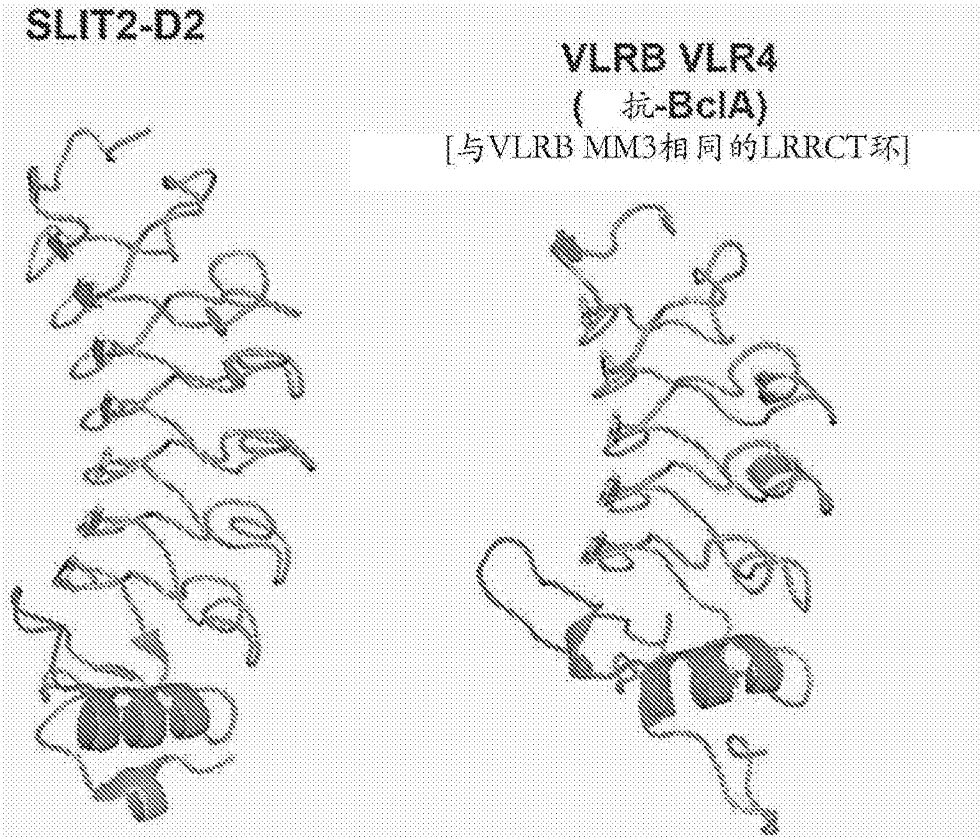


图13