



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117730099 A

(43) 申请公布日 2024. 03. 19

(21) 申请号 202280047837.4

(22) 申请日 2022.05.10

(30) 优先权数据

63/187,150 2021.05.11 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.01.04

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/028595 2022.05.10

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/240877 EN 2022.11.17

(71) 申请人 瑞泽恩制药公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 H·金 S·J·哈特塞尔

H·E·洛布 A·J·墨菲

W·奥尔森 早乙女庆 B·张

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 陈迎春 黄革生

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 7/00 (2006.01)

权利要求书6页 说明书81页

序列表73页 附图7页

(54) 发明名称

抗TMPRSS6抗体及其用途

(57) 摘要

本文提供了结合至跨膜丝氨酸蛋白酶6 (TMPRSS6) 蛋白的单克隆抗体及其使用方法。在本公开的各种实施方案中,所述抗体是结合至TMPRSS6的完全人抗体。在一些实施方案中,本文公开的所述抗体可用于治疗或预防人中与TMPRSS6相关的疾病、病症或疾患的方法中。

1. 一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段结合至TMPRSS6的催化结构域, 但不结合至TMPRSS6的催化三联体。

2. 如权利要求1所述的分离的抗体或抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段还结合在TMPRSS6的LDLRa结构域2内包含的位点处。

3. 如权利要求1或2所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段与TMPRSS6的结合不直接封闭所述TMPRSS6的催化三联体。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段与TMPRSS6的结合介导TMPRSS6的变构调节。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段与TMPRSS6的结合介导TMPRSS6的变构抑制。

6. 一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段是TMPRSS6的变构抑制剂。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段将TMPRSS6保持在能够结合至TMPRSS6底物但不裂解TMPRSS6底物的无活性构象。

8. 如权利要求7所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述TMPRSS6底物是血幼素(HJV)。

9. 一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段结合在TMPRSS6的催化结构域内在空间封闭TMPRSS6的催化三联体的位点处。

10. 如权利要求9所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段与血幼素(HHV) 竞争结合至TMPRSS6。

11. 一种特异性结合至人跨膜蛋白酶丝氨酸6(hTMPRSS6) 蛋白 (SEQ ID NO:126) 的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中如通过氢/氘交换所确定的, 所述抗体或其抗原结合片段与hTMPRSS6的胞外结构域内所含有一个或多个氨基酸相互作用。

12. 如权利要求11所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中如通过氢/氘交换所确定的, 所述抗体或其抗原结合片段与选自以下的氨基酸序列相互作用: (a) SEQ ID NO:126的氨基酸125至133; (b) SEQ ID NO:126的氨基酸586-594; (c) SEQ ID NO:126的氨基酸626至650; (d) SEQ ID NO:126的氨基酸693至703; (e) SEQ ID NO:126的氨基酸704至724; 和/或 (e) SEQ ID NO:126的氨基酸780至805。

13. 如权利要求12所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中如通过氢/氘交换所确定的, 所述抗体或其抗原结合片段与选自以下的氨基酸序列相互作用: (a) SEQ ID NO:126的氨基酸693至703; 和/或 (b) SEQ ID NO:126的氨基酸780至805。

14. 如权利要求12所述的分离的抗体或其抗原结合片段, 其中如通过氢/氘交换所确定的, 所述抗体或其抗原结合片段与选自以下的氨基酸序列相互作用: (a) SEQ ID NO:126的氨基酸125至133; (b) SEQ ID NO:126的氨基酸586-594; (c) SEQ ID NO:126的氨基酸626至650; 和/或 (d) SEQ ID NO:126的氨基酸704-724。

15. 一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合

片段,其中如通过冷冻电子显微镜结构建模所确定的,所述抗体或其抗原结合片段与人TMPRSS6 (SEQ ID NO:126)的残基G699、H701、D724、Q726、L727、I728、P729、L732、E735、G749、Y750、R751、K752和N791相互作用。

16.如权利要求15所述的抗体或其抗原结合片段,其中如通过冷冻电子显微镜结构建模所确定的,所述抗体或其抗原结合片段还与人TMPRSS6 (SEQ ID NO:126)的残基V490、S501、T502、C503、I504、S505和K508相互作用。

17.一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段,其中如通过冷冻电子显微镜结构建模所确定的,所述抗体或其抗原结合片段与人TMPRSS6的残基R597、R599、I601、D622、L710、R711、E712、G713、G714、P715和I716相互作用。

18.一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 (HCVR) 内含有的三个重链互补决定区 (CDR) (HCDR1、HCDR2和HCDR3);以及轻链可变区 (LCVR) 内含有的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中所述HCDR3具有选自表1中列出的HCDR3序列的氨基酸序列。

19.如权利要求18所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述LCDR3序列具有选自表1中列出的LCDR3序列的氨基酸序列。

20.如权利要求18或19所述的抗体或抗原结合片段,其包含表1中列出的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列。

21.如权利要求18-20中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其包含表1中列出的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

22.如权利要求18-21中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中:

- (a) 所述HCDR1结构域具有选自SEQ ID NO:4、24、34、44、64、84或102的氨基酸序列;
- (b) 所述HCDR2结构域具有选自SEQ ID NO:6、26、36、46、66、86或104的氨基酸序列;
- (c) 所述HCDR3结构域具有选自SEQ ID NO:8、28、38、48、68、88或106的氨基酸序列;
- (d) 所述LCDR1结构域具有选自SEQ ID NO:12、52、72、92或110的氨基酸序列;
- (e) 所述LCDR2结构域具有选自SEQ ID NO:14、54或74的氨基酸序列;和
- (f) 所述LCDR3结构域具有选自SEQ ID NO:16、56、76、94或112的氨基酸序列。

23.如权利要求18-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述三个重链CDR和所述三个轻链CDR包含以下CDR组之一:

- (a) SEQ ID NO:4 (HCDR1)、SEQ ID NO:6 (HCDR2)、SEQ ID NO:8 (HCDR3)、SEQ ID NO:12 (LCDR1)、SEQ ID NO:14 (LCDR2) 和SEQ ID NO:16 (LCDR3);
- (b) SEQ ID NO:24 (HCDR1)、SEQ ID NO:26 (HCDR2)、SEQ ID NO:28 (HCDR3)、SEQ ID NO:12 (LCDR1)、SEQ ID NO:14 (LCDR2) 和SEQ ID NO:16 (LCDR3);
- (c) SEQ ID NO:34 (HCDR1)、SEQ ID NO:36 (HCDR2)、SEQ ID NO:38 (HCDR3)、SEQ ID NO:12 (LCDR1)、SEQ ID NO:14 (LCDR2) 和SEQ ID NO:16 (LCDR3);
- (d) SEQ ID NO:44 (HCDR1)、SEQ ID NO:46 (HCDR2)、SEQ ID NO:48 (HCDR3)、SEQ ID NO:52 (LCDR1)、SEQ ID NO:54 (LCDR2) 和SEQ ID NO:56 (LCDR3);
- (e) SEQ ID NO:64 (HCDR1)、SEQ ID NO:66 (HCDR2)、SEQ ID NO:68 (HCDR3)、SEQ ID NO:72 (LCDR1)、SEQ ID NO:74 (LCDR2) 和SEQ ID NO:76 (LCDR3);
- (f) SEQ ID NO:84 (HCDR1)、SEQ ID NO:86 (HCDR2)、SEQ ID NO:88 (HCDR3)、SEQ ID NO:

92(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:94(LCDR3);或

(g) SEQ ID NO:102(HCDR1)、SEQ ID NO:104(HCDR2)、SEQ ID NO:106(HCDR3)、SEQ ID NO:110(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:112(LCDR3)。

24.如权利要求18-23中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述三个重链CDR和所述三个轻链CDR包含以下CDR组:

SEQ ID NO:44(HCDR1)、SEQ ID NO:46(HCDR2)、SEQ ID NO:48(HCDR3)、SEQ ID NO:52(LCDR1)、SEQ ID NO:54(LCDR2)和SEQ ID NO:56(LCDR3)。

25.如权利要求18-23中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述三个重链CDR和所述三个轻链CDR包含以下CDR组:

SEQ ID NO:102(HCDR1)、SEQ ID NO:104(HCDR2)、SEQ ID NO:106(HCDR3)、SEQ ID NO:110(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:112(LCDR3)。

26.一种结合至TMPRSS6的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含HCVR内含有的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和LCVR内含有的三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3);其中所述HCVR包含:

(i)选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的氨基酸序列;

(ii)与选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的氨基酸序列具有至少90%同一性的氨基酸序列;

(iii)与选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列;或

(iv)相对于选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的序列具有不超过12个氨基酸取代的氨基酸序列。

27.如权利要求26所述的抗体或抗原结合片段,其中所述LCVR包含:

(a)选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的氨基酸序列;

(b)与选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的氨基酸序列具有至少90%同一性的氨基酸序列;

(c)与选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列;或

(d)相对于选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的序列具有不超过10个氨基酸取代的氨基酸序列。

28.如权利要求26或27所述的抗体或其抗原结合片段,其包含具有选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的氨基酸序列的HCVR。

29.如权利要求26-28中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含具有选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的氨基酸序列的LCVR。

30.如权利要求26-29中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NO:2/10、22/10、32/10、42/50、62/70、82/90或100/108的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

31.如权利要求30所述的抗体或其抗原结合片段,其包含SEQ ID NO:42/50的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

32.如权利要求30所述的抗体或其抗原结合片段,其包含SEQ ID NO:100/108的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

33. 一种结合TMPRSS6的抗体,其中所述抗体包含重链(HC)和轻链(LC),其中所述重链包含选自SEQ ID NO:18、30、40、58、78、96和114组成的组的氨基酸序列。

34. 如权利要求33所述的抗体,其中所述轻链包含选自SEQ ID NO:20、60、80、98和116组成的组的氨基酸序列。

35. 如权利要求33或34所述的抗体,其包含选自SEQ ID NO:18/20、30/20、40/20、58/60、78/80、96/98或114/116的HC/LC氨基酸序列对。

36. 如权利要求35所述的抗体,其包含58/60的HC/LC氨基酸序列对。

37. 如权利要求35所述的抗体,其包含114/116的HC/LC氨基酸序列对。

38. 如权利要求1-37中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体具有选自以下的一种或多种性质:

(a) 是完全人单克隆抗体;

(b) 如在表面等离子体共振测定中测量的,在25℃和37℃下与人TMPRSS6结合的解离常数(K_D)小于约21.2nM;

(c) 如在表面等离子体共振测定中测量的,在25℃和37℃下与猴TMPRSS6结合的 K_D 小于约25.7nM;

(d) 如在表面等离子体共振测定中测量的,在25℃和37℃下与小鼠TMPRSS6结合的 K_D 小于约703nM;

(e) 与表达人TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约2.7nM;

(f) 与表达猴TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约3.6nM;

(g) 与表达小鼠TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约35nM;

(h) 在人TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制人TMPRSS6,抑制百分比大于约90%;

(i) 在人TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制人TMPRSS6并表现出小于约200pM的 IC_{50} ;

(j) 在小鼠TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制小鼠TMPRSS6,抑制百分比大于约42%;

(k) 在小鼠TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制小鼠TMPRSS6并表现出小于约274pM的 IC_{50} ;

(l) 在25℃和37℃下抑制人TMPRSS6,抑制百分比大于约65%;

(m) 在25℃和37℃下抑制人TMPRSS6,并表现出 IC_{50} 小于约10nM;

(n) 在25℃和37℃下抑制猴TMPRSS6,抑制百分比大于约66%;

(o) 在25℃和37℃下抑制猴TMPRSS6,并表现出小于约50nM的 IC_{50} ;

(p) 在25℃和37℃下抑制小鼠TMPRSS6,抑制百分比大于约58%;

(q) 在25℃和37℃下抑制小鼠TMPRSS6,并表现出小于约35nM的 IC_{50} ;

(r) 当向有需要的受试者施用,降低所述受试者的血清铁水平;

(s) 当向有需要的受试者施用,增加所述受试者的血清铁调素水平;

(t) 当向有需要的受试者施用,增加所述受试者的成熟红细胞水平;

(u) 当向有需要的受试者施用,增加所述受试者的脾和/或骨髓中的成熟红细胞水平;

- (v) 当向有需要的受试者施用,增加所述受试者的血红蛋白水平;或者
- (w) 当向有需要的受试者施用,降低所述受试者的转铁蛋白饱和度水平。

39. 如权利要求1-38中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体为完全人单克隆抗体。

40. 一种抗体或其抗原结合片段,其与如权利要求1-38中任一项所述的抗体或其抗原结合片段竞争结合至TMPRSS6。

41. 一种抗体或其抗原结合片段,其与如权利要求1-38中任一项所述的抗体或其抗原结合片段结合相同的表位。

42. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1-41中任一项所述的结合至TMPRSS6的分离的抗体或其抗原结合片段以及药学上可接受的载剂或稀释剂。

43. 一种分离的多核苷酸分子,其包含编码如权利要求1-41中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的HCVR的多核苷酸序列。

44. 一种分离的多核苷酸分子,其包含编码如权利要求1-41中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的LCVR的多核苷酸序列。

45. 一种载体,其包含如权利要求43所述的多核苷酸序列和/或如权利要求44所述的多核苷酸序列。

46. 一组载体,其包含含有如权利要求43所述的多核苷酸的第一载体和含有如权利要求44所述的多核苷酸的第二载体。

47. 一种宿主细胞,其包含如权利要求45所述的载体或如权利要求46所述的载体组。

48. 一种产生特异性结合至TMPRSS6的抗体或其抗原结合片段的方法,其包括在允许产生所述抗体或其抗原结合片段的条件下培养如权利要求47所述的宿主细胞,以及回收如此产生的所述抗体或其抗原结合片段。

49. 如权利要求48所述的方法,其还包括将所述抗体或其抗原结合片段配制成包含药学上可接受的载剂的药物组合物。

50. 一种治疗、预防或改善与铁过载相关的疾病或病症的至少一种症状或适应症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用包含治疗有效量的如权利要求1-41中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的药物组合物。

51. 如权利要求50所述的方法,其中所述疾病或病症为先天性红细胞生成异常性贫血、Diamond-Blackfan贫血、 α 地中海贫血、 β 地中海贫血、输血依赖性溶血性贫血、骨髓增生异常综合征、镰状细胞病、真性红细胞增多症、遗传性血色素沉着病或慢性肝病。

52. 如权利要求51所述的方法,其中所述疾病或病症为 β 地中海贫血。

53. 如权利要求52所述的方法,其中所述疾病或病症为重型 β 地中海贫血或中型 β 地中海贫血。

54. 如权利要求51所述的方法,其中所述疾病或病症是骨髓增生异常综合征。

55. 如权利要求54所述的方法,其中所述疾病或病症为伴有环形铁粒幼细胞的骨髓增生异常综合征。

56. 如权利要求51所述的方法,其中所述疾病或病症为输血依赖性溶血性贫血。

57. 如权利要求56所述的方法,其中所述疾病或病症是由于丙酮酸激酶缺乏引起的输血依赖性溶血性贫血或铁粒幼细胞输血依赖性溶血性贫血。

58. 如权利要求51所述的方法,其中所述疾病或病症是慢性肝病。

59. 如权利要求58所述的方法,其中所述疾病或病症为酒精相关性慢性肝病、丙型肝炎或自身免疫性肝炎。

60. 如权利要求50-59中任一项所述的方法,其中向有需要的受试者预防性或治疗性地施用所述药物组合物。

61. 如权利要求50-60中任一项所述的方法,其中皮下、静脉内、皮内、腹膜内或肌肉内施用所述药物组合物。

抗TMPRSS6抗体及其用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2021年5月11日提交的美国临时专利申请序列号63/187,150的优先权,所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 以ASCII文本文件(名称:728825_RGN9-002PC_ST25.txt;大小:141.9千字节;创建日期:2022年5月10日)电子提交的序列表的内容以引用方式整体并入本文。

发明领域

[0005] 本文公开了特异性结合至跨膜丝氨酸蛋白酶6 (TMPRSS6) 的抗体及其抗原结合片段。本文还公开了包含编码此类抗体的核苷酸序列的核酸、包含所述核酸的宿主细胞以及使用所述抗体及其抗原结合片段的治疗方法。

背景技术

[0006] 跨膜丝氨酸蛋白酶6 (TMPRSS6; 也称为蛋白裂解酶-2或MTP-2) 是II型跨膜丝氨酸蛋白酶,其包含短的N末端胞内区,其后为单个跨膜结构域、单个SEA结构域、两个CUB结构域、三个LDLRa重复结构域和C末端催化丝氨酸蛋白酶结构域。TMPRSS6在肝中高度表达,并通过负调节铁调素表达来在铁稳态中发挥作用。高水平的铁调素通过降低来自细胞表面的铁流出通道运铁素的水平来阻断铁从细胞中输出。TMPRSS6裂解血幼素 (HJV), 导致SMAD信号传导降低,并随后导致编码铁调素的基因HAMP转录下调。

[0007] 铁调素表达水平降低可导致铁过载或血色素沉着病。铁过载病症是一组导致体内过量铁储存的病症。由于身体不能排泄过量铁,过量铁储存在某些器官,例如肝、心脏和胰腺中。储存在此类器官中的过量铁会导致器官损伤和其他相关疾病,诸如糖尿病。

[0008] 铁过载疾病的实例包括遗传性血色素沉着病 (HHC), 其为一种身体从饮食中吸收过多的铁的遗传性病症,以及继发性血色素沉着病,这可能是患有某些血液疾病诸如地中海贫血(一种类型的由血红蛋白产生降低引起的遗传性贫血) 或骨髓增生异常综合征(一种导致获得性贫血的血癌) 的患者的并发症。在 β -地中海贫血和/或骨髓增生异常综合征的情况下,为治疗与疾病相关的贫血而施用重复输血通常会导致铁过载。

[0009] 铁过载病症的治疗选项是有限的,并且通常需要贯穿患者的一生。治疗方案包括铁螯合疗法、通过静脉切开术或静脉切放血术定期清除富含铁的血液以及减少铁摄入的饮食限制。本领域需要额外的和改进的用于治疗铁过载病症的组合物和方法。

发明内容

[0010] 本文公开了特异性结合跨膜丝氨酸蛋白酶6 (TMPRSS6) 蛋白的抗体及其抗原结合片段(即抗TMPRSS6抗体)。在某些实施方案中,抗TMPRSS6抗体是完全人抗体,其以高亲和力结合人TMPRSS6并抑制其蛋白酶活性。

[0011] 在一个方面,本公开提供了一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白

的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段结合至TMPRSS6的催化结构域,但不结合至TMPRSS6的催化三联体。

[0012] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段还结合在TMPRSS6的LDLRa结构域2内包含的位点处。在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段与TMPRSS6的结合不直接封闭TMPRSS6的催化三联体。在其他实施方案中,抗体或其抗原结合片段与TMPRSS6的结合介导TMPRSS6的变构调节。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与TMPRSS6的结合介导TMPRSS6的变构抑制。

[0013] 在另一方面,本公开提供了一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段是TMPRSS6的变构抑制剂。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段将TMPRSS6保持在能够结合至TMPRSS6底物但不裂解TMPRSS6底物的无活性构象。在某些实施方案中,TMPRSS6底物是血幼素 (HJV)。

[0014] 在另一方面,本公开提供了一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段结合在TMPRSS6的催化结构域内在空间上封闭TMPRSS6的催化三联体的位点处。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与血幼素 (HHV) 竞争结合TMPRSS6。

[0015] 在另一方面,本公开提供了一种特异性结合至人跨膜蛋白酶丝氨酸6 (hTMPRSS6) 蛋白 (SEQ ID NO:126) 的分离的抗体或其抗原结合片段,其中如通过氢/氘交换所确定的,所述抗体或其抗原结合片段与hTMPRSS6胞外结构域内包含的一个或多个氨基酸相互作用。

[0016] 在某些实施方案中,如通过氢/氘交换所确定的,抗体或其抗原结合片段与选自以下的氨基酸序列相互作用: (a) SEQ ID NO:126的氨基酸125至133; (b) SEQ ID NO:126的氨基酸586-594; (c) SEQ ID NO:126的氨基酸626至650; (d) SEQ ID NO:126的氨基酸693至703; (e) SEQ ID NO:126的氨基酸704至724;和/或(e) SEQ ID NO:126的氨基酸780至805。在其他实施方案中,如通过氢/氘交换所确定的,抗体或其抗原结合片段与选自以下的氨基酸序列相互作用: (a) SEQ ID NO:126的氨基酸693至703;和/或(b) SEQ ID NO:126的氨基酸780至805。在某些实施方案中,如通过氢/氘交换所测定的,抗体或其抗原结合片段与选自以下的氨基酸序列相互作用: (a) SEQ ID NO:126的氨基酸125至133; (b) SEQ ID NO:126的氨基酸586-594; (c) SEQ ID NO:126的氨基酸626至650;和/或(d) SEQ ID NO:126的氨基酸704-724。

[0017] 在另一方面,本公开提供了一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段,其中如通过冷冻电子显微镜结构建模所确定的,所述抗体或其抗原结合片段与人TMPRSS6 (SEQ ID NO:126) 的残基G699、H701、D724、Q726、L727、I728、P729、L732、E735、G749、Y750、R751、K752和N791相互作用。

[0018] 在某些实施方案中,如通过冷冻电子显微镜结构建模所确定的,抗体或其抗原结合片段还与hTMPRSS6 (SEQ ID NO:126) 的残基V490、S501、T502、C503、I504、S505和K508相互作用。

[0019] 在另一方面,本公开提供了一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6 (TMPRSS6) 蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段,其中如通过冷冻电子显微镜结构建模所确定的,所述抗体或其抗原结合片段与人TMPRSS6的残基R597、R599、I601、D622、L710、R711、E712、G713、G714、P715和I716相互作用。

[0020] 在另一方面,本公开提供了一种特异性结合至跨膜蛋白酶丝氨酸6(TMPRSS6)蛋白的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(HCVR)内包含的三个重链互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3);以及轻链可变区(LCVR)内包含的三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中HCDR3具有选自表1中列出的HCDR3序列的氨基酸序列。

[0021] 在某些实施方案中,LCDR3序列具有选自表1中列出的LCDR3序列的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含表1中列出的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含表1中列出的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0022] 在某些实施方案中,(a) HCDR1结构域具有选自SEQ ID NO:4、24、34、44、64、84或102的氨基酸序列;(b) HCDR2结构域具有选自SEQ ID NO:6、26、36、46、66、86或104的氨基酸序列;(c) HCDR3结构域具有选自SEQ ID NO:8、28、38、48、68、88或106的氨基酸序列;(d) LCDR1结构域具有选自SEQ ID NO:12、52、72、92或110的氨基酸序列;(e) LCDR2结构域具有选自SEQ ID NO:14、54或74的氨基酸序列;并且(f) LCDR3结构域具有选自SEQ ID NO:16、56、76、94或112的氨基酸序列。

[0023] 在某些实施方案中,三个重链CDR和三个轻链CDR包含以下CDR组之一:(a) SEQ ID NO:4(HCDR1)、SEQ ID NO:6(HCDR2)、SEQ ID NO:8(HCDR3)、SEQ ID NO:12(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:16(LCDR3);(b) SEQ ID NO:24(HCDR1)、SEQ ID NO:26(HCDR2)、SEQ ID NO:28(HCDR3)、SEQ ID NO:12(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:16(LCDR3);(c) SEQ ID NO:34(HCDR1)、SEQ ID NO:36(HCDR2)、SEQ ID NO:38(HCDR3)、SEQ ID NO:12(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:16(LCDR3);(d) SEQ ID NO:44(HCDR1)、SEQ ID NO:46(HCDR2)、SEQ ID NO:48(HCDR3)、SEQ ID NO:52(LCDR1)、SEQ ID NO:54(LCDR2)和SEQ ID NO:56(LCDR3);(e) SEQ ID NO:64(HCDR1)、SEQ ID NO:66(HCDR2)、SEQ ID NO:68(HCDR3)、SEQ ID NO:72(LCDR1)、SEQ ID NO:74(LCDR2)和SEQ ID NO:76(LCDR3);(f) SEQ ID NO:84(HCDR1)、SEQ ID NO:86(HCDR2)、SEQ ID NO:88(HCDR3)、SEQ ID NO:92(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:94(LCDR3);或(g) SEQ ID NO:102(HCDR1)、SEQ ID NO:104(HCDR2)、SEQ ID NO:106(HCDR3)、SEQ ID NO:110(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:112(LCDR3)。

[0024] 在某些实施方案中,三个重链CDR和三个轻链CDR包含以下CDR组:SEQ ID NO:44(HCDR1)、SEQ ID NO:46(HCDR2)、SEQ ID NO:48(HCDR3)、SEQ ID NO:52(LCDR1)、SEQ ID NO:54(LCDR2)和SEQ ID NO:56(LCDR3)。在其他实施方案中,三个重链CDR和三个轻链CDR包含以下CDR组:SEQ ID NO:102(HCDR1)、SEQ ID NO:104(HCDR2)、SEQ ID NO:106(HCDR3)、SEQ ID NO:110(LCDR1)、SEQ ID NO:14(LCDR2)和SEQ ID NO:112(LCDR3)。

[0025] 在另一方面,本公开提供了一种结合至TMPRSS6的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含HCVR内包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和LCVR内包含的三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3);其中HCVR包含:(i) 选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的氨基酸序列;(ii) 与选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的氨基酸序列具有至少90%同一性的氨基酸序列;(iii) 与选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列;或(iv) 相对于选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的序列具有不超过12个氨基酸取代的氨基酸序列。

[0026] 在某些实施方案中,LCVR包含:(a)选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的氨基酸序列;(b)与选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的氨基酸序列具有至少90%同一性的氨基酸序列;(c)与选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列;或(d)相对于选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的序列具有不超过10个氨基酸取代的氨基酸序列。

[0027] 在某些实施方案中,HCVR包含选自SEQ ID NO:2、22、32、42、62、82或100的氨基酸序列。在某些实施方案中,LCVR包含选自SEQ ID NO:10、50、70、90或108的氨基酸序列。

[0028] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NO:2/10、22/10、32/10、42/50、62/70、82/90或100/108的HCVR/LCVR氨基酸序列对。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO:42/50的HCVR/LCVR氨基酸序列对。在其他实施方案中,抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO:100/108的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0029] 在另一方面,本公开提供了一种结合至TMPRSS6的抗体,其中所述抗体包含重链(HC)和轻链(LC),其中所述重链包含选自由SEQ ID NO:18、30、40、58、78、96和114组成的组的氨基酸序列。

[0030] 在某些实施方案中,轻链包含选自由SEQ ID NO:20、60、80、98和116组成的组的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体包含选自SEQ ID NO:18/20、30/20、40/20、58/60、78/80、96/98或114/116的HC/LC氨基酸序列对。在某些实施方案中,抗体包含58/60的HC/LC氨基酸序列对。在其他实施方案中,抗体包含114/116的HC/LC氨基酸序列对。

[0031] 在某些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段具有选自以下的一种或多种性质:(a)是完全人单克隆抗体或其抗原结合片段;(b)如在表面等离子体共振测定中测量的,在25°C和37°C下与人TMPRSS6结合的解离常数(K_D)小于约21.2nM;(c)如在表面等离子体共振测定中测量的,在25°C和37°C下与猴TMPRSS6结合的 K_D 小于约25.7nM;(d)如在表面等离子体共振测定中测量的,在25°C和37°C下与小鼠TMPRSS6结合的 K_D 小于约703nM;(e)与表达人TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约2.7nM;(f)与表达猴TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约3.6nM;(g)与表达小鼠TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约35nM;(h)在人TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制人TMPRSS6,抑制百分比大于约90%;(i)在人TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制人TMPRSS6并表现出小于约200pM的 IC_{50} ;(j)在小鼠TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制小鼠TMPRSS6,抑制百分比大于约42%;(k)在小鼠TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制小鼠TMPRSS6并表现出小于约274pM的 IC_{50} ;(l)在25°C和37°C抑制人TMPRSS6,抑制百分比大于约65%;(m)在25°C和37°C下抑制人TMPRSS6并表现出小于约10nM的 IC_{50} ;(n)在25°C和37°C抑制猴TMPRSS6,抑制百分比大于约66%;(o)在25°C和37°C抑制猴TMPRSS6,并表现出小于约50nM的 IC_{50} ;(p)在25°C和37°C抑制小鼠TMPRSS6,抑制百分比大于约58%;(q)在25°C和37°C抑制小鼠TMPRSS6,并表现出小于约35nM的 IC_{50} ;(r)当向有需要的受试者施用,降低受试者的血清铁水平;(s)当向有需要的受试者施用,增加受试者的血清铁调素水平;(t)当向有需要的受试者施用,增加受试者的成熟红细胞水平;(u)当向有需要的受试者施用,增加受试者脾和/或骨髓中的成熟红细胞水平;(v)当向有需要的受试者施用,增加受试者的血红蛋白水平;或(w)当向有需要的受试者施用,降低受试者的转铁蛋白饱和度水平。在某些实施方案中,抗体是完全人单克隆抗体。

[0032] 在另一方面,本公开提供了一种抗体或其抗原结合片段,其与本文公开的抗体或其抗原结合片段竞争结合TMPRSS6。

[0033] 在另一方面,本公开提供了一种抗体或其抗原结合片段,其与本文公开的抗体或其抗原结合片段结合至相同的表位。

[0034] 在另一方面,本公开提供了一种药物组合物,其包含与如本文所公开的TMPRSS6结合的分离的抗体或其抗原结合片段以及药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0035] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸分子,其包含编码本文公开的抗体或其抗原结合片段的HCVR的多核苷酸序列。

[0036] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸分子,其包含编码本文公开的抗体或其抗原结合片段的LCVR的多核苷酸序列。

[0037] 在另一方面,本公开提供了一种载体,其包含本文公开的多核苷酸序列。

[0038] 在另一方面,本公开提供了一组载体,其包含第一载体和第二载体,所述第一载体包含编码本文公开的抗体或其抗原结合片段的HCVR的多核苷酸序列,所述第二载体包含编码本文公开的抗体或其抗原结合片段的LCVR的多核苷酸序列。

[0039] 在另一方面,本公开提供了一种宿主细胞,其包含本文公开的载体或载体组。

[0040] 在另一方面,本公开提供了一种产生特异性结合至TMPRSS6的抗体或其抗原结合片段的方法,其包括在允许产生所述抗体或其抗原结合片段的条件下培养本公开的宿主细胞,以及回收如此产生的抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,方法还包括将抗体或其抗原结合片段配制成包含药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0041] 在另一方面,本公开提供了一种治疗、预防或改善与铁过载相关的疾病或病症的至少一种症状或适应症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用包含治疗有效量的本公开的抗体或其抗原结合片段的药物组合物。

[0042] 在某些实施方案中,疾病或病症是先天性红细胞生成异常性贫血、Diamond-Blackfan贫血、 α 地中海贫血、 β 地中海贫血、输血依赖性溶血性贫血、骨髓增生异常综合征、镰状细胞病、真性红细胞增多症、遗传性血色素沉着病或慢性肝病。在某些实施方案中,疾病或病症是 β 地中海贫血。在某些实施方案中,疾病或病症是重型 β 地中海贫血或中型 β 地中海贫血。在某些实施方案中,疾病或病症是骨髓增生异常综合征。在某些实施方案中,疾病或病症是伴有环形铁粒幼细胞的骨髓增生异常综合征。在某些实施方案中,疾病或病症是输血依赖性溶血性贫血。在某些实施方案中,疾病或病症是由于丙酮酸激酶缺乏引起的输血依赖性溶血性贫血或铁粒幼细胞输血依赖性溶血性贫血。在某些实施方案中,疾病或病症是慢性肝病。在某些实施方案中,疾病或病症是酒精相关性慢性肝病、丙型肝炎或自身免疫性肝炎。

[0043] 在某些实施方案中,向有需要的受试者预防性或治疗性地施用药物组合物。在其他实施方案中,皮下、静脉内、皮内、腹膜内或肌肉内施用药物组合物。

[0044] 通过阅读随后的具体实施方式,其他实施方案将变得显而易见。

附图说明

[0045] 图1是实施例15中小鼠强迫跑步研究的研究计划的图示。

[0046] 图2示出REGN7999治疗对Hbb^{th3/+}小鼠中的跑步距离(图2A)和跑步距离内的乳酸盐

产量(图2B)的影响。对照动物是用同型对照抗体(REGN1945)治疗的野生型(WT) C57BL/6小鼠或Hbb^{th3/+}小鼠。注意:所有数字数据均表示为平均值±标准偏差(SD);P<0.05表示在单向ANOVA和Tukey事后多重比较检验下具有统计显著性差异。

[0047] 图3示出用REGN7999或同型对照抗体(REGN1945)治疗的野生型(WT) C57BL/6小鼠的跑步距离。

[0048] 图4示出用REGN7999或Acvr2b(L79D)-Fc治疗8周的Hbb^{th3/+}小鼠中血清铁调素(图4A)、血清铁(图4B)和肝铁含量(图4C)的水平。对照动物是用同型对照抗体(REGN1945)治疗的野生型(WT) C57BL/6小鼠或Hbb^{th3/+}小鼠。

[0049] 图5示出用REGN7999、Acvr2b(L79D)-Fc或同型对照抗体(REGN1945)治疗8周后,WT或Hbb^{th3/+}小鼠的平均体重(g)。用同型对照治疗的WT小鼠:圆圈,黑色实线。用同型对照治疗的Hbb^{th3/+}小鼠:正方形,灰色实线。用REGN7999治疗的Hbb^{th3/+}小鼠:三角形(上),黑色虚线。用Acvr2b(L79D)-Fc治疗的Hbb^{th3/+}小鼠:三角形(下),灰色虚线。

[0050] 图6示出用REGN7999、Acvr2b(L79D)-Fc或同型对照抗体(REGN1945)治疗8周后,WT或Hbb^{th3/+}小鼠的平均脾重量(g)。

[0051] 图7示出用REGN7999、Acvr2b(L79D)-Fc或同型对照抗体(REGN1945)治疗8周后,来自WT或Hbb^{th3/+}小鼠的脾成熟RBC的量(%CD44^低Ter119⁺细胞)。

[0052] 图8示出在用REGN7999、Acvr2b(L79D)-Fc或同型对照抗体(REGN1945)治疗8周后,来自WT或Hbb^{th3/+}小鼠的网织红细胞的量(%CD44^高Ter119⁺细胞)。

具体实施方式

[0053] 在描述本方法之前,应当理解,本公开不限于所描述的特定方法和实验条件,因为这些方法和条件可以变化。还应理解本文使用的术语仅出于描述具体实施方案的目的并且不意图具有限制性。

[0054] 除非另外定义,否则本文中所用的所有技术和科学术语具有与相关领域普通技术人员通常所理解相同的含义。尽管与本文所述类似或等效的任何方法和材料可用于实施或测试所公开的实施方案,但现在描述优选的方法和材料。本文提及的所有出版物均以引用的方式整体并入本文。

[0055] 定义

[0056] 术语“TMPRSS6”,也称为“蛋白裂解酶-2”或“MTP-2”,是指跨膜丝氨酸蛋白酶6。TMPRSS6是II型跨膜丝氨酸蛋白酶,其包含短的N末端胞内区(人TMPRSS6(SEQ ID NO:126)的残基1-55),随后为单个跨膜结构域(SEQ ID NO:126的残基56-76)、单个SEA(海胆精子蛋白、肠肽酶和聚集蛋白)结构域(SEQ ID NO:126的残基84-209)、两个CUB(C1s/C1r、海胆胚胎生长因子和骨形态发生蛋白(BMP)-1)结构域(CUB结构域1的SEQ ID NO:126的残基213-336和CUB结构域2的SEQ ID NO:126的残基335-452)、三个LDLRa(低密度脂蛋白受体,A类)重复结构域(LDLRa结构域1的SEQ ID NO:126的残基457-489、LDLRa结构域2的SEQ ID NO:126的残基492-526和LDLRa结构域3的SEQ ID NO:126的残基530-567)和C末端催化丝氨酸蛋白酶结构域(SEQ ID NO:126的残基577-811)。催化丝氨酸蛋白酶结构域含有组氨酸(人TMPRSS6(SEQ ID NO:126)的残基617)、天冬氨酸(SEQ ID NO:126的残基668)和丝氨酸残基(SEQ ID NO:126的残基762)的催化三联体(Lee,Acta Haematol. (2009) 122(2-3):87-96;

Ramsay等人, *Front. Biosci.* (2008) 13:569-579)。TMPRSS6已被证明通过裂解BMP辅助受体血幼素(HJV)来充当铁调素产生的负调节因子,从而在铁稳态中发挥作用(Dion等人, *Scientific Reports* (2018) 8:12562)。全长人TMPRSS6蛋白(同种型2)的氨基酸序列由UniProtKB/Swiss-Prot中以登录号Q8IU80提供的811氨基酸序列举例说明,并且对应于NCBI登录号NP_705837.1(TMPSS6_HUMAN;SEQ ID NO:126)。人TMPRSS6蛋白由NCBI参考序列NM_153609.3(SEQ ID NO:127)所表示的核酸序列编码。全长食蟹猴TMPRSS6蛋白的氨基酸序列由UniProtKB/Swiss-Prot中以登录号A0A2K5VAP0提供的氨基酸序列举例说明,并且对应于NCBI登录号XP_005567441.1(A0A2K5VAP0_MACFA;SEQ ID NO:128)。食蟹猴TMPRSS6蛋白由NCBI参考序列XM_005567384(SEQ ID NO:129)所表示的核酸序列编码。全长小鼠TMPRSS6蛋白的氨基酸序列由UniProtKB/Swiss-Prot中以登录号Q9DBI0提供的氨基酸序列举例说明,并且对应于NCBI登录号NP_082178.2(TMPSS6_MOUSE;SEQ ID NO:130)。小鼠TMPRSS6蛋白由NCBI参考序列NM_027902.2(SEQ ID NO:131)所表示的核酸序列编码。术语“TMPRSS6”包括重组TMPRSS6蛋白或其片段。所述术语还包括与例如组氨酸标签、小鼠或人Fc或信号序列诸如ROR1(例如,SEQ ID NO:117-119)偶联的TMPRSS6蛋白或其片段。

[0057] 术语“约”在与特定引用的数值结合使用时,意味着所述值可以与引用的值相差不超过1%。例如,如本文所用,表述“约100”包括99和101以及其间的所有值(例如,99.1、99.2、99.3、99.4...100.7、100.8、100.9)。

[0058] 如本文所用,术语“抗体”意图指代由通过二硫键互连的四个多肽链、两个重(H)链和两个轻(L)链(即,“完整抗体分子”)以及其多聚体(例如IgM)或其抗原结合片段构成的免疫球蛋白分子。各重链由重链可变区(“HCVR”或“V_H”)和重链恒定区(由结构域C_H1、C_H2和C_H3构成)构成。各轻链由轻链可变区(“LCVR”或“V_L”)和轻链恒定区(C_L)构成。V_H区和V_L区还可细分为高变区(称为互补决定区(CDR)),所述高变区之间散布有更保守的区(称为框架区(FR))。每个V_H和V_L由三个CDR和四个FR组成,从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本公开的某些实施方案中,抗体(或其抗原结合片段)的FR可以与人种系序列相同,或者可以是天然或人工修饰的。氨基酸共有序列可以基于两个或更多个CDR的并行分析来限定。

[0059] 一个或多个CDR残基的取代或一个或多个CDR的省略也是可能的。在科学文献中已描述了抗体,其中可以省去一个或两个CDR用于结合。Padlan等人(1995, *FASEB J.* 9:133-139)基于公开的晶体结构来分析抗体与其抗原之间的接触区域,并得出结论,仅约五分之一至三分之一的CDR残基实际上接触抗原。Padlan还发现了许多抗体,其中一个或两个CDR没有与抗原接触的氨基酸(还参见Vajdos等人(2002) *J Mol Biol* 320:415-428)。

[0060] 不接触抗原的CDR残基可以基于先前的研究(例如,通常不需要CDRH2中的残基H60-H65),从位于Chothia CDR之外的Kabat CDR区域,通过分子建模和/或经验来鉴定。如果CDR或其残基被省略,它通常被占据另一个人抗体序列或此类序列的共有序列中相应位置的氨基酸取代。也可以凭经验选择CDR内的取代位置和待取代的氨基酸。经验取代可以是保守取代或非保守取代。

[0061] 与相应的种系序列相比,本文公开的完全人抗TMPRSS6单克隆抗体可在重链和轻链可变结构域的框架区和/或CDR区中包含一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。可通过将本文所公开的氨基酸序列与可获自例如公共抗体序列数据库的种系序列相比较而轻易

地确定此类突变。本公开包括抗体及其抗原结合片段,其衍生自本文公开的任何氨基酸序列,其中一个或多个框架区和/或CDR区内的一个或多个氨基酸突变为从抗体衍生的种系序列的相应残基,或另一种人种系序列的相应残基,或相应种系残基的保守氨基酸取代(此类序列变化在本文中统称为“种系突变”)。本领域普通技术人员以本文所公开的重链和轻链可变区序列为起始物质,可容易地产生许多包含一个或多个单独的种系突变或其组合的抗体和抗原结合片段。在某些实施方案中, V_H 和/或 V_L 结构域内的所有框架和/或CDR残基均突变回在衍生出抗体的原始种系序列中发现的残基。在其他实施方案中,仅某些残基突变回原始种系序列,例如仅在FR1的前8个氨基酸内或FR4的最后8个氨基酸内发现的突变残基或仅在CDR1、CDR2或CDR3内发现的突变残基。在其他实施方案中,一个或多个框架和/或CDR残基中的一者或多者突变为不同种系序列(即,不同于最初衍生出抗体的种系序列的种系序列)的一个或多个相应残基。此外,本文公开的抗体可在框架和/或CDR区内含有两个或更多个种系突变的任何组合,例如,其中某些单个残基突变为特定种系序列的相应残基,而不同于原始种系序列的某些其他残基被保留或突变为不同种系序列的相应残基。一旦获得,可以容易地测试含有一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种所需性质,诸如改善的结合特异性、增加的结合亲和力、改善或增强的拮抗生物学性质、降低的免疫原性等。以这种一般方式获得的抗体和抗原结合片段涵盖在本公开中。

[0062] 本文还公开了完全人抗TMPRSS6单克隆抗体,其包含本文公开的具有一个或多个保守取代的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的变体。例如,本公开包括具有HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗TMPRSS6抗体,其相对于本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等的保守氨基酸取代。

[0063] 如本文所用,术语“人抗体”或“完全人抗体”旨在包括具有源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。本文公开的人mAb可包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变引入的或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR中,特别是在CDR3中。然而,如本文所用,术语“人抗体”或“完全人抗体”不包括如下mAb,其中源于另一种哺乳动物物种(例如小鼠)种系的CDR序列已被移植到人FR序列上。所述术语包括在非人哺乳动物或非人哺乳动物细胞中重组产生的抗体。所述术语不意图包括从人受试者中分离或产生的抗体。

[0064] 如本文所用,术语“重组的”是指通过本领域已知的技术或方法如重组DNA技术产生、表达、分离或获得的抗体或其抗原结合片段,所述技术或方法包括例如DNA剪接和转基因表达。所述术语是指在非人哺乳动物(包括转基因非人哺乳动物,例如转基因小鼠)或细胞(例如CHO细胞)表达系统中表达的抗体,或从重组组合人抗体文库中分离的抗体。

[0065] 术语“特异性结合”或“特异性结合至”等是指抗体或其抗原结合片段与在生理条件下相对稳定的抗原形成复合物。特异性结合的特征可以在于至少约 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 或更小的平衡解离常数(例如更小的 K_D 表示更紧密的结合)。用于确定两个分子是否特异性结合的方法是本领域中熟知的,并且包括例如平衡透析、表面等离子体共振等。如本文所述,已通过表面等离子体共振,例如BIAcore™鉴定了抗体,其特异性结合TMPRSS6。此外,结合至TMPRSS6中的一个结构域的多特异性抗体和结合至TMPRSS6的两个不同区域的一个或多个额外抗原或双特异性抗体仍被认为是“特异性结合”的抗体,如本文所用。

[0066] 术语“高亲和力”抗体是指对TMPRSS6具有以 K_D 表示的以下结合亲和力的mAb:至少

10^{-8}M ; 优选地 10^{-9}M ; 更优选地 10^{-10}M , 甚至更优选地 10^{-11}M , 如通过表面等离子体共振例如 BIACORE™ 或溶液亲和 ELISA 测量的。

[0067] 术语“缓慢解离速率”、“K_{off}”或“kd”意指从 TMPRSS6 解离的抗体, 其速率常数为 $1 \times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ 或更小, 优选 $1 \times 10^{-4}\text{s}^{-1}$ 或更小, 如通过表面等离子体共振例如 BIACORE™ 确定的。

[0068] 如本文所用, 术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括特异性结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或基因工程的多肽或糖蛋白。如本文所用, 术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指保留结合至 TMPRSS6 蛋白的能力的一个或多个抗体片段。

[0069] 在具体实施方案中, 本公开的抗体或抗体片段可与一个部分诸如配体或治疗性部分 (“免疫缀合物”)、第二抗 TMPRSS6 抗体或可用于治疗 TMPRSS6 相关疾病或病症的任何其他治疗性部分缀合。

[0070] 如本文所用, “分离的抗体”旨在是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体 (Ab) 的抗体 (例如, 特异性结合 TMPRSS6 或其片段的分离的抗体, 基本上不含特异性结合除 TMPRSS6 以外的抗原的 Ab)。

[0071] 如本文所用, 术语“表面等离子体共振”是指一种光学现象, 其允许通过检测生物传感器基质中蛋白质浓度的变化来分析实时生物分子相互作用, 例如使用 BIACORE™ 系统 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)。

[0072] 如本文所用, 术语“K_d”旨在是指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0073] 术语“表位”是指与抗体分子可变区中的特异性抗原结合位点 (称为互补位) 相互作用的抗原决定簇。单个抗原可具有超过一个表位。因此, 不同抗体可结合于抗原上的不同区域并且可具有不同生物效应。术语“表位”也是指 B 细胞和/或 T 细胞所响应的抗原上的位点。其也是指与抗体结合的抗原区域。表位可以被定义为结构性的或功能性的。功能表位通常是结构表位的子集, 并且具有直接有助于相互作用亲和力的那些残基。表位也可以是构象的, 即由非线性氨基酸构成。在某些实施方案中, 表位可以包括分子的化学活性表面基团的决定簇, 所述基团例如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基, 并且在某些实施方案中, 可以具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特征。

[0074] 在一些实施方案中, 本文公开的抗体和抗原结合片段包含表位或表位的一部分, 其包含人 TMPRSS6 的 G699、H701、D724、Q726、L727、I728、P729、L732、E735、G749、Y750、R751、K752 和 N791 (NP_705837.1; SEQ ID NO:126)。在一些实施方案中, 本文公开的抗体和抗原结合片段包含表位或表位的一部分, 其包含人 TMPRSS6 的 V490、S501、T502、C503、I504、S505 和 K508 (NP_705837.1; SEQ ID NO:126)。在一些实施方案中, 本文公开的抗体和抗原结合片段包含含有人 TMPRSS6 的两部分的表位, 第一部分包含人 TMPRSS6 的 G699、H701、D724、Q726、L727、I728、P729、L732、E735、G749、Y750、R751、K752 和 N791, 第二部分包含人 TMPRSS6 的 V490、S501、T502、C503、I504、S505 和 K508 (NP_705837.1; SEQ ID NO:126)。

[0075] 在其他实施方案中, 本文公开的抗体和抗原结合片段包含表位或表位的一部分, 其包含人 TMPRSS6 的 R597、R599、I601、D622、L710、R711、E712、G713、G714、P715 和 I716 (NP_705837.1; SEQ ID NO:126)。

[0076] 如本文所用, 术语“交叉竞争”意指抗体或其抗原结合片段与抗原结合, 并抑制或阻断另一种抗体或其抗原结合片段的结合。所述术语还包括两种抗体在两个取向上的竞

争,即第一抗体结合并阻断第二抗体的结合,反之亦然。在某些实施方案中,第一抗体和第二抗体可以结合至相同表位。或者,第一抗体和第二抗体可以结合至不同但重叠的表位,使得一种抗体的结合例如经由空间位阻抑制或阻断第二抗体的结合。抗体之间的交叉竞争可以通过本领域已知的方法来测量,例如通过实时、无标记的生物层干涉测定法测量。两种抗体之间的交叉竞争可以表示为由于自身结合(其中第一抗体和第二抗体是相同抗体)导致的小于背景信号的第二抗体的结合。2种抗体之间的交叉竞争可以表示为例如小于基线自身背景结合的第二抗体的结合百分比(其中第一抗体和第二抗体是相同抗体)。

[0077] 术语“基本同一性”或“基本相同”当指核酸或其片段时,表示当在适当核苷酸插入或缺失的情况下与另一个核酸(或其互补链)进行最佳比对时,如通过任何公知的序列同一性算法诸如FASTA、BLAST或GAP测量,至少约90%,更优选至少约95%、96%、97%、98%或99%的核苷酸碱基具有核苷酸序列同一性,如下所讨论的。在某些情况下,与参考核酸分子具有基本同一性的核酸分子可编码与由参考核酸分子编码的多肽具有相同或基本上类似的氨基酸序列的多肽。

[0078] 当应用于多肽时,术语“基本上类似性”或“基本上类似”是指两个肽序列在诸如通过程序GAP或BESTFIT使用默认缺口权重进行最佳比对时,共享至少90%序列同一性,甚至更优选至少95%、98%或99%序列同一性。优选地,不相同的残基位置不同之处在于保守氨基酸取代。“保守氨基酸取代”为氨基酸残基由侧链(R基团)具有类似化学特性(例如电荷或疏水性)的另一氨基酸残基取代的取代。一般来说,保守氨基酸取代将基本上不改变蛋白质的功能特性。在两个或更多个氨基酸序列彼此不同之处在于保守取代的情况下,类似性百分比或程度可以向上调整,以校正取代的保守性质。进行这种调整的方法是本领域技术人员熟知的。参见例如Pearson(1994)Methods Mol.Biol.24:307-331,所述文献以引用的方式并入本文。具有化学性质相似的侧链的氨基酸组的实例包括1)脂族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2)脂族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4)芳族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;6)酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸,和7)含硫侧链:半胱氨酸和甲硫氨酸。优选保守氨基酸取代组为:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸盐-天冬氨酸盐以及天冬酰胺-谷氨酰胺。或者,保守置换是Gonnet等人(1992)Science 256:1443-45中公开的PAM250对数似然矩阵中具有正值的任何变化,所述文献以引用的方式并入本文。“适度保守”置换是在PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何变化。

[0079] 多肽的序列类似性通常使用序列分析软件来测量。蛋白质分析软件使用分配给各种取代、缺失以及其他修饰(包括保守氨基酸取代)的类似性度量来匹配类似序列。举例来说,GCG软件含有诸如GAP和BESTFIT等程序,这些程序可以在默认参数情况下用于确定紧密相关的多肽(诸如来自不同物种的生物体的同源多肽)之间或野生型蛋白质与其突变蛋白之间的序列同源性或序列同一性。参见例如GCG 6.1版。多肽序列也可以使用FASTA与默认参数或推荐参数进行比较;GCG版本6.1的程序。FASTA(例如,FASTA2和FASTA3)提供查询序列与检索序列之间最佳重叠的区域的比对和序列同一性百分比(Pearson(2000)同上)。当将序列与含有来自不同生物体的大量序列的数据库进行比较时,另一种优选的算法是使用默认参数的计算机程序BLAST,尤其是BLASTP或TBLASTN。参见例如Altschul等人.(1990)

J.Mol.Biol.215:403-410和(1997)Nucleic Acids Res.25:3389-3402,其各自以引用的方式并入本文。

[0080] 短语“治疗有效量”是指施用时产生所需效果的量。确切的量将取决于治疗目的,并且将由本领域技术人员使用已知技术确定(参见例如Lloyd(1999)The Art,Science and Technology of Pharmaceutical Compounding)。

[0081] 如本文所用,术语“受试者”是指需要改善、预防和/或治疗与TMPRSS6相关的疾病或病症诸如 β -地中海贫血或骨髓增生异常综合征的动物,优选哺乳动物,更优选人。所述术语包括患有这种疾病或病症或有患这种疾病或病症风险的人受试者。

[0082] 如本文所用,术语“治疗(treat/treating/treatment)”是指由于向有需要的受试者施用治疗剂(诸如本文公开的抗体或抗原结合片段)而导致的TMPRSS6相关疾病或病症的至少一种症状或适应症的严重程度的减轻或改善。所述术语包括抑制疾病的发展或症状/适应症的恶化。所述术语还包括疾病的阳性预后,即在施用治疗剂诸如本文公开的抗体或抗原结合片段后,受试者可能没有疾病或可能疾病减轻。可以治疗剂量向受试者施用治疗剂。

[0083] 术语“预防(prevent/preventing/prevention)”是指在施用本文公开的抗体或抗原结合片段后,抑制TMPRSS6相关疾病或病症的表现形式或这种疾病或病症的任何症状或适应症。

[0084] 抗体的抗原结合片段

[0085] 除非特别指出,否则如本文所用,术语“抗体”应理解为包括包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链的抗体分子(即,“全抗体分子”)及其抗原结合片段。如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括特异性结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或基因工程的多肽或糖蛋白。如本文所用,术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指保留特异性结合至TMPRSS6蛋白的能力的一个或多个抗体片段。抗体片段可包括Fab片段、F(ab')₂片段、Fv片段、dAb片段、含有CDR的片段或分离的CDR。可以使用例如蛋白水解消化或重组基因工程技术的任何合适标准技术,例如从完整抗体分子衍生出抗体的抗原结合片段,所述重组基因工程技术涉及编码抗体可变结构域和任选恒定结构域的DNA的操纵和表达。这种DNA是已知的和/或可容易地从例如商业来源、DNA文库(包括,例如噬菌体-抗体文库)获得,或者可以合成。可以用化学方式或通过使用分子生物学技术对DNA进行测序和操纵,例如以将一个或多个可变结构域和/或恒定结构域排列成合适的构型,或引入密码子、形成半胱氨酸残基、修饰、添加或删除氨基酸等。

[0086] 抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')₂片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;和(vii) 由模拟抗体高变区的氨基酸残基(例如分离的互补决定区(CDR),诸如CDR3肽)或限制性FR3-CDR3-FR4肽组成的最小识别单元。在如本文所用的表述“抗原结合片段”中还包括其他工程化分子,诸如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微型抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域。

[0087] 抗体的抗原结合片段将典型地包含至少一个可变结构域。可变结构域可以是任何大小或氨基酸组成,并且通常包含至少一个CDR,其与一个或多个框架序列相邻或在同一框

架内。在具有与V_L结构域相关联的V_H结构域的抗原结合片段中,V_H和V_L结构域可以任何适合的排列相对于彼此定位。例如,可变区可以是二聚体,并且含有V_H-V_H、V_H-V_L或V_L-V_L二聚体。可替代地,抗体的抗原结合片段可含有单聚V_H或V_L结构域。

[0088] 在某些实施方案中,抗体的抗原结合片段可含有共价键联至至少一个恒定结构域的至少一个可变结构域。可以在本文公开的抗体的抗原结合片段中发现的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例性构型包括:(i) V_H-C_H1;(ii) V_H-C_H2;(iii) V_H-C_H3;(iv) V_H-C_H1-C_H2;(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3;(vi) V_H-C_H2-C_H3;(vii) V_H-C_L;(viii) V_L-C_H1;(ix) V_L-C_H2;(x) V_L-C_H3;(xi) V_L-C_H1-C_H2;(xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3;(xiii) V_L-C_H2-C_H3;和(xiv) V_L-C_L。在可变结构域和恒定结构域的任何构型,包括上文所列的示例性构型中的任一者中,可变结构域和恒定结构域可彼此直接连接或可通过完全或部分铰链或接头区连接。铰链区可由至少2个(例如5、10、15、20、40、60或更多个)氨基酸组成,这导致单个多肽分子中相邻可变结构域和/或恒定结构域之间的柔性或半柔性键联。此外,本文公开的抗体的抗原结合片段可包含以上列出的任何可变结构域和恒定结构域构型的同型二聚体或异型二聚体(或其他多聚体),它们彼此之间和/或与一个或多个单体V_H或V_L结构域(例如通过二硫键)非共价缔合。

[0089] 与全抗体分子一样,抗原结合片段可以是单特异性或多特异性的(例如,双特异性)。抗体的多特异性抗原结合片段通常将包含至少两个不同的可变结构域,其中每个可变结构域能够特异性结合至单独的抗原或同一抗原上的不同表位。使用本领域可用的常规技术,任何多特异性抗体形式,包括本文公开的示例性双特异性抗体形式,都可以适用于本文公开的抗体的抗原结合片段的背景下。

[0090] 人抗体的制备

[0091] 在转基因小鼠中产生人抗体的方法是本领域已知的。任何此类已知的方法都可用于本公开的上下文中,以制备特异性结合至TMPRSS6的人抗体。

[0092] 包含以下任一种的免疫原可用于产生针对TMPRSS6蛋白的抗体。在某些实施方案中,本文公开的抗体获自用全长天然TMPRSS6蛋白(参见例如UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q8IU80)或用编码所述蛋白质或其片段的DNA免疫的小鼠。或者,可使用标准生物化学技术产生所述蛋白质或其片段,并将其修饰并用作免疫原。

[0093] 在一些实施方案中,免疫原可以是在大肠杆菌或任何其他真核或哺乳动物细胞诸如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中表达的重组TMPRSS6蛋白或其片段(例如,SEQ ID NO:117-119)。

[0094] 使用 **VELOCIMMUNE®** 技术(参见例如US 6,596,541,Regeneron Pharmaceuticals, **VELOCIMMUNE®**) 或任何其他已知用于产生单克隆抗体的方法,最初分离具有人可变区和小鼠恒定区的TMPRSS6的高亲和力嵌合抗体。**VELOCIMMUNE®** 技术包括产生具有基因组的转基因小鼠,所述基因组包含与内源小鼠恒定区基因座可操作地连接的人重链和轻链可变区,使得小鼠响应于抗原刺激产生包含人可变区和小鼠恒定区的抗体。分离编码抗体重链和轻链可变区的DNA,并与编码人重链和轻链恒定区的DNA可操作地连接。然后在能够表达完全人抗体的细胞中表达DNA。

[0095] 通常,用感兴趣的抗原攻击 **VELOCIMMUNE®** 小鼠,并从表达抗体的小鼠中回收淋巴细胞(诸如B细胞)。淋巴细胞可以与骨髓瘤细胞系融合以制备永生杂交瘤细胞系,

并且筛选和选择此类杂交瘤细胞系以鉴定产生对感兴趣的抗原具有特异性的抗体的杂交瘤细胞系。可以分离编码重链和轻链可变区的DNA并将其连接到重链和轻链的所需同型恒定区。这种抗体蛋白可以在细胞,例如CHO细胞中产生。或者,可以直接从抗原特异性淋巴细胞中分离编码抗原特异性嵌合抗体或轻链和重链可变结构域的DNA。

[0096] 最初,分离具有人可变区和小鼠恒定区的高亲和力嵌合抗体。如在以下实验部分中,针对所需特征,包括亲和力、选择性、表位等,对抗体进行表征和选择。用所需人恒定区置换小鼠恒定区,以产生本文公开的完全人抗体,例如野生型或修饰的IgG1或IgG4。虽然所选恒定区可根据特定用途而变化,但高亲和力抗原结合和靶标特异性特征存在于可变区中。

[0097] 生物等效物

[0098] 本文公开的抗TMPRSS6抗体和抗体片段包括具有与所述抗体不同的氨基酸序列的蛋白质,但保留了结合TMPRSS6蛋白的能力。当与亲代序列相比时,此类变体抗体和抗体片段包含一个或多个氨基酸的添加、缺失或取代,但表现出与所述抗体基本等效的生物活性。同样,本文公开的编码抗体的DNA序列包括与所公开的序列相比包含一个或多个核苷酸添加、缺失或取代的序列,但其编码与本文公开的抗体或抗体片段基本上生物等效的抗体或抗体片段。

[0099] 例如,如果两种抗原结合蛋白或抗体是药物等效物或药物替代物,当在相似的实验条件下以相同的摩尔剂量(单剂量或多剂量)施用,其吸收率和吸收程度没有显示出显著差异,则所述两种抗原结合蛋白或抗体被认为是生物等效的。如果一些抗体的吸收程度相同,但吸收速率不同,则这些抗体将被认为是等效物或药物替代品,也可被认为是生物等效物,因为吸收速率的此类差异是有意造成的,并反映在标签上,对于例如长期使用达到有效体内药物浓度并不重要,且被认为对所研究的特定药品无医学意义。

[0100] 在一个实施方案中,如果两种抗原结合蛋白的安全性、纯度或效力没有临床意义上的差异,则它们是生物等效的。

[0101] 在一个实施方案中,如果患者可在参考产品与生物产品之间转换一次或多次而未进行此类转换的持续疗法相比没有预期的有害作用风险增加,包括临床上显著的免疫原性变化或有效性减弱,那么两种抗原结合蛋白为生物等效的。

[0102] 在一个实施方案中,如果两种抗原结合蛋白均通过针对一种或多种使用条件的一种或多种常用作用机制(在此类机制已知的情况下)起作用,那么它们为生物等效的。

[0103] 生物等效性可通过体内和/或体外方法证明。生物等效性测量包括例如(a)在人或其他哺乳动物中进行的体内测试,其中抗体或其代谢物的浓度作为时间的函数在血液、血浆、血清或其他生物流体中进行测量;(b)与人体内生物利用度数据相关联并合理预测所述数据的体外测试;(c)在人或其他哺乳动物中进行的体内测试,其中测量作为时间的函数的抗体(或其靶标)的适当急性药理学作用;和(d)在建立抗体的安全性、有效性或生物利用度或生物等效性的良好控制的临床试验中。

[0104] 所公开抗体的生物等效变体可以通过例如对残基或序列进行各种取代或删除生物活性不需要的末端或内部残基或序列来构建。举例来说,可去除不为生物活性所必需的半胱氨酸残基或用其他氨基酸置换以防止在复原后形成不必要或不恰当的分子内二硫桥。在其他情况下,生物等效抗体可包括包含氨基酸变化的抗体变体,所述氨基酸变化改变抗

体的糖基化特征,例如消除或去除糖基化的突变。

[0105] 包含Fc变体的抗TMPRSS6抗体

[0106] 本文所提及的抗体通常具有完整的人可变区,但也可具有人或小鼠恒定区。如本领域普通技术人员所理解的,具有特定Fc同型的抗体可以转化为具有不同Fc同型的抗体(例如具有小鼠IgG1 Fc的抗体可以转化为人IgG4的抗体等),但无论如何,可变结构域(包括CDR,由表1中所示的数字标识符表示)将保持不变,并且无论Fc结构域的性质如何,预期与抗原的结合特性都是相同或基本上类似的。在某些实施方案中,抗体包含人IgG4 Fc。在一个实施方案中,人IgG4 Fc在铰链区包含促进二聚体稳定的丝氨酸至脯氨酸突变(S108P)。

[0107] 根据本文公开的某些实施方案,提供了包含含有一个或多个突变的Fc结构域的抗TMPRSS6抗体,与中性pH相比,所述突变例如在酸性pH下增强或减弱抗体与FcRn受体的结合。例如,本公开包括在Fc结构域的C_H2或C_H3区中包含突变的抗TMPRSS6抗体,其中所述突变增加了酸性环境中(例如,pH范围为约5.5至约6.0的核内体中)Fc结构域对FcRn的亲和力。当向动物施用,此类突变可能导致抗体的血清半衰期增加。此类Fc修饰的非限制性实例包括例如位置250的修饰(例如E或Q);位置250和428的修饰(例如L或F);位置252的修饰(例如L/Y/F/W或T)、位置254的修饰(例如S或T)、位置256的修饰(例如S/R/Q/E/D或T);或位置428和/或433的修饰(例如H/L/R/S/P/Q或K)和/或位置434的修饰(例如A、W、H、F或Y[N434A、N434W、N434H、N434F或N434Y]);或位置250和/或428的修饰;或位置307或308的修饰(例如308F、V308F)和位置434的修饰。在一个实施方案中,修饰包含428L(例如M428L)和434S(例如N434S)修饰;428L、259I(例如V259I)以及308F(例如V308F)修饰;433K(例如H433K)和434(例如434Y)修饰;252、254以及256(例如252Y、254T以及256E)修饰;250Q和428L修饰(例如T250Q和M428L);以及307和/或308修饰(例如308F或308P)。在又一个实施方案中,修饰包括265A(例如D265A)和/或297A(例如N297A)修饰。

[0108] 例如,本公开包括包含Fc结构域的抗TMPRSS6抗体,所述Fc结构域包含一个或多个选自以下的突变对或突变组:250Q和248L(例如,T250Q和M248L);252Y、254T和256E(例如M252Y、S254T和T256E);428L和434S(例如M428L和N434S);257I和311I(例如P257I和Q311I);257I和434H(例如P257I和N434H);376V和434H(例如D376V和N434H);307A、380A和434A(例如T307A、E380A和N434A);以及433K和434F(例如H433K和N434F)。本文公开的抗体可变结构域内的前述Fc结构域突变和其他突变的所有可能组合都涵盖在本公开的范围。

[0109] 本文还公开了包含嵌合重链恒定(C_H)区的抗TMPRSS6抗体,其中嵌合C_H区包含源于超过一种免疫球蛋白同型的C_H区的片段。例如,本文公开的抗体可包含嵌合的C_H区,其包含部分或全部的源于人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的C_H2结构域与部分或全部的源于人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的C_H3结构域的组合。根据某些实施方案,本文公开的抗体包含具有嵌合铰链区的嵌合C_H区。举例来说,嵌合铰链可包含源于人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的“上铰链”氨基酸序列(根据EU编号,从位置216至227的氨基酸残基)与源于人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的“下铰链”序列(根据EU编号,从位置228至236的氨基酸残基)的组合。根据某些实施方案,嵌合铰链区包含源于人IgG1或人IgG4上铰链的氨基酸残基和源于人IgG2下铰链的氨基酸残基。在某些实施方案中,包含如本文所述的嵌合C_H区的抗体可以表现出修饰的Fc效应子功能,而不会不利地影响抗体的治疗或药代动力学性质。(参见例如美国专

利申请公开2014/0243504,其公开内容以引用的方式整体并入本文)。

[0110] 抗体及其抗原结合片段的生物学特征

[0111] 通常,所公开的抗体或其抗原结合片段通过结合至TMPRSS6蛋白并抑制其活性(例如,酶活性)来发挥作用。在一些实施方案中,抑制的TMPRSS6活性是蛋白水解活性。

[0112] 本文公开了结合TMPRSS6蛋白的抗体及其抗原结合片段(即抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段)。在某些实施方案中,抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段结合至TMPRSS6的催化结构域。在某些实施方案中,抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段结合至TMPRSS6的催化结构域,但不结合至TMPRSS6的催化三联体。本文还公开了抗体及其抗原结合片段,其结合在位于TMPRSS6的LDLRa结构域2内的位点处(例如,人TMPRSS6(SEQ ID NO:126)的残基492-526)。在一些实施方案中,抗体及其抗原结合片段可与TMPRSS6上的超过一个位点结合或相互作用。例如,结合在TMPRSS6的催化结构域内的位点处的抗体或其抗原结合片段也可结合在TMPRSS6的LDLRa结构域2内包含的位点(例如二级位点)处。

[0113] 本文还公开了结合TMPRSS6的催化结构域(例如,人TMPRSS6(SEQ ID NO:126)的残基577-811)的抗体及其抗原结合片段,其中所述结合不直接封闭TMPRSS6的催化三联体。不受理论束缚,当抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段的结合不直接封闭TMPRSS6的催化三联体时,TMPRSS6可保留其结合底物例如血幼素(HJV)的能力。例如,在某些实施方案中,抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段与TMPRSS6结合,并使TMPRSS6保持无活性构象,所述构象能够结合至TMPRSS6底物但不裂解TMPRSS6底物。在某些实施方案中,抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段与TMPRSS6结合,并使TMPRSS6保持无活性构象,所述构象能够结合至血幼素但不裂解血幼素。此类抗TMPRSS6抗体及其抗原结合片段可介导TMPRSS6的变构调节。在某些实施方案中,抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段介导TMPRSS6的变构抑制。本文还公开了结合人TMPRSS6蛋白并且是TMPRSS6变构抑制剂的抗体及其抗原结合片段。

[0114] 本文还公开了结合至TMPRSS6催化结构域的抗体及其抗原结合片段,其中所述结合直接封闭TMPRSS6的催化三联体。不受理论束缚,TMPRSS6的催化三联体的封闭可能导致底物(例如血幼素)与TMPRSS6的结合受到空间位阻影响。

[0115] 本文公开了抗体和抗体的抗原结合片段,其结合人TMPRSS6蛋白(例如,在25℃或37℃下)的 K_D 小于约25nM,如通过表面等离子体共振例如使用如本文实施例3中定义的测定形式测量的。在某些实施方案中,如通过表面等离子体共振例如使用如本文实施例3中定义的测定形式或基本上类似的测定法测量的,抗体或其抗原结合片段结合TMPRSS6的 K_D 小于约25nM、小于约20nM、小于约15nM、小于约10nM、小于约9nM、小于约8nM、小于约7nM、小于约6nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM、小于约900皮摩尔(pM)、小于约800pM、小于约700pM、小于约600pM、小于约500pM、小于约400pM、小于约300pM、小于约200pM或小于约150pM。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段结合人TMPRSS6的 K_D 为约128pM至约21.2nM范围内。

[0116] 本文还公开了抗体和抗体的抗原结合片段,其结合食蟹猴(例如食蟹猕猴)TMPRSS6蛋白(例如在25℃或37℃下)的 K_D 小于约30nM,如通过表面等离子体共振例如使用如本文实施例3中定义的测定形式测量的。在某些实施方案中,如通过表面等离子体共振例如使用如本文实施例3中定义的测定形式或基本上类似的测定法测量的,抗体或其抗原结合片段结合食蟹猴TMPRSS6的 K_D 为小于约30nM、小于约25nM、小于约20nM、小于约15nM、小于

约10nM、小于约9nM、小于约8nM、小于约7nM、小于约6nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM、小于约900皮摩尔(pM)、小于约800pM、小于约700pM、小于约600pM、小于约500pM、小于约400pM、小于约300pM、小于约200pM、小于约150pM、小于约100pM或小于约75pM。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段结合猴TMPRSS6的 K_D 为约65pM至约25.7nM范围内。

[0117] 本文还公开了抗体和抗体的抗原结合片段,其结合小鼠TMPRSS6蛋白(例如,在25℃或37℃下)的 K_D 小于约750nM,如通过表面等离子体共振例如使用本文实施例3中定义的测定形式测量的。在某些实施方案中,如通过表面等离子体共振例如使用如本文实施例3中定义的测定形式或基本上类似的测定法测量的,抗体或其抗原结合片段结合小鼠TMPRSS6的 K_D 小于约750nM、小于约700nM、小于约650nM、小于约600nM、小于约550nM、小于约500nM、小于约450nM、小于约400nM、小于约350nM、小于约300nM、小于约250nM、小于约200nM、小于约150nM、小于约50nM、小于约1000皮摩尔(pM)、小于约900pM、小于约800pM、小于约700pM、小于约600pM、小于约500pM、小于约400pM、小于约300pM、小于约200pM、小于约150pM或小于约100pM。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段结合小鼠TMPRSS6的 K_D 为约82.9pM至约703nM范围内。

[0118] 本文还公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至表达人TMPRSS6的细胞的 EC_{50} 小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM、小于约900pM、小于约800pM或小于约700pM,如例如使用本文实施例5中所述的测定形式或基本上类似的测定法测量的。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段结合至表达人TMPRSS6的细胞的 EC_{50} 为约670pM至约2.7nM范围内。

[0119] 本文还公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至表达食蟹猴TMPRSS6的细胞的 EC_{50} 小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM或小于约1nM,如例如使用本文实施例5中所述的测定形式或基本上类似的测定法测量的。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段结合至表达食蟹猴TMPRSS6的细胞的 EC_{50} 为约940pM至约3.6nM范围内。

[0120] 本文还公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至表达小鼠TMPRSS6的细胞的 EC_{50} 小于约40nM、小于约35nM、小于约30nM、小于约25nM、小于约20nM、小于约15nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或小于约0.9nM,如例如使用如本文实施例5中所述的测定形式或基本上类似的测定法测量的。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段结合至表达小鼠TMPRSS6的细胞的 EC_{50} 为约840pM至约35nM范围内。

[0121] 在一个实施方案中,本文公开了一种分离的重组抗体或其抗原结合片段,其特异性结合至TMPRSS6蛋白,其中所述抗体或其片段表现出一种或多种以下特征:(a)是完全人单克隆抗体;(b)如在表面等离子体共振测定中测量的,在25℃和37℃下与人TMPRSS6结合的解离常数(K_D)小于约21.2nM;(c)如在表面等离子体共振测定中测量的,在25℃和37℃下与猴TMPRSS6结合的 K_D 小于约25.7nM;(d)如在表面等离子体共振测定中测量的,在25℃和37℃下与小鼠TMPRSS6结合的 K_D 小于约703nM;(e)与表达人TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约2.7nM;(f)与表达猴TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约3.6nM;(g)与表达小鼠TMPRSS6的细胞结合的 EC_{50} 小于约35nM;(h)包含含有选自表1中列出的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3和/或含有选自表1中列出的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;和/或(i)包含含有选自表1中列出的HCVR序列的氨基酸

序列的HCVR和含有选自表1中列出的LCVR序列的氨基酸序列的LCVR。

[0122] 本文公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至TMPRSS6并降低有需要的受试者的血清铁水平,例如,如本文实施例10、11和14中所证明的。

[0123] 本文还公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至TMPRSS6并增加有需要的受试者的血清铁调素水平,例如,如本文实施例10、11和14中所证明的。

[0124] 本文还公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至TMPRSS6并增加有需要的受试者的成熟红细胞水平。在某些实施方案中,结合至TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段增加有需要的受试者的脾和/或骨髓中的成熟红细胞水平。本文还公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至TMPRSS6并降低有需要的受试者的脾网织红细胞水平。不受理论束缚,结合至TMPRSS6的此类抗体及其抗原结合片段改善有需要的受试者的红细胞生成。在某些实施方案中,所公开的抗体及其抗原结合片段结合至TMPRSS6,并改善有需要的受试者的红细胞生成,从而降低脾中继发性红细胞生成的需要,例如,如本文实施例12中所证明的。

[0125] 本文还公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至TMPRSS6并增加有需要的受试者的血红蛋白水平,例如,如本文实施例13中所证明的。

[0126] 本文公开了抗体及其抗原结合片段,其结合至TMPRSS6并降低有需要的受试者的转铁蛋白饱和度水平,例如,如本文实施例14中所证明的。

[0127] 本文公开了一种分离的重组抗体或其抗原结合片段,其特异性结合至TMPRSS6蛋白,其中所述抗体或其抗原结合片段在向有需要的受试者施用时表现出一种或多种以下特征:(a)降低受试者的血清铁水平;(b)增加受试者的血清铁调素水平;(c)增加受试者的成熟红细胞水平;(d)增加受试者脾和/或骨髓中的成熟红细胞水平;(e)增加受试者的血红蛋白水平;或(f)降低受试者的转铁蛋白饱和度水平。

[0128] 本文公开了抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段,其可用于降低有需要的受试者的血清铁水平。本文还公开了抗体或其抗原结合片段,其可用于增加有需要的受试者的血清铁调素水平。本文还公开了抗体或其抗原结合片段,其可用于增加有需要的受试者的成熟红细胞水平。本文还公开了抗体或其抗原结合片段,其可用于增加有需要的受试者的脾和/或骨髓中的成熟红细胞水平。本文还公开了抗体或其抗原结合片段,其可用于增加有需要的受试者的血红蛋白水平。本文还公开了抗体或其抗原结合片段,其可用于降低有需要的受试者的转铁蛋白饱和度水平。

[0129] 本文公开了抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段,其可用于治疗或预防至少一种与血清铁水平升高相关的症状或适应症。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防至少一种与血清铁调素水平降低相关的症状或适应症。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防至少一种与成熟红细胞水平降低相关的症状或适应症。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防至少一种与脾和/或骨髓中的成熟红细胞水平增加相关的症状或适应症。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防至少一种与血红蛋白水平降低相关的症状或适应症。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防至少一种与转铁蛋白饱和度水平增加相关的症状或适应症。

[0130] 抗体及其抗原结合片段可具有一种或多种上述特征或其任何组合。通过阅读包括本文工作实施例在内的本公开内容,所公开的抗体及其抗原结合片段的其他特征对于本领

域普通技术人员将是显而易见的。

[0131] TMPRSS6的抑制

[0132] 本文公开了在人TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素 (HJV) 的蛋白酶依赖性释放的抗体及其抗原结合片段, 例如抑制人TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段, 抑制百分比大于约90% (例如大于约89.2%、大于约89.4%、大于约89.6%、大于约89.8%、大于约90%、大于约90.2%、大于约90.4%、大于约90.6%、大于约90.8%), 如例如使用如本文实施例6中所述的测定形式或基本上类似的测定所测量的。本文还公开了在人TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素 (HJV) 的蛋白酶依赖性释放的抗体及其抗原结合片段, 例如抑制人TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段, 其表现出的 IC_{50} 值范围为约70pM至约200pM (例如约69.3pM、约70pM、约80pM、约90pM、约100pM、约110pM、约120pM、约130pM、约140pM、约150pM、约160pM、约170pM、约180pM、约190pM、约202pM), 如例如使用本文实施例6中所述的测定形式或基本上类似的测定法所测量的。

[0133] 本文还公开了在小鼠TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素 (HJV) 的蛋白酶依赖性释放的抗体及其抗原结合片段, 例如抑制小鼠TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段, 抑制百分比为约42%至约98.5% (例如约41.6%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%), 如例如使用本文实施例6中所述的测定形式或基本上类似的测定法所测量的。本文还公开了在小鼠TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素 (HJV) 的蛋白酶依赖性释放的抗体及其抗原结合片段, 例如抑制小鼠TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段, 其表现出的 IC_{50} 值范围为约82.6pM至约274pM (例如约81.8pM、约90pM、约100pM、约110pM、约120pM、约130pM、约140pM、约150pM、约160pM、约170pM、约180pM、约190pM、约200pM、约210pM、约220pM、约230pM、约240pM、约250pM、约260pM、约276pM), 如例如使用本文实施例6中所述的测定形式或基本上类似的测定法所测量的。

[0134] 本文还公开了抑制人TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段, 其抑制百分比为约65%至约98% (例如约64.5%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约98.9%), 如例如使用本文实施例7中所述的“CM生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。本文还公开了抑制人TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段, 其表现出的 IC_{50} 值范围为约710pM至大于约10nM (例如约703pM、约750pM、约800pM、约850pM、约900pM、约950pM、约1nM、约5nM、约10.1nM), 如例如使用本文实施例7中所述的“CM生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。

[0135] 本文还公开了抑制猴TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段, 其抑制百分比为约66%至约98% (例如约65.5%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约98.9%), 如例如使用本文实施例7中所述的“CM生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。本文还公开了抑制猴TMPRSS6的抗体及其抗原结合片段, 其表现出的 IC_{50} 值范围为约740pM至大于约50nM (例如约733pM、约750pM、约800pM、约850pM、约900pM、约950pM、约1nM、约10nM、约15nM、约20nM、约25nM、约30nM、约35nM、约40nM、约45nM、约50.5nM), 如例如使用如本文实施例7中所述的“CM生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。

[0136] 本文还公开了抑制人TMPRSS6 (例如, 在25℃或37℃下) 的抗体及其抗原结合片段, 其抑制百分比为约86%至约90% (例如, 约85.2%、约85%、约91%), 如例如使用本文实施例7中所述的“HEK293生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。本文还公开了抑制

人TMPRSS6(例如,在25℃或37℃下)的抗体及其抗原结合片段,其表现出的 IC_{50} 值范围为约360pM至约5.8nM(例如,约357pM、约400pM、约500pM、约600pM、约700pM、约800pM、约900pM、约1nM、约2nM、约3nM、约4nM、约5nM),如例如使用本文实施例7中所述的“HEK293生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。

[0137] 本文还公开了抑制猴TMPRSS6(例如,在25℃或37℃下)的抗体及其抗原结合片段,抑制百分比为约81%至约94%(例如,约80.2%、约85%、约90%、约94.9%),如例如使用本文实施例7中所述的“HEK293生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。本文还公开了抑制猴TMPRSS6(例如,在25℃或37℃下)的抗体及其抗原结合片段,其表现出的 IC_{50} 值范围为约660pM至约30nM(例如,约654pM、约700pM、约750pM、约800pM、约850pM、约900pM、约950pM、约1nM、约10nM、约15nM、约20nM、约25nM、约30.3nM),如例如使用如本文实施例7中所述的“HEK293生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。

[0138] 本文还公开了抑制小鼠TMPRSS6(例如,在25℃或37℃下)的抗体及其抗原结合片段,其抑制百分比为约58%至约103%(例如,约57.5%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约104%),如例如使用如本文实施例7中所述的“HEK293生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。本文还公开了抑制小鼠TMPRSS6(例如,在25℃或37℃下)的抗体及其抗原结合片段,其表现出的 IC_{50} 值范围为约1.5nM至约35nM(例如,约2nM、约10nM、约15nM、约20nM、约25nM、约30nM、约35.3nM),如例如使用如本文实施例7中所述的“HEK293生物测定”形式或基本上类似的测定法所测量的。

[0139] 在一个实施方案中,本文公开了特异性结合至TMPRSS6蛋白的分离的重组抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段表现出一种或多种以下特征:(a)在人TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制人TMPRSS6,抑制百分比大于约90%;(b)在人TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制人TMPRSS6并表现出小于约200pM的 IC_{50} ;(c)在小鼠TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制小鼠TMPRSS6,抑制百分比大于约42%;(d)在小鼠TMPRSS6存在下抑制细胞表面血幼素的蛋白酶依赖性释放,例如抑制小鼠TMPRSS6并表现出小于约274pM的 IC_{50} ;(e)在25℃和37℃抑制人TMPRSS6,抑制百分比大于约65%;(f)在25℃和37℃下抑制人TMPRSS6并表现出小于约10nM的 IC_{50} ;(g)在25℃和37℃抑制猴TMPRSS6,抑制百分比大于约66%;(h)在25℃和37℃抑制猴TMPRSS6,并表现出小于约50nM的 IC_{50} ;(i)在25℃和37℃抑制小鼠TMPRSS6,抑制百分比大于约58%;(j)在25℃和37℃抑制小鼠TMPRSS6,并表现出小于约35nM的 IC_{50} ;(k)是完全人单克隆抗体或其抗原结合片段;(l)包含含有选自表1中列出的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3和/或包含选自表1中列出的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3;和/或(m)包含含有选自表1中所列出的HCVR序列的氨基酸序列的HCVR和含有选自表1中所列出的LCVR序列的氨基酸序列的LCVR。

[0140] 抗体及其抗原结合片段可具有一种或多种上述特征或其任何组合。通过阅读包括本文工作实施例在内的本公开内容,所公开的抗体及其抗原结合片段的其他特征对于本领域普通技术人员将是显而易见的。

[0141] 表位作图和相关技术

[0142] 本文公开了抗TMPRSS6抗体,其与在TMPRSS6蛋白分子的一个或多个区域中发现的

一个或多个氨基酸相互作用。抗体结合的表位可由位于TMPRSS6蛋白分子(例如域中的线性表位)的任何前述结构域内的3个或更多个(例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)氨基酸的单一连续序列组成。或者,表位可以由位于蛋白质分子的任一个或两个前述结构域内的多个不连续的氨基酸(或氨基酸序列)组成。在一个实施方案中,表位是构象表位。

[0143] 本领域普通技术人员已知的各种技术可用于确定抗体是否“与多肽或蛋白质中的一个或多个氨基酸相互作用”。示例性技术包括例如常规交叉阻断测定,诸如Antibodies, Harlow和Lane(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY)中描述的那些。其他方法包括丙氨酸扫描突变分析、肽印迹分析(Reineke (2004) *Methods Mol. Biol.* 248:443-63)、肽裂解分析、结晶学研究和NMR分析。此外,可以采用诸如抗原表位切除、抗原表位提取和抗原化学修饰的方法(Tomer (2000) *Prot. Sci.* 9:487-496)。

[0144] 另一种可用于鉴定多肽中与抗体相互作用的氨基酸的方法是通过质谱检测的氢/氙交换。例如,参见本公开的实施例8。一般地说,氢/氙交换法涉及对所关注的蛋白质进行氙标记,随后使抗体结合于氙标记的蛋白质。接下来,将蛋白质/抗体复合物转移到水中,受抗体复合物保护的氨基酸内的可交换质子进行氙至氢回交换的速率低于不属于界面部分的氨基酸内的可交换质子的速率。因此,形成蛋白质/抗体界面一部分的氨基酸可以保留氙,因此与不包括在界面中的氨基酸相比,表现出相对更高的质量。在抗体解离之后,对靶蛋白进行蛋白酶裂解和质谱分析,由此揭示对应于与抗体相互作用的特定氨基酸的氙标记的残基。参见例如Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267:252-259; Engen和Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A。

[0145] 修饰辅助分析(MAP),也称为基于抗原结构的抗体分析(ASAP),是一种根据每种抗体与化学或酶促修饰的抗原表面的结合谱的类似性,对针对同一抗原的大量单克隆抗体(mAb)进行分类的方法(参见US2004/0101920,其以引用的方式整体并入本文)。每个类别可以反映独特的表位,所述表位与另一个类别所表示的表位明显不同或部分重叠。该技术允许快速过滤遗传上相同的抗体,从而可以将表征集中在遗传上不同的抗体上。当应用于杂交瘤筛选时,MAP可有助于鉴定产生具有所需特征的mAb的罕见杂交瘤克隆。MAP可用于将本文公开的抗体分选成结合不同表位的抗体组。

[0146] 本公开包括与表1中列出的任何特定示例性抗体结合相同的表位或所述表位的一部分的抗TMPRSS6抗体。同样,本文还公开了与表1中列出的任何特定示例性抗体竞争结合TMPRSS6蛋白或其片段的抗TMPRSS6抗体。例如,本公开包括与表1中列出的一种或多种抗体交叉竞争结合TMPRSS6蛋白的抗TMPRSS6抗体。

[0147] 通过使用本领域已知的常规方法,可以确定抗体是否与参考抗TMPRSS6抗体结合至相同的表位,或者是否与参考抗TMPRSS6抗体竞争结合。例如,为了确定测试抗体是否与本文公开的参考抗TMPRSS6抗体结合至相同的表位,允许参考抗体在饱和条件下与TMPRSS6蛋白或肽结合。接下来,评估测试抗体结合至TMPRSS6蛋白分子的能力。如果测试抗体在与参考抗TMPRSS6抗体饱和结合后能够与TMPRSS6结合,则可以推断测试抗体与参考抗TMPRSS6抗体结合至不同的表位。在另一方面,如果测试抗体在与参考抗TMPRSS6抗体饱和结合后不能与TMPRSS6蛋白结合,则测试抗体可与本文公开的参考抗TMPRSS6抗体结合的表位相同的表位结合。

[0148] 为了确定抗体是否与参考抗TMPRSS6抗体竞争结合,在两个取向上执行上述结合方法:在第一个取向上,允许参考抗体在饱和条件下与TMPRSS6蛋白结合,随后评估测试抗体与TMPRSS6分子的结合。在第二个取向,允许测试抗体在饱和条件下与TMPRSS6分子结合,随后评估参考抗体与TMPRSS6分子的结合。如果在两个取向上,仅第一(饱和)抗体能够结合至TMPRSS6分子,那么可以断定测试抗体和参考抗体竞争结合至TMPRSS6。如本领域普通技术人员所理解的,与参考抗体竞争结合的抗体不一定与参考抗体结合相同的表位,但可能通过结合重叠或相邻的表位而在空间上阻断参考抗体的结合。

[0149] 如果两种抗体各自竞争性抑制(阻断)另一种抗体与抗原的结合,则这两种抗体结合相同或重叠的表位。也就是说,如在竞争性结合测定中测量的,一种抗体的1、5、10、20或100倍过量将另一种抗体的结合抑制至少50%,但优选75%、90%或甚至99%(参见例如Junghans等人.,Cancer Res.1990 50:1495-1502)。或者,如果抗原中减少或消除一种抗体的结合的基本上所有氨基酸突变都减少或消除另一种抗体的结合,则两种抗体具有相同的表位。如果减少或消除一种抗体结合的一些氨基酸突变减少或消除另一种抗体的结合,则两种抗体具有重叠的表位。

[0150] 然后可以进行额外常规实验(例如肽突变和结合分析),以确认所观察到的测试抗体结合的缺乏实际上是否是由于与参考抗体结合至相同表位,或者空间阻断(或另一种现象)是否是所观察到的结合缺乏的原因。这类实验可以使用ELISA、RIA、表面等离子体共振、流式细胞术或本领域可用的任何其他定量或定性抗体结合测定法来进行。

[0151] 免疫缀合物

[0152] 本公开包括与治疗部分缀合的人抗TMPRSS6单克隆抗体(“免疫缀合物”),以治疗TMPRSS6相关疾病或病症(例如铁过载病症)。如本文所用,术语“免疫缀合物”是指与放射性物质、细胞因子、干扰素、靶或报告部分、酶、肽或蛋白质或治疗剂化学或生物连接的抗体。抗体可以在沿着分子的任何位置与放射性物质、细胞因子、干扰素、靶或报告部分、酶、肽或治疗剂连接,只要它能够结合其靶。免疫缀合物的实例包括抗体药物缀合物和抗体-毒素融合蛋白。在一个实施方案中,所述剂可以是针对TMPRSS6蛋白的第二种不同抗体。可与抗TMPRSS6抗体缀合的治疗部分的类型,将考虑待治疗的疾患和有待实现的期望治疗作用。用于形成免疫缀合物的合适剂的实例是本领域已知的;参见例如WO 05/103081。

[0153] 治疗性施用和制剂

[0154] 本公开提供了治疗组合物,其包含本文公开的抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段。根据本公开的治疗组合物将与合适的载剂、赋形剂和其他剂一起施用,所述载剂、赋形剂和其他剂被掺入到制剂中以提高改善的转移、递送、耐受性等。在所有药物化学工作者已知的配方书(Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Company,Easton,PA)中可找到许多适当的制剂。这些制剂包括例如粉剂、糊剂、软膏、凝胶剂、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子)的囊泡(诸如LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳液、乳液聚乙二醇(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含聚乙二醇的半固体混合物。还参见Powell等人“Compendium of excipients for parenteral formulations”PDA (1998)J Pharm Sci Technol 52:238-311。

[0155] 各种递送系统为已知的并且可用于施用本文公开的药物组合物,例如于脂质体、微粒、微胶囊中的封装物、能够表达突变体病毒的重组细胞、受体介导的胞吞作用(参见例

如Wu等人, (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432)。引入的方法包括但不限于真皮内、经皮、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外以及经口途径。可通过任何方便的途径,例如通过输注或快速注射、通过经上皮或粘膜皮肤内衬(例如口腔粘膜、直肠和肠道粘膜等)吸收来施用组合物并且可与其他生物活性剂一起施用。施用可以是全身施用或局部施用。药物组合物也可以在囊泡中递送,特别是脂质体(参见例如Langer (1990) Science 249:1527-1533)。

[0156] 本文还考虑了使用纳米颗粒递送本文公开的抗体。抗体缀合的纳米颗粒可用于治疗和诊断应用。抗体缀合的纳米颗粒及其制备和使用方法详细描述于Arruebo, M. 等人, 2009 (“Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications” in J. Nanomat. 第2009卷, 文章ID 439389, 第24页, doi:10.1155/2009/439389), 该文献以引用的方式并入本文。可以开发纳米颗粒并将其与药物组合物中所含有的抗体缀合以靶向细胞。用于药物递送的纳米颗粒也已描述于例如US 8257740或US 8246995中, 所述专利各自整体并入本文。

[0157] 在某些情况下, 可在控制释放系统中递送药物组合物。在一个实施方案中, 可以使用泵。在另一个实施方案中, 可以使用聚合材料。在另一个实施方案中, 可以将受控释放系统置于组合物的靶标附近, 因此仅需要一部分全身剂量。

[0158] 可注射制剂可包括用于静脉内、皮下、颅内、腹膜内以及肌肉内注射、点滴输注等的剂型。这些可注射制剂可通过公众已知的方法来制备。

[0159] 所公开的药物组合物可用标准针头和注射器进行皮下或静脉内递送。此外, 相对于皮下递送, 笔式递送装置已容易地应用于递送如本文所公开的药物组合物。这种笔式递送装置可为可重复使用的或一次性的。可重复使用的笔式递送装置通常利用含有药物组合物的可替换药筒。在已施用药筒内的所有药物组合物并且药筒空掉后, 可轻易地将空药筒弃去并且用含有药物组合物的新药筒代替。然后笔式递送装置可再次使用。在一次性笔式递送装置中, 没有可替换的药筒。相反地, 一次性笔式递送装置预填充有保持在装置内的储集器中的药物组合物。在将储集器内的药物组合物清空后, 将整个装置弃去。

[0160] 有利地, 将上文所描述的用于口腔或肠胃外用途的药物组合物制备成呈适合于符合活性成分的剂量的单位剂量形式的剂型。单位剂量的此类剂型包括例如片剂、丸剂、胶囊、注射剂(安瓿)、栓剂等。

[0161] 抗体的诊断用途

[0162] 所公开的抗TMPRSS6抗体及其抗原结合片段可用于治疗和/或预防与TMPRSS6相关的疾病或病症或疾患, 和/或用于改善与此类疾病、病症或疾患相关的至少一种症状。在某些实施方案中, 所公开的抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段可以治疗剂量施用给患有与TMPRSS6相关的疾病或病症或疾患的受试者。

[0163] 在某些实施方案中, 所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防TMPRSS6相关疾病或病症的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中, TMPRSS6相关疾病或病症是铁过载病症。在某些实施方案中, 本公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防先天性红细胞生成异常性贫血、Diamond-Blackfan贫血、 α 地中海贫血、 β 地中海贫血、输血依赖性溶血性贫血、骨髓增生异常综合征、镰状细胞病、真性红细胞增多症、遗传性血色素沉着病、原发性血色素沉着病、继发性血色素沉着病、严重幼年血色素沉着病或慢性肝病的至少

一种症状。

[0164] 在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防 β 地中海贫血的至少一种症状、并发症或适应症。在某些实施方案中, β 地中海贫血是重型 β 地中海贫血或中型 β 地中海贫血。 β 地中海贫血的症状包括疲劳、虚弱、皮肤苍白或发黄、面部骨骼畸形、生长缓慢、腹部肿胀、尿色暗和其他并发症(例如治疗引起的并发症)。中度至重度 β 地中海贫血并发症的实例包括铁过载,这可能是该疾病或频繁输血的结果,并与诸如心脏、肝和内分泌系统的器官的损伤相关(例如,调节全身过程的激素生成腺体),并增加感染风险。严重 β 地中海贫血的并发症还包括骨骼畸形、脾肿大、生长速度减慢和心脏问题。

[0165] 在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防血色素沉着病的至少一种症状、并发症或适应症。血色素沉着病的症状包括例如关节痛、腹痛、虚弱、疲劳、糖尿病、丧失性欲、阳痿、心力衰竭、肝衰竭、古铜色或灰色皮肤以及记忆模糊。由于血色素沉着病引起的并发症包括例如肝问题、胰腺问题、心脏问题、生殖问题和皮肤颜色变化。

[0166] 在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防至少一种与铁过载相关的症状、并发症或适应症。铁过载可能是遗传疾病或病症的结果,或者是接受频繁输血、消耗高水平的补充铁和/或接受含铁注射的结果。导致铁过载的遗传性疾病包括遗传性血色素沉着病、各种贫血(包括镰状细胞病和铁粒幼细胞性贫血)、非洲铁过载(例如,其中受影响的个体饮用含有高含量铁的饮料)、酶缺乏症(例如丙酮酸激酶缺乏症、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症)和蛋白质转运病症(例如血浆铜蓝蛋白缺乏症和无转铁蛋白血症)。

[0167] 铁过载的症状包括例如疲劳(例如慢性疲劳)、关节痛、腹痛、肝病(例如肝硬化、肝癌)、糖尿病、心脏问题(例如心律不规则、心脏病发作、心力衰竭)、皮肤颜色变化(例如古铜色、灰白色-灰绿色)、月经减少、对性失去兴趣、阳痿、不育症、性腺机能减退、骨骼问题(例如骨关节炎、骨质疏松症)、脱发、肝或脾肿大、甲状腺功能减退、垂体功能减退、抑郁症、肾上腺功能问题、早发性神经退行性疾病(例如阿尔茨海默氏病(Alzheimer's)、早发性帕金森氏病(Parkinson's)、亨廷顿病(Huntington's)、癫痫、多发性硬化症),以及诸如血糖、肝酶、血清铁、血清转铁蛋白和血清铁蛋白的标记物升高。

[0168] 在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防至少一种与接受输血(例如接受频繁和/或规律的输血)相关的症状或适应症。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防至少一种与导致失血的身体创伤相关的症状或适应症。在某些实施方案中,导致失血的身体创伤需要输血治疗。因此,与导致失血的身体创伤相关的症状或适应症可以是与输血治疗身体创伤相关的任何症状或适应症(例如铁过载)。例如,身体创伤可以是导致需要输血的失血的创伤事故(例如,导致失去肢体、钝器创伤、深长的伤口)。在某些实施方案中,所需的输血是大容量输血。

[0169] 在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防骨髓增生异常综合征的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防骨髓增生异常综合征伴环形铁粒幼细胞的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中,本公开的所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防输血依赖性溶血性贫血的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片

段可用于治疗或预防由于丙酮酸激酶缺乏引起的输血依赖性溶血性贫血(即溶血性贫血)或铁粒幼细胞输血依赖性溶血性贫血(即铁粒幼细胞性贫血)的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防镰状细胞性贫血的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防红细胞生成异常性贫血的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防红细胞生成性卟啉病的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防慢性肝病的至少一种症状或适应症。在某些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段可用于治疗或预防酒精相关性慢性肝病、丙型肝炎或自身免疫性肝炎的至少一种症状或适应症。

[0170] 还公开了所公开的抗体或其抗原结合片段在具有罹患TMPRSS6相关疾病或病症风险的受试者中的预防性用途。

[0171] 在一些实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段用于制备用于治疗患有本文公开的疾病、病症或疾患的受试者的药物组合物或药物。在另一个实施方案中,所公开的抗体或其抗原结合片段用作与本领域技术人员已知用于治疗或改善本文公开的疾病、病症或疾患的任何其他药剂或任何其他疗法的辅助疗法。

[0172] 组合疗法

[0173] 组合疗法可以包括一种或多种所公开的抗体或其抗原结合片段以及可以有利地与所公开的抗体或其抗原结合片段组合的任何其他治疗剂。所公开的抗体或抗原结合片段可以与一种或多种用于治疗TMPRSS6相关疾病或病症的药物或疗法协同组合。在一些实施方案中,所公开的抗体或抗原结合片段可以与第二治疗剂组合,以改善所述疾病或疾患的一种或多种症状。

[0174] 根据疾病、病症或疾患,本文公开的抗体或抗原结合片段可以与一种或多种其他治疗剂组合使用。例如,其中所述疾病、病症或疾患与铁过载相关,本文公开的抗体或抗原结合片段可与一种或多种铁还原疗法和/或目前用于治疗铁过载的疗法组合使用。

[0175] 在某些实施方案中,铁螯合疗法可用于治疗铁过载。铁螯合疗法是用铁螯合剂药理学去除铁。铁螯合剂的实例包括去铁胺、去铁斯若和去铁酮。(参见例如Mobarra等人, *Int.J.Hematol.Oncol.Stem Cell Res.* (2016) 10(4):239-247)。铁螯合剂的其他实例是本领域技术人员已知的,例如Hatcher等人, *Future Med.Chem.* (2009) 1(9):1643-70中综述的那些。

[0176] 可用于治疗铁过载的其他疗法包括使用药剂,诸如但不限于维生素E、小麦胚芽油、生育酚、梨果仙人掌黄质(indicaxanthin)、叶酸、增加胎儿血红蛋白水平的剂(例如羟基脲、组蛋白脱乙酰酶抑制剂和/或DNA甲基转移酶抑制剂(例如丁酸酯衍生物、阿扎胞苷、地西他滨(5-氮杂2-脱氧胞苷)和曲古抑菌素A)、血红素、泊马度胺、沙利度胺、细胞因子诸如干细胞因子(SCF)和转化生长因子 β (TGF β))、控制溃疡的剂、控制感染的剂(例如抗生素和抗病毒剂)、治疗血栓形成的剂或治疗贫血的剂(例如罗特西普(luspatercept))。

[0177] 铁过载也可以通过干细胞或骨髓移植、输血或静脉切开术来治疗。

[0178] 如本文所用,术语“与...组合”意指可在施用本文公开的抗TMPRSS6抗体或抗原结合片段之前、同时或之后施用额外的治疗活性组分。术语“与...组合”还包括一种或多种所公开的抗TMPRSS6抗体或抗原结合片段和第二治疗剂的依次或伴随施用。

[0179] 可在施用一种或多种所公开的抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段之前,向受试者施用额外的治疗活性组分。例如,如果第一组分在施用第二组分之前1周、之前72小时、之前60小时、之前48小时、之前36小时、之前24小时、之前12小时、之前6小时、之前5小时、之前4小时、之前3小时、之前2小时、之前1小时、之前30分钟或之前不到30分钟施用,则可认为第一组分在第二组分“之前”施用。

[0180] 在其他实施方案中,可在施用一种或多种所公开的抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段后,向受试者施用额外的治疗活性组分。例如,如果第一组分在第二组分施用之后30分钟、之后1小时、之后2小时、之后3小时、之后4小时、之后5小时、之后6小时、之后12小时、之后24小时、之后36小时、之后48小时、之后60小时、之后72小时或之后更长时间施用,则可认为第一组分在第二组分“之后”施用。

[0181] 在其他实施方案中,可在施用一种或多种所公开的抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段的同时,向受试者施用额外的治疗活性组分。出于本公开的目的,“同时”施用包括例如以单一剂型或以在彼此约30分钟或更短时间内向受试者施用的分开剂型,向受试者施用一种或多种所公开的抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段和额外的治疗活性组分。如果以分开的剂型施用,每种剂型可以经由相同的途径施用(例如,抗TMPRSS6抗体和额外的治疗活性成分都可以静脉内施用,等等);或者,每种剂型可以经由不同的途径施用(例如,所公开的抗体或抗原结合片段可以静脉内施用,而额外的治疗活性组分可以口服施用)。出于本公开的目的,以单一剂量、通过相同途径以不同剂型、或通过不同途径以不同剂型施用各组分都被认为是“同时施用”。出于本公开的目的,在施用额外的治疗活性组分“之前”、“同时”或“之后”(如上文所定义的那些术语),施用一种或多种所公开的抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段,被认为是与额外的治疗活性组分组合施用所公开的抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段。

[0182] 本文还公开了药物组合物,其中本文公开的抗TMPRSS6抗体或抗原结合片段与本文其他地方描述的一种或多种额外治疗活性组分共同配制。

[0183] 抗体的诊断用途

[0184] 所公开的抗体及其抗原结合片段可用于检测和/或测量样品中的TMPRSS6,例如用于诊断目的。本文公开了所公开的抗体及其抗原结合片段在检测TMPRSS6相关疾病或病症的测定中的用途。TMPRSS6的示例性诊断测定可包括例如将从患者获得的样品与本文公开的抗TMPRSS6抗体或抗原结合片段接触,所述抗体或抗原结合片段用可检测标记或报告分子标记。所公开的抗体及其抗原结合片段也可用作捕获配体,以从受试者的样品中选择性分离TMPRSS6。或者,可将未标记的抗TMPRSS6抗体或片段与本身被可检测标记的第二抗体组合用于诊断应用中。可检测标记或报告分子可为放射性同位素,诸如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 或 ^{125}I ;荧光或化学发光部分,诸如异硫氰酸荧光素或罗丹明(rhodamine);或酶,诸如碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶或荧光素酶。可用于检测或测量样品中的TMPRSS6的具体示例性测定包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)和荧光激活细胞分选(FACS)。

[0185] 可用于TMPRSS6诊断分析中的样品包括从患者可获得的在正常或病理学条件下含有可检测量的TMPRSS6蛋白或其片段的任何组织或流体样品。通常,可以测量从健康受试者(例如未患有与TMPRSS6相关的疾病的患者)获得的特定样品中TMPRSS6蛋白的水平,以初步

建立TMPRSS6的基线或标准水平。然后可以将TMPRSS6的基线水平与从疑似患有TMPRSS6相关疾患或与此疾患相关的症状的个体中获得的样品中测量的TMPRSS6水平进行比较。

[0186] 抗TMPRSS6抗体或其抗原结合片段可以不含额外的标记或部分,或者它们可以含有N末端或C末端标记或部分。在一个实施方案中,标记或部分生物素。在结合测定中,标记(如果有的话)的位置可以决定肽相对于肽结合表面的取向。例如,如果将表面用抗生物素蛋白包被,则含有N末端生物素的肽将被取向,使得肽的C末端部分远离表面。

[0187] 实施例

[0188] 提出以下实施例,以便为本领域普通技术人员提供对如何制备和使用本文公开的方法和组合物的完整公开和描述,并且不旨在限制本发明人视为其发明的内容的范围。已努力确保关于所用数字(例如量、温度等)的准确性,但应考虑一些实验误差和偏差。除非另外指明,否则份数是重量份,分子量是平均分子量,温度以摄氏度计,室温是约25℃,并且压力是在大气压下或接近大气压。

[0189] 实施例1:针对跨膜丝氨酸蛋白酶6(TMPRSS6)的人抗体的产生

[0190] 在包含编码人免疫球蛋白重链和κ轻链可变区的DNA的VELOCIMMUNE®小鼠中产生针对TMPRSS6蛋白的人抗体。通过流体动力DNA递送,用人TMPRSS6 DNA免疫和加强免疫小鼠。

[0191] 如美国专利号7,582,298(所述专利以引用的方式整体并入本文)中所述,直接从抗原阳性小鼠B细胞中分离抗TMPRSS6抗体,而不与骨髓瘤细胞融合。使用此方法,获得几个完全人抗TMPRSS6抗体(即具有人可变结构域和人恒定结构域的抗体)。

[0192] 如上所述产生的示例性抗体命名为mAb37746、mAb37763、mAb37777、mAb37699、mAb41422、mAb41465和mAb41450,具有表1和表2中鉴定的HCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCVR、LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸和核酸序列。

[0193] 根据本实施例的方法产生的示例性抗体的生物学特性在以下实施例中详细描述。

[0194] 实施例2:重链和轻链可变区氨基酸和核苷酸序列

[0195] 表1列出了所选示例性抗TMPRSS6抗体的重链和轻链可变区序列、CDR序列以及重链和轻链序列的氨基酸序列标识符。

[0196]

[0197] 表1:氨基酸序列标识符

[0198]

抗体 ID	SEQ ID NO:							
	HCVR	H-CD R1	H-CD R2	H-CD R3	LCV R	L-CD R1	L-CD R2	L-CD R3
mAb37746	2	4	6	8	10	12	14	16
mAb37763	22	24	26	28	10	12	14	16
mAb37777	32	34	36	38	10	12	14	16
mAb37699	42	44	46	48	50	52	54	56
mAb41422	62	64	66	68	70	72	74	76
mAb41465	82	84	86	88	90	92	14	94
mAb41450	100	102	104	106	108	110	14	112

[0199] 表2列出了所选示例性抗TMPRSS6抗体的相应核酸序列标识符。

[0200] 表2:核酸序列标识符

[0201]

抗体 ID	SEQ ID NO:							
	HCVR	H-CD R1	H-CD R2	H-CD R3	LCV R	L-CD R1	L-CD R2	L-CD R3
mAb37746	1	3	5	7	9	11	13	15
mAb37763	21	23	25	27	9	11	13	15
mAb37777	31	33	35	37	9	11	13	15
mAb37699	41	43	45	47	49	51	53	55
mAb41422	61	63	65	67	69	71	73	75
mAb41465	81	83	85	87	89	91	13	93
mAb41450	99	101	103	105	107	109	13	111

[0202] 抗体可以具有人或小鼠Fc同型。如本领域普通技术人员所理解的,具有特定Fc同型的抗体可以转化为具有不同Fc同型的抗体(例如具有小鼠IgG1 Fc的抗体可以转化为人IgG1或人IgG4的抗体等),但无论如何,可变结构域(包括CDR,由表1中所示的数字标识符表示)将保持不变,并且无论Fc结构域的性质如何,预期与抗原的结合特性都是相同或基本上类似的。

[0203] 除非另有说明,否则以下实施例中使用的所有抗体都包含人IgG4 Fc,其在铰链区中包含丝氨酸至脯氨酸突变(S108P)。在铰链区中包含含有丝氨酸至脯氨酸突变(S108P)的人IgG4 Fc的mAb37746、mAb37763、mAb37777、mAb37699、mAb41422、mAb41465和mAb41450的

示例性抗体分别命名为REGN7969、REGN7971、REGN7973、REGN8023、REGN7974、REGN7977和REGN7999。表3列出了这些抗体的全长重链和轻链序列的氨基酸序列标识符。

[0204] 表3

[0205]

抗体ID	抗体名称	SEQ ID NO:			
		HC		LC	
		DNA	PEP	DNA	PEP
mAb3 7746	REGN 7969	17	18	19	20
mAb3 7763	REGN 7971	29	30	19	20
mAb3 7777	REGN 7973	39	40	19	20
mAb3 7699	REGN 8023	57	58	59	60
mAb4 1422	REGN 7974	77	78	79	80
mAb4 1465	REGN 7977	95	96	97	98
mAb4 1450	REGN 7999	113	114	115	116

[0206] 实施例3:通过表面等离子体共振确定的抗体与TMPRSS6的结合

[0207] 实验步骤

[0208] 使用Biacore 4000仪器,使用实时表面等离子体共振生物传感器测定TMPRSS6与不同TMPRSS6单克隆抗体(mAb)结合的平衡解离常数(K_D)。所有结合研究均在25℃和37℃下在10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA和0.05% v/v表面活性剂Tween-20 pH 7.4(HBS-ET)运行缓冲液中进行。首先通过与人Fc特异性小鼠mAb发生胺偶联来使Biacore CM5传感器芯片表面衍生化,以捕获不同的TMPRSS6 mAb。将几种TMPRSS6试剂蛋白用于实验,包括具有S762A突变且表达为具有C末端myc-myc-六组氨酸标签的人TMPRSS6胞外域(称为hTMPRSS6_S762A-MMH; REGN5330; SEQ ID NO:117)、具有S751A突变且表达为具有C末端myc-myc-六组氨酸标签的食蟹猕猴TMPRSS6胞外域(称为mfTMPRSS6_S751A-MMH; REGN 5977; SEQ ID NO:119)和具有S762A突变且表达为具有C末端myc-myc-六组氨酸标签的小鼠TMPRSS6胞外结构域(称为mTMPRSS6_S762A-MMH; REGN6848; SEQ ID NO:118)。将在HBS-EP运行缓冲液中制备的不同浓度(100nM至3.7nM, 3倍系列稀释)的TMPRSS6试剂蛋白以30μL/min的流速注射到TMPRSS6 mAb捕获表面上150秒,并监测它们在HBS-ET运行缓冲液中的解离,持续10分钟。在每个周期结束时,使用12秒注射20mM磷酸来再生TMPRSS6 mAb捕获表面。

[0209] 通过使用Scrubber 2.0 (BioLogic软件) 曲线拟合软件将实时结合传感图拟合到具有质量转移限制的1:1结合模型来确定缔合速率(k_a)和解离速率(k_d)。结合解离平衡常数(K_D)和解离半衰期($t_{1/2}$)根据动力学速率计算如下:

$$[0210] \quad K_D(M) = \frac{k_d}{k_a}, \text{ 和 } t_{1/2}(min) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

[0211] 结果

[0212] 不同的所选TMPRSS6 mAb与每种TMPRSS6试剂蛋白的结合动力学参数示出于表4至9中。

[0213] 表4:在25℃下不同TMPRSS6 mAb与hTMPRSS6_S762A-MMH结合的结合动力学参数

捕获的 mAb	mAb 捕获 水平(RU)	100nM 结合的 Ag (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
REGN7969	142 ± 0.6	89	4.04E+05	1.82E-04	4.50E-10	64
REGN7971	164 ± 5	103	4.55E+05	1.47E-04	3.22E-10	79
REGN7973	152 ± 2.8	134	2.52E+05	1.57E-04	6.26E-10	73
REGN7974	156 ± 3	191	2.59E+05	6.80E-04	2.63E-09	17
REGN7977	138 ± 0.4	159	2.18E+05	3.68E-04	1.69E-09	31
REGN7999	131 ± 0.8	176	2.67E+05	6.49E-05	2.43E-10	178
REGN8023	160 ± 1.1	205	6.71E+05	8.60E-05	1.28E-10	134

[0215] 如表4所示,所选TMPRSS6 mAb在25℃下与hTMPRSS6_S762A-MMH结合, K_D 值范围为约128pM至约2.63nM。

[0216] 表5:在37℃下不同TMPRSS6 mAb与hTMPRSS6_S762A-MMH结合的结合动力学参数

捕获的 mAb	mAb 捕获 水平(RU)	100nM 结合的 Ag (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
REGN7969	145 ± 3.6	110	2.22E+05	9.75E-04	4.40E-09	12
REGN7971	187 ± 4.6	169	2.61E+05	6.37E-04	2.44E-09	18
REGN7973	176 ± 2.7	164	5.95E+04	1.26E-03	2.12E-08	9
REGN7974	181 ± 3.2	206	1.11E+05	2.35E-03	2.12E-08	4.9
REGN7977	131 ± 1.2	134	1.13E+05	1.24E-03	1.10E-08	9
REGN7999	106 ± 1.5	129	1.54E+05	3.54E-04	2.30E-09	33
REGN8023	147 ± 1.8	205	4.18E+05	9.35E-04	2.24E-09	12

[0218] 如表5所示,所选TMPRSS6 mAb在37℃下与hTMPRSS6_S762A-MMH结合, K_D 值范围为约2.24nM至约21.2nM。

[0219] 表6:在25℃下不同TMPRSS6 mAb与mfTMPRSS6_S751A-MMH结合的结合动力学参数

捕获的 mAb	mAb 捕获 水平(RU)	100nM 结合的 Ag (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
REGN7969	142 ± 0.6	92	4.19E+05	1.82E-04	4.35E-10	63
REGN7971	168 ± 2	109	4.87E+05	1.38E-04	2.83E-10	84
REGN7973	157 ± 1.4	132	2.17E+05	5.14E-04	2.37E-09	22
REGN7974	160 ± 1.6	188	2.68E+05	1.92E-03	7.18E-09	6
REGN7977	137 ± 0.5	155	2.25E+05	6.97E-04	3.09E-09	17
REGN7999	130 ± 0.5	185	6.60E+05	7.23E-05	1.10E-10	160
REGN8023	161 ± 3.3	203	8.91E+05	5.79E-05	6.50E-11	199

[0221] 如表6所示,所选TMPRSS6 mAb在25℃下与mfTMPRSS6_S751A-MMH结合, K_D 值范围为

约65pM至约7.18nM。

[0222] 表7:在37℃下不同TMPRSS6 mAb与mfTMPRSS6_S751A-MMH结合的结合动力学参数

捕获的 mAb	mAb 捕获 水平(RU)	100nM 结合的 Ag (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
REGN7969	138 ± 1.3	105	2.83E+05	9.24E-04	3.27E-09	12
REGN7971	178 ± 1.8	160	3.63E+05	6.10E-04	1.68E-09	19
REGN7973	168 ± 1.2	145	1.32E+05	3.40E-03	2.57E-08	3.4
REGN7974	173 ± 2	183	2.51E+05	4.05E-03	1.61E-08	2.9
REGN7977	128 ± 0.9	133	2.07E+05	2.47E-03	1.19E-08	4.7
REGN7999	104 ± 1	143	4.08E+05	3.06E-04	7.50E-10	38
REGN8023	144 ± 1.6	206	6.32E+05	6.34E-04	1.00E-09	18

[0224] 如表7所示,所选TMPRSS6 mAb在37℃下与mfTMPRSS6_S751A-MMH结合, K_D 值范围为约750pM至约25.7nM。

[0225] 表8:在25℃下不同TMPRSS6 mAb与mTMPRSS6_S762A-MMH结合的结合动力学参数

捕获的 mAb	mAb 捕获 水平(RU)	100nM 结合的 Ag (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
REGN7969	140 ± 0.4	4	NB*	NB*	NB*	NB*
REGN7971	169 ± 1.2	5	IC [#]	IC [#]	IC [#]	IC [#]
REGN7973	158 ± 0.9	7	IC [#]	IC [#]	IC [#]	IC [#]
REGN7974	160 ± 0.5	3	NB*	NB*	NB*	NB*
REGN7977	136 ± 0.9	20	2.88E+05	6.70E-02	2.33E-07	0.17
REGN7999	128 ± 0.4	178	4.16E+05	3.45E-05	8.29E-11	334
REGN8023	157 ± 1.5	209	5.99E+05	1.10E-03	1.84E-09	10

[0228] -NB*表示在本实施例的特定实验条件下没有观察到结合。

[0229] -IC[#]表明观察到的结合数据是不确定的,并且在本实施例的特定实验条件下不能确定结合动力学参数。

[0230] 如表8所示,七个所选TMPRSS6 mAb中的三个在25℃下与mTMPRSS6_S762A-MMH结合, K_D 值范围为约82.9pM至约233nM。

[0231] 表9:在37℃下不同TMPRSS6 mAb与mTMPRSS6_S762A-MMH结合的结合动力学参数

	捕获的 mAb	mAb 捕获 水平(RU)	100nM 结合的 Ag (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	$t_{1/2}$ (min)
[0232]	REGN7969	128 ± 0.8	2	NB*	NB*	NB*	NB*
	REGN7971	170 ± 2.2	15	IC [#]	IC [#]	IC [#]	IC [#]
	REGN7973	162 ± 4.1	12	IC [#]	IC [#]	IC [#]	IC [#]
	REGN7974	164 ± 0.9	3	NB*	NB*	NB*	NB*
	REGN7977	123 ± 0.7	9	$3.23E+05$	$2.27E-01$	$7.03E-07$	0.05
	REGN7999	99 ± 0.8	130	$5.05E+05$	$1.60E-04$	$3.17E-10$	72
	REGN8023	138 ± 1.4	189	$2.69E+05$	$6.66E-03$	$2.47E-08$	1.7

[0233] -NB*表示在本实施例的特定实验条件下没有观察到结合。

[0234] -IC[#]表明观察到的结合数据是不确定的,并且在本实施例的特定实验条件下不能确定结合动力学参数。

[0235] 如表9所示,七个所选TMPRSS6 mAb中的三个在37℃下与mTMPRSS6_S762A-MMH结合, K_D 值范围为约317pM至约703nM。

[0236] 实施例4:选择的抗TMPRSS6单克隆抗体之间的交叉竞争

[0237] 实验步骤

[0238] 在Octet HTX生物传感器平台(Pall ForteBio Corp.)上使用实时、无标记生物层干涉测量法(BLI)测定来确定TMPRSS6单克隆抗体(mAb)之间的结合竞争。整个实验在25℃下在10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05% v/v表面活性剂Tween-20、1mg/mL BSA、0.02% Na₃ p_H7.4 (HBS-EBT)缓冲液中执行,其中板以1000rpm的速度摇动。为了评估2种mAb是否能够彼此竞争结合至其各自在TMPRSS6上的表位,首先通过将生物传感器尖端浸没在含有10μg/mL hTMPRSS6_S762A-MMH溶液的孔中1分钟来将包含表达为具有S762A突变和C末端myc-myc-六组氨酸标签的人TMPRSS6胞外结构域的重组蛋白(称为hTMPRSS6_S762A-MMH; REGN5330SEQ ID NO:117)捕获到抗五-His抗体(HIS1K)包被的Octet生物传感器尖端上。然后通过浸入到含有50μg/mL mAb-1溶液的孔中4分钟,用第一TMPRSS6 mAb(称为mAb-1)使hTMPRSS6_S762A-MMH捕获的生物传感器尖端饱和。然后将生物传感器尖端浸入到含有50μg/mL第二TMPRSS6 mAb(称为mAb-2)溶液的孔中3分钟。在实验的每个步骤之间,在HBS-EBT缓冲液中清洗生物传感器尖端。在整个实验过程中监测实时结合反应,并记录每个步骤结束时的结合反应。

[0239] 结果

[0240] 如表10所示,比较mAb-2与同mAb-1预复合的hTMPRSS6_S762A-MMH结合的反应,并确定了不同的选择的TMPRSS6 mAb的竞争/非竞争行为。

[0241] 表10:抗TMPRSS6单克隆抗体之间的交叉竞争

[0242]	mAb-1	mAb-2 显示与 mAb-1 竞争
	REGN7974	REGN7974
		REGN7973
		REGN7977
[0243]		REGN7999
	REGN7973	REGN7974
		REGN7973
		REGN7977
		REGN7999
	REGN7977	REGN7974
		REGN7973
		REGN7977
		REGN7999
	REGN7999	REGN7974
		REGN7973
		REGN7977
		REGN7999
	REGN7969	REGN7969
		REGN7971
		REGN8023
	REGN7971	REGN7969
		REGN7971
		REGN8023
	REGN8023	REGN7969
		REGN7971
		REGN8023

[0244] 实施例5:抗体与表达TMPRSS6的细胞的结合

[0245] 实验步骤

[0246] 为了评估所公开的抗TMPRSS6抗体的细胞结合,将HEK293细胞工程化以稳定过表达来自人(NCBI参考序列NM_001289001)、食蟹猴/食蟹猕猴(NCBI参考序列XM_005567384)和小鼠(NCBI参考序列NM_027902.2)的全长TMPRSS6,并且这些细胞系分别被称为HEK293/hTMPRSS6、HEK293/mfTMPRSS6和HEK293/mTMPRSS6。此外,将HEK293细胞工程化以稳定过表达无催化活性的全长人TMPRSS6,其中NCBI参考序列NM_001289001的位置753处的丝氨酸被改变为丙氨酸。该细胞系被称为HEK293/hTMPRSS6(S762A)。除了被分选用于高度表达小鼠TMPRSS6的小鼠TMPRSS6细胞系(HEK293/mTMPRSS6)以外,所有细胞系都是未分选的。

[0247] 为了评估本公开的抗TMPRSS6抗体与细胞表面上表达的受体的结合,将抗体(包括IgG亚类对照)在测定缓冲液(不含Ca⁺⁺的PBS和含Mg⁺⁺的2% FBS)中从375nM连续稀释至22.9pM(加上仅含测定缓冲液而不含测试分子的样品),并在测定缓冲液中与0.5×10⁶个细

胞/孔在4℃下孵育30分钟。在与一抗孵育后,在4℃下将细胞用4.0μg/mL的Alexa Fluor®-647缀合的二抗(Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc.,抗人#109-607-003)染色30分钟。使用BD CytoFix™(Becton Dickinson,#554655)固定细胞,并在IQue®或IQue® Plus流式细胞仪(Intellicyt)上分析。还测试了所有细胞系的未染色对照和单独二抗对照。使用ForeCyt® (IntelliCyt®)软件分析结果,以确定活细胞荧光的几何平均值,并通过用相应未染色细胞的几何平均值归一化测试条件的几何平均值来计算结合率。

[0248] 结果

[0249] 表11示出所选抗TMPRSS6抗体与被工程化来表达hTMPRSS6、hTMPRSS6 (S762A)、mfTMPRSS6和mTMPRSS6的细胞的结合。

[0250] 表11:抗TMPRSS6抗体与HEK293/TMPRSS6细胞的结合

[0251]

在 HEK 293 细胞 中表 达的 TMP RSS6	MFI-相对于未染色对照归一化									
	无 TMPRSS6		hTMPRSS6		hTMPRSS6 (S762A)		mfTMPRSS6		mTMPRSS6	
mAb	最大 倍数 结合	EC ₅₀ (M)	最大 倍数 结合	EC ₅₀ (M)	最大 倍数 结合	EC ₅₀ (M)	最大 倍数 结合	EC ₅₀ (M)	最大 倍数 结合	EC ₅₀ (M)
REG N796 9	3	没有 结合	52	6.7E- 10	170	2.0E- 09	50	1.2E- 09	1	没有 结合
REG N797 1	3	没有 结合	66	9.7E- 10	209	1.7E- 09	75	1.5E- 09	1	没有 结合
REG N797	4	没有 结合	58	2.7E- 09	145	2.0E- 09	91	3.3E- 09	42	3.5E-0 8

[0252]

3										
REG N7974	3	没有结合	54	2.4E-09	234	2.3E-09	50	3.6E-09	1	没有结合
REG N7977	5	3.1E-08	69	1.9E-09	156	1.6E-09	78	2.4E-09	125	9.1E-09
REG N7999	4	没有结合	50	2.2E-09	420	2.2E-09	79	2.0E-09	421	4.5E-09
REG N8023	3	没有结合	47	7.0E-10	300	2.0E-09	52	9.4E-10	296	8.4E-10
hIgG亚类对照	2	没有结合	1	没有结合	3	没有结合	1	没有结合	1	没有结合
单独抗人2"	2	没有结合	1	没有结合	2	没有结合	1	没有结合	1	没有结合

[0253] 如表11所示,所选抗TMPRSS6抗体显示与人、食蟹猴和HEK293细胞上表达的人S762A TMPRSS6结合。最大倍数结合比和 EC_{50} 值的范围对于hTMPRSS6表达细胞,为约47至69倍和约670pM至2.7nM,对于hTMPRSS6 (S762A) 表达细胞为约145至420倍和约1.6至2.3nM,对于mfTMPRSS6表达细胞为约50至91倍和约940pM至3.6nM。对于与mTMPRSS6表达细胞结合的四种mAb,最大倍数结合率和 EC_{50} 值的范围分别为约42至421倍和约840pM至35nM。所选抗TMPRSS6抗体证明与HEK293亲代细胞结合,结合率为约3至5倍。IgG亚类对照抗体(hIgG亚类对照)和单独二抗(单独抗人2")样品显示出结合率范围为约1至3倍。

[0254] 实施例6:人血幼素(HJV)的检测

[0255] 实验步骤

[0256] 为了还表征抗TMPRSS6单克隆抗体(mAb)抑制TMPRSS6的能力,使用具有两种不同读数的基于细胞的生物测定法。TMPRSS6通过裂解细胞表面的血幼素(HJV)来充当铁调素表达的负调节因子。参见例如Rausa等人J.Cell.Mol.Med.(2015)19:879-888;和Lee P.,Acta Haematol.(2009)122:87-96。

[0257] 对于该测定,使用流式细胞术测量细胞表面人血幼素(hHJV),并进行ELISA测定以定量表达全长人HJV和人或小鼠TMPRSS6的HEK293细胞中的可溶性hHJV水平。使用表达hHJV的HEK293细胞作为亲代细胞系(hHJV;氨基酸1-426,NCBI参考序列NP_998818.1)来使共表达生物测定细胞系工程化。在含有10%(v/v)胎牛血清、100单位的青霉素、100μg的链霉素和292μg/ml L-谷氨酰胺的杜氏改良伊戈尔培养基(Dulbecco's modified Eagle Media, DMEM)中用500μg/mL G418选择稳定表达人HJV的亲代细胞系。然后通过FACS将这些表达hHJV的HEK293细胞(HEK293.hHJV)富集(抗血幼素抗体;Abcam ab54431,驴抗小鼠IgG AF647;Invitrogen A-31571)用于高hHJV细胞表面表达。为了表达TMPRSS6,用具有C末端三重myc标签的全长人TMPRSS6(hTMPRSS6;氨基酸1-811,NCBI参考序列NM_153609.3)或全长小鼠TMPRSS6(mTMPRSS6;氨基酸1-811,NCBI参考序列NM_027902.2)的慢病毒上清液转导HEK293.hHJV。所得细胞系分别称为HEK293.hHJV/3xMyc.hTMPRSS6和HEK293.hHJV/

3xMyc.mTMPRSS6)。另外用500 μ g/mL G418和100 μ g/mL潮霉素B选择慢病毒转导的细胞持续2周,并使用抗Myc-AF647抗体分选高表达TMPRSS6群体。

[0258] 对于ELISA,将测定细胞系以 1×10^4 个细胞/孔铺板在平底96孔板中。将本公开的抗体以及对照连续稀释(从0nM至200nM),然后添加到含有100 μ L最终体积的每个孔中,并且在37 $^{\circ}$ C下孵育过夜。第二天,收获上清液,并且根据制造商的方案使用人RGM-C/血幼素 DuoSet ELISA试剂盒(R&D Systems, DY3720-05)进行ELISA。使用SpectraMax i3 (Molecular Devices)获得光密度,并用Prism软件(GraphPad)分析结果以获得IC₅₀值。用以下方程式计算抑制百分比:

$$[0259] \quad \text{抑制, [\%]} = \frac{\text{可溶性 HJV}_{\text{基线}} - \text{可溶性 HJV}_{\text{抗体}}}{\text{可溶性 HJV}_{\text{基线}} - \text{可溶性 HJV}_{\text{蛋白酶抑制剂}}} \times 100$$

[0260] 在该方程式中,“可溶性HJV_{基线}”表示在没有抗体或蛋白酶抑制剂处理的情况下,来自HJV-TMPRSS6过表达细胞上清液的可溶性HJV的量。“可溶性HJV_{抗体}”表示来自最大浓度的抗体处理的测定样品的可溶性HJV的量,并且“可溶性HJV_{蛋白酶抑制剂}”表示来自丝氨酸蛋白酶抑制剂抑肽酶(Sigma,目录号:10236624001)处理的样品的可溶性HJV的量。

[0261] 对于FACS分析,将HEK293.hHJV/3xMyc.hTMPRSS6细胞或HEK293.hHJV/3xMyc.mTMPRSS6细胞用50nM抗TMPRSS6抗体处理过夜。第二天,收获细胞以进行表面染色。为了对测定细胞系中的细胞表面hHJV进行染色,用FcR封闭剂(Miltenyi Biotec, 130-059-901)封闭细胞,并用抗血幼素抗体(Abcam ab54431, 1:400, 在冰上, 1小时)染色,随后用驴抗小鼠IgG AF647抗体(Invitrogen A-31571, 1:2000, 在冰上, 40分钟)孵育。使用Accuri C6流式细胞仪(BD)测量染色的细胞。

[0262] 在ELISA测定中,包括丝氨酸蛋白酶抑制剂抑肽酶(2 μ g/mL)和蛋白酶抑制剂混合物(Sigma,目录:P-1860, 1:200)作为对照,以阻断HEK293.hHJV/3xMyc.TMPRSS6细胞中的蛋白酶活性。对于FACS,包括抑肽酶(2g/mL)作为对照,以阻断HEK293.hHJV/3xMyc.TMPRSS6细胞中的蛋白酶活性。

[0263] 结果

[0264] 表12示出了抗TMPRSS6抗体对蛋白酶依赖性的HJV从细胞表面释放的抑制作用。

[0265] 表12:通过ELISA测定的TMPRSS6抗体在HEK293.hHJV/3xMyc.TMPRSS6过表达细胞系中的阻断功效

测定细胞系	HEK293.hHJV/3xMyc.hTMPRSS6		HEK293.hHJV/3xMyc.mTMPRSS6	
	抑制 (%)	IC ₅₀ [M]	抑制 (%)	IC ₅₀ [M]
REGN7969	> 99	7.12E-11	< 1	N/A

[0267]

REGN7971	89.9	7.74E-11	10.2	N/A
REGN7973	> 99	1.99E-10	9.4	N/A
REGN7974	> 99	1.54E-10	11.8	N/A
REGN7977	> 99	1.27E-10	46.4	N/A
REGN7999	> 99	1.02E-10	98.5	8.26E-11
REGN8023	> 99	1.49E-10	42.0	2.74E-10
同型对照	15.7	N/A	5.2	N/A
未处理	0.0	N/A	< 1	N/A
抑肽酶	> 99	N/A	> 99	N/A
蛋白酶抑制剂混合物	>99	N/A	>99	N/A

[0268] N/A-不适用。

[0269] 如表12所示,所有选择的TMPRSS6抗体显示出对表达人TMPRSS6的细胞中蛋白酶依赖的HJV从细胞表面释放的抑制>90%,并且 IC_{50} 值范围为约70至约200pM。两种抗体REGN7999和REGN8023在小鼠TMPRSS6表达细胞中显示出抑制作用,证明对小鼠TMPRSS6蛋白酶活性的抑制分别为约98.5%和约42%并且 IC_{50} 值为约82.6pM和约274pM。

[0270] 表13示出了抗TMPRSS6抗体对细胞表面HJV表达的抑制。

[0271] 表13:使用流式细胞仪测量的HEK293.hHJV/3xMyc.TMPRSS6过表达细胞系中的血幼素细胞表面表达水平

[0272]

测定细胞系	HEK293.hHJV/3xMyc.hTMPRSS6		HEK293.hHJV/3xMyc.mTMPRSS6	
mAb	几何平均荧光强度	中值荧光强度	几何平均荧光强度	中值荧光强度
REGN7969	47932	67517	8394	7813
REGN7971	61850	84416	8228	7472
REGN7973	46109	63527	8190	7441
REGN7974	40885	56698	6956	6224
REGN7	49022	63785	9128	7030

[0273]

977				
REGN7	30702	40146	23698	33576
999				
REGN8	55465	77830	18957	19405
023				
同型对	11684	12981	7750	7233
照				
未处理	13342	15024	9605	8897
抑肽酶	42301	58097	26671	38081

[0274] 如表13所示,所有选择的TMPRSS6抗体都阻止HJV从HEK293.hHJV/3xMyc.hTMPRSS6细胞表面裂解。REGN7999和REGN8023也阻止HJV从HEK293.hHJV/3xMyc.mTMPRSS6细胞表面裂解。

[0275] 实施例7:TMPRSS6酶活性的抑制

[0276] 实验步骤

[0277] 为了评估抗TMPRSS6抗体对TMPRSS6酶活性的抑制,建立了两种生物测定法。在两种生物测定中,将抗TMPRSS6抗体或IgG亚类对照在测定缓冲液(PBS+Ca⁺⁺和Mg⁺⁺)中从500nM连续稀释至122.1pM(加上仅含测定缓冲液而不含测试分子的样品)。

[0278] 第一生物测定(“CM生物测定”)是用作为条件培养基(CM)产生的TMPRSS6的胞外结构域进行的。通过使CHO细胞工程化以产生并分泌人TMPRSS6(NCBI参考序列NM_001289001的氨基酸68-802)或食蟹猴TMPRSS6(NCBI参考序列XM_005567384的氨基酸66-800,V673M)的胞外结构域来制备CM,两者都融合到N末端8x组氨酸。对于CM生物测定,将抗体与0.2% hTMPRSS6 CM或0.75% mfTMPRSS6 CM在25℃下孵育30分钟,其中所有百分比CM均表示为% v/v。

[0279] 第二生物测定(“HEK293生物测定”)是用HEK293/hTMPRSS6、HEK293/mfTMPRSS6和HEK293/mTMPRSS6细胞系进行的,所述细胞系分别从人、食蟹猴和小鼠稳定表达TMPRSS6。关于这些细胞系的制备的详情可以在实施例5中找到。对于HEK293生物测定,将细胞以10,000个细胞/孔(预孵育30分钟)和20,000个细胞/孔(预孵育过夜)铺板在96孔板的DMEM高葡萄糖+10% FBS+Pen/Strep/L-谷氨酰胺(DMEM完全)中,并在37℃下在5% CO₂中孵育。对于具有30分钟预孵育条件的HEK293细胞生物测定,在细胞铺板后的当天,从细胞中除去培养基,将所有细胞在测定缓冲液中洗涤一次,向细胞中添加抗体,并在25℃下孵育30分钟。对于过夜预孵育条件,在细胞铺板后的当天,将抗体添加到仍在DMEM完全培养基中的细胞中,无需洗涤,并在37℃下在5% CO₂中孵育过夜。第二天,从细胞中去除培养基(包括抗体),并将所有细胞在测定缓冲液中洗涤一次。

[0280] 在所有测定的抗体/TMPRSS6孵育和板洗涤结束时,将溶解在测定缓冲液中的150uM荧光TMPRSS6肽底物(Boc-Gln-Ala-Arg-AMC, Enzo BML-P237)添加到抗体处理的细胞或CM/抗体混合物中,并在37℃下在5% CO₂中孵育1h。孵育1h后,在Envision板读取器(Perkin Elmer)上测量荧光,其中激发波长为380nm并且发射波长为460nm。使用Prism软件(GraphPad)使用非线性回归(4参数逻辑)分析结果,以获得IC₅₀值。通过使用以下方程式,用RFU(相对荧光单位)值计算抑制百分比:

$$[0281] \quad \% \text{抑制} = 100 \times \frac{RFU_{\text{基线}} - RFU_{\text{抑制}}}{RFU_{\text{基线}} - RFU_{\text{背景}}}$$

[0282] 在该方程式中，“ $RFU_{\text{基线}}$ ”是来自一定浓度的TMPRSS6 CM或一定数量的无抗体的HEK293/TMPRSS6细胞的荧光值，“ $RFU_{\text{抑制}}$ ”是最大浓度的特定抗体与前述浓度的TMPRSS6 CM或一定数量的HEK293/TMPRSS6细胞的荧光值，并且“ $RFU_{\text{背景}}$ ”是没有任何TMPRSS6 CM或HEK293/TMPRSS6细胞的荧光值。

[0283] 结果

[0284] 选择七种抗TMPRSS6抗体，并测试它们抑制TMPRSS6 CM和HEK293/TMPRSS6细胞的酶活性的能力。表14至16示出了这些实验的结果。

[0285] 表14: TMPRSS6 CM的抗TMPRSS6抗体抑制

[0286]

恒定 TMPRSS6 CM 浓度	0.2% hTMPRSS6 CM		0.75% mfTMPRSS6 CM	
mAb	%抑制	IC ₅₀ [M]	%抑制	IC ₅₀ [M]
REGN7969	71	>1.0E-08	66	>5.0E-08
REGN7971	65	>1.0E-08	68	>5.0E-08
REGN7973	93	2.6E-08	81	>5.0E-08
REGN7974	85	4.0E-07	69	>5.0E-08
REGN7977	94	2.3E-08	89	5.0E-08
REGN7999	98	3.0E-09	98	1.7E-09
REGN8023	98	7.1E-10	98	7.4E-10
hIgG 亚类对照	无抑制	无抑制	无抑制	无抑制

[0287] 如表14所示，所有选择的抗体显示出约0.2%hTMPRSS6 CM的抑制范围为约65%至约98%，IC₅₀值范围为约710pM至大于约10nM。本文公开的所有抗体还显示出约0.75%mfTMPRSS6 CM的抑制范围为约66%至约98%，IC₅₀值范围为约740pM至大于约50nM。

[0288] 表15: 在25℃下预孵育30分钟的情况下HEK293/TMPRSS6细胞的抗TMPRSS6抗体抑制

[0289]

10,000 个细胞/孔与抗体在 25°C下预孵育 30 分钟						
HEK293/T MPRSS6 种 类	hTMPRSS6		mfTMPRSS6		mTMPRSS6	
mAb	%抑制	IC ₅₀ [M]	%抑制	IC ₅₀ [M]	%抑制	IC ₅₀ [M]

[0289]

[0290]

REGN7969	87	1.9E-09	87	8.8E-09	无抑制	无抑制
REGN7971	86	9.7E-10	87	3.1E-09	无抑制	无抑制
REGN7973	89	5.8E-09	85	2.5E-08	无抑制	无抑制
REGN7974	86	5.1E-09	81	3.0E-08	无抑制	无抑制
REGN7977	86	3.6E-09	87	8.1E-09	58	3.5E-08
REGN7999	86	3.0E-09	90	6.5E-09	88	3.6E-09
REGN8023	90	3.6E-10	94	6.6E-10	82	1.5E-09
hIgG 亚类对照	无抑制	无抑制	无抑制	无抑制	无抑制	无抑制

[0291] 如表15所示,当将抗体与10,000个HEK293/TMPRSS6细胞预孵育30分钟时,所有选择的抗体显示对HEK293/hTMPRSS6细胞的抑制范围为约86%至约90%, IC_{50} 值范围为约360pM至约5.8nM。所有选择的抗体还显示对HEK293/mfTMPRSS6细胞的抑制范围为约81%至约94%, IC_{50} 值范围为约660pM至约30nM。三种所选抗体(REGN7977、REGN7999、REGN8023)显示对HEK293/mTMPRSS6细胞的抑制范围为约58%至约88%,抑制抗体的 IC_{50} 值范围为约1.5nM至约35nM。

[0292] 表16:在37℃下预孵育过夜的情况下HEK293/TMPRSS6细胞的抗TMPRSS6抗体抑制

[0293]

20,000 个细胞/孔与抗体在 37℃下预孵育过夜						
HEK293/TMPRSS6 种类	hTMPRSS6		mfTMPRSS6		mTMPRSS6	
mAb	%抑制	IC_{50} [M]	%抑制	IC_{50} [M]	%抑制	IC_{50} [M]
REGN7969	88	1.2E-09	89	1.3E-08	无抑制	无抑制
REGN7971	90	1.4E-09	89	6.0E-09	无抑制	无抑制
REGN7973	88	2.2E-09	42	> 1.0E-08	无抑制	无抑制
REGN7974	86	2.6E-09	31	> 1.0E-08	无抑制	无抑制
REGN7977	87	1.7E-09	81	> 1.0E-08	97	1.4E-08
REGN7999	89	2.1E-09	91	2.1E-08	103	2.1E-09
REGN8023	90	1.1E-09	91	2.8E-09	98	1.2E-09
hIgG 亚类对照	无抑制	无抑制	无抑制	无抑制	无抑制	无抑制

[0294] 如表16所示,当将抗体与20,000个HEK293/TMPRSS6细胞预孵育过夜时,所有选择的抗体显示对HEK293/hTMPRSS6细胞的抑制范围为约86%至约90%, IC_{50} 值范围为约1.1nM至约2.6nM。所有选择的抗体还显示对HEK293/mfTMPRSS6细胞的抑制范围为约31%至约91%, IC_{50} 值范围为约2.8nM至大于约10nM。三种所选抗体(REGN7977、REGN7999、REGN8023)显示对HEK293/mTMPRSS6细胞的抑制范围为约97%至约103%,抑制抗体的 IC_{50} 值范围为约1.2nM至约14nM。IgG亚类对照抗体在任何测试形式中都没有表现出对TMPRSS6的任何可测量的抑制作用。

[0295] 实施例8:通过HDX-MS对人TMPRSS6进行表位作图

[0296] 实验步骤

[0297] 进行氢-氘交换质谱法 (HDX-MS) 以确定与本公开的TMPRSS6单克隆抗体的亚群 REGN7999和REGN8023相互作用的人TMPRSS6的氨基酸残基。HDX-MS方法的一般描述陈述于例如Ehring, Analytical Biochemistry (1999) 267 (2) :252-259; 和Engen and Smith, Anal. Chem. (2001) 73:256A-265A中。

[0298] 在定制平台上进行HDX-MS实验, 所述平台由以下组成: 用于氘标记和淬灭的定制 HDX自动化系统、用于样品消化和加载的Waters Acquity二元溶剂管理器、用于分析梯度的另一个Waters Acquity二元溶剂管理器以及用于肽鉴定和质量测量的Thermo Q exact HF 质谱仪。

[0299] 将D₂O标记溶液制备为pD 7.0的D₂O中的PBS缓冲液 (10mM磷酸盐缓冲液、140mM NaCl和3mM KCl, 相当于在25°C下的pH 7.4)。对于氘标记, 在20°C下将10μL表达为具有 S762A突变和C末端myc-myc-六组氨酸标签的重组人TMPRSS6胞外结构域 (称为hTMPRSS6_S762A-MMH; REGN5330; SEQ ID NO:117) 与REGN7999或REGN8023的预混合物与90μL的D₂O标记溶液在不同的时间点一起一式两份地孵育 (非氘化对照为0分钟; 氘标记为5分钟或10分钟)。通过向每个样品中添加90μL淬灭缓冲液 (0.5M TCEP-HCl、4M脲和0.5%甲酸) 在20°C下孵育90秒来淬灭氘化反应。然后将淬灭的样品注入到LC系统中进行在线胃蛋白酶/蛋白酶 XIII消化。消化的肽被C18柱 (2.1mm x 5mm, Waters) 捕获, 并在-5°C下被另一个C18柱 (2.1mm x 50mm, Waters) 分离, 梯度为20分钟, 从0%-90% B (流动相A: 0.5%甲酸和4.5% 乙腈水溶液, 流动相B: 乙腈中的0.5%甲酸)。通过Thermo Q exact HF质谱在LC-MS/MS或 LC-MS模式下分析洗脱的肽。

[0300] 使用Byonic搜索引擎 (Protein Metrics), 在包括人TMPRSS6蛋白、胃蛋白酶、蛋白酶 XIII的氨基酸序列及其反向序列的数据库中, 搜索来自未氘化的hTMPRSS6_S762A-MMH样品的LC-MS/MS数据。使用非特异性酶消化和人糖基化作为常见变量修饰, 将搜索参数设置为默认值。然后将鉴定的肽列表导入HDEaminer软件3.1 (Sierra Analytics) 在以计算所有氘化样品的氘摄取 (D_{摄取}) 和氘摄取百分比 (%D) 。%D是使用以下方程式计算的:

$$[0301] \quad \text{氘摄取 (\%D)} = \frac{\text{在每个时间点的肽的 } D_{\text{摄取}} \times 100\%}{\text{肽的最大 } D_{\text{摄取}}}$$

[0302] 结果

[0303] 从单独的hTMPRSS6_S762A-MMH和hTMPRSS6_S762A-MMH与REGN7999样品的复合物中鉴定了总共294个来自人TMPRSS6的肽, 代表约79.2%的人TMPRSS6的序列覆盖率。呈现出氘摄取百分比下降5%或更多的任何肽被定义为受到显著保护 ($\Delta \%D < -5\%$)。

[0304] 表17示出了与单独的hTMPRSS6_S762A-MMH相比, 在形成hTMPRSS6_S762A-MMH-REGN7999复合物时具有显著保护作用的人TMPRSS6肽。对应于人TMPRSS6上氨基酸693-703SHFFEPGLHC W (SEQ ID NO:120) 和780-805LVSWGLGCRPNYFGVYTRITG VISW (SEQ ID NO:121) 的肽受到REGN7999显著保护。

[0305] 表17: 受到REGN7999显著保护的人TMPRSS6肽

	5 分钟			10 分钟			
	人 TMPRSS6	hTMPRSS6- REGN7999	hTMP RSS6	hTMPRSS6- REGN7999	hTMP RSS6		
残基*	D-摄取	D-摄取	ΔD	D-摄取	D-摄取	ΔD	$\Delta\% D$
693-698	0.42	0.61	-0.19	0.37	0.62	-0.25	-8.2
693-703	0.85	1.08	-0.23	0.53	1.15	-0.62	-5.9
[0306] 695-703	0.39	1.18	-0.79	0.4	1.16	-0.76	-14.4
780-798	5.41	6.14	-0.73	5.3	6.18	-0.88	-5.6
781-783	0.32	0.40	-0.08	0.32	0.39	-0.07	-8.3
781-796	4.89	5.61	-0.72	4.91	5.59	-0.68	-6.0
781-798	5.30	6.04	-0.74	5.35	6.00	-0.65	-5.1
784-796	3.18	3.66	-0.48	3.14	3.59	-0.45	-5.2
792-798	0.43	0.79	-0.36	0.43	0.77	-0.34	-7.7
793-798	0.45	0.63	-0.18	0.44	0.66	-0.22	-5.5
797-805	2.15	2.56	-0.41	2.12	2.53	-0.41	-6.5

[0307] *序列编号对应于NCBI登记号NP_705837.1

[0308] 从单独的hTMPRSS6 S762A-MMH和hTMPRSS6 S762A-MMH与REGN8023样品的复合物中鉴定了总共302个来自人TMPRSS6的肽,代表约79.6%的人TMPRSS6的序列覆盖率。呈现出氘摄取百分比下降5%或更多的任何肽被定义为受到显著保护($\Delta\% D < -5\%$)。

[0309] 表18示出了与单独的hTMPRSS6 S762A-MMH相比,在形成hTMPRSS6 S762A-MMH-REGN8023复合物时具有显著保护作用的人TMPRSS6肽。对应于人TMPRSS6上氨基酸125-133LITSTR LGT (SEQ ID NO:122)、586-594GEWPWQASL (SEQ ID NO:123)、626-650STVLWTVFLGKVWQNSRWPGEVSFK (SEQ ID NO:124) 和704-724ITGWGALREGGPISNALQKVD (SEQ ID NO:125) 的肽受到REGN8023显著保护。

[0310] 表18:受到REGN8023显著保护的人TMPRSS6肽

[0311]

	5 分钟			10 分钟			
人 TMPRSS6	hTMPRSS6- REGN8023	hTMPRSS6		hTMPRSS6- REGN8023	hTMPRSS6		
残基*	D-摄取	D-摄取	ΔD	D-摄取	D-摄取	ΔD	$\Delta\% D$
125-131	1.73	2.02	-0.29	1.73	1.98	-0.25	-6.0
125-133	2.59	3.03	-0.44	2.61	2.99	-0.38	-6.5
126-133	2.51	2.92	-0.41	2.56	2.90	-0.34	-6.9
586-589	0.07	0.15	-0.08	0.08	0.14	-0.06	-7.7
586-594	0.60	0.93	-0.33	0.60	0.93	-0.33	-6.2
626-630	1.51	1.66	-0.15	1.53	1.65	-0.12	-5.2
628-630	0.03	0.18	-0.15	0.03	0.16	-0.13	-15.4
628-631	0.04	0.15	-0.11	0.06	0.14	-0.08	-5.2
628-633	0.08	0.28	-0.20	0.10	0.29	-0.19	-5.4
634-639	1.93	2.45	-0.52	1.92	2.45	-0.53	-14.6
634-642	3.46	4.04	-0.58	3.47	4.00	-0.53	-8.9
634-644	3.84	4.44	-0.60	3.87	4.41	-0.54	-7.9
634-646	4.81	5.38	-0.57	4.84	5.35	-0.51	-6.0
634-649	5.99	6.63	-0.64	6.02	6.59	-0.57	-5.2
634-650	6.15	6.94	-0.79	6.24	6.92	-0.68	-5.9
704-710	1.50	1.83	-0.33	1.51	1.84	-0.33	-7.2
704-711	2.32	2.69	-0.37	2.34	2.68	-0.34	-6.6
704-713	3.22	3.61	-0.39	3.20	3.57	-0.37	-5.3
704-71	3.88	5.37	-1.49	3.94	5.31	-1.37	-13.

[0312]	8						2
	704-71						-12.
	9	4.56	5.99	-1.43	4.50	6.02	6
	704-72						-16.
	0	4.89	6.87	-1.98	4.79	6.91	3
	711-72						-22.
[0313]	0	2.28	3.72	-1.44	2.32	3.67	2
	711-72						-20.
	4	3.52	5.68	-2.16	3.64	5.60	8
	714-72						-22.
	4	2.86	4.70	-1.84	2.88	4.62	1

[0313] *序列编号对应于NCBI登记号NP_705837.1

[0314] 实施例9:通过CryoEM对人TMPRSS6进行表位作图

[0315] 实验步骤

[0316] 使用冷冻电子显微镜(CryoEM)还表征与所选TMPRSS6抗体相关的表位。

[0317] 为了制备Fab片段,遵循制造商的标准方案,使用Fabricator酶(Genovis)将REGN7999和REGN8023 IgG裂解成F(ab')²和Fc片段。用2-巯基乙胺(2-MEA,ThermoFisher)将F(ab')²还原成Fab,然后用CaptureSelect IgG-Fc(ms)亲和树脂(ThermoFisher)去除Fc片段。通过注射到与AKTA Avant 25色谱系统(GE healthcare)相连的尺寸排阻色谱(SEC)柱(Superdex 200Increase 15/300GL,GE healthcare)中来进一步纯化Fab片段。运行缓冲液含有25mM Tris-HCl pH 7.5、150mM NaCl。将峰级分合并,并在30kDa截止离心过滤器(Millipore Sigma)中浓缩,随后用于复合物制备。

[0318] 本实验中使用的的人TMPRSS6蛋白包括与C末端Myc-Myc-六组氨酸标签融合的人TMPRSS6的胞外结构域残基G77-T811,并在催化结构域(S762A)中含有使所述蛋白质无催化活性(称为人TMPRSS6_S762A-MMH)的突变。为了形成复合物,将200μg纯化的人TMPRSS6_S762A-MMH与各250μg的REGN7999 Fab和REGN8023 Fab混合,然后在冰上孵育约30分钟。将混合物注射到与AKTA Avant 25色谱系统(GE healthcare)相连的SEC柱(Superdex 200Increase 15/300GL,GE)中。SEC运行缓冲液含有25mM Tris-HCl pH 7.5、150mM NaCl。将来自对应于人TMPRSS6_S762A-MMH-REGN7999 Fab-REGN8023 Fab复合物的单分散峰的级分合并,并在30kDa截止离心过滤器(Millipore Sigma)中浓缩至3.5mg/mL浓度,使用Nanodrop仪器(ThermoFisher)测量。

[0319] 如下进行CryoEM样品制备和数据收集。将新鲜纯化的人TMPRSS6_S762A-MMH-REGN7999 Fab-REGN8023 Fab复合物在含有25mM Tris-HCl pH 7.5、150mM NaCl的缓冲液中稀释两倍至1.75mg/mL,用于cryoEM网格制备。添加正十二烷基-b-D-麦芽吡喃糖苷(Anatrace)至约60μM的终浓度,之后立即将3.5μL混合物移液到UltrAufoil R1.2/1.3,300目网格(Quantifoil)。使用滤纸吸去多余液体,使用在4℃和100%湿度下操作的Vitrobot Mark IV(ThermoFisher)将网格浸入到由液氮冷却的液态乙烷中冷冻。然后将网格插入到配备有K3照相机(Gatan)的Titan Krios G3i显微镜(ThermoFisher)中。在计数模式下,以81,000倍的标称放大率(0.85 Å 像素大小)收集了3,580个影像。每个影像在2秒曝光时间内含有46个剂量部分,每Å²获得的总剂量为约40个电子。

[0320] 如下进行CryoEM数据处理和图谱生成。最初使用Cryosparc v2.14.2对CryoEM数据进行处理。影像通过补片运动校正(Patch motion correction)进行运动校正,并通过补片CTF估计对CTF参数进行估计。最初使用Blob拾取器拾取颗粒,以生成用于模板拾取的2D类平均值。使用模板拾取器拾取927,835个颗粒。在2D分类、从头算重建和异源细化后,鉴定94,036个对应于REGN5330--REGN7999 Fab-REGN8023 Fab复合物的颗粒。使用非均匀细化将这些颗粒细化到3.4 Å的分辨率重建。将所得图谱用作Relion中3D分类的初始参考模型。使用Relion 3.1版单颗粒处理管道计算用于模型构建的图谱。使用MotionCor2对影像进行运动校正,使用gctf估计CTF参数。基于CTF分辨率估计值好于4 Å,选择3,411张对齐的显微照片进行进一步处理。使用基于2D模板的自动拾取从显微照片中拾取1,445,534个颗粒,并提取为3倍分间隔颗粒图像(每像素2.55 Å)。进行三轮2D分类以去除假阳性和破碎或不完整的复合物,产生1,034,494个颗粒。使用在CryoSparc中计算的初始参考模型,对这些颗粒进行3D分类,要求8个等级。将来自对应于人TMPRSS6 S762A-MMH--REGN7999Fab-REGN8023Fab复合物的两个最佳类别的270,021个颗粒重新提取为未分间隔颗粒图像,并进行3D细化,这产生了3.4 Å分辨率的图,其中Fab和催化结构域被很好地分辨,但是蛋白质的剩余N末端结构域分辨较差。为了更好地分辨N末端结构域,在没有比对的情况下进行集中分类,应用排除Fab和催化结构域的软掩模。含有146,035个颗粒的单一类别被鉴定为具有提高的N末端结构域密度。对这些颗粒的细化产生了分辨率为3.6 Å的图谱。在两轮CtfRefine和Bayesian抛光之后,在没有比对的情况下进行三次额外的聚焦3D分类运行,其中应用了围绕CUB和SEA域的软掩模,产生105,142个颗粒的最终集合。然后,这些颗粒被细化为3.3 Å分辨率(FSC=0.143)的图谱,在N末端结构域具有改进的特征。对于模型构建,将图谱过滤为Relion中计算的局部分辨率值,并锐化为-76 Å²的B因子。

[0321] 如下进行模型构建和细化。使用Coot 0.8.9版进行手动模型构建,并在Phenix 1.17版中进行真实空间细化。使用Phenix的Sculptor程序,从人蛋白裂解酶-1催化结构域(PDB 4IS5)的公开晶体结构产生人TMPRSS6催化结构域S762A突变体的同源模型。使用Phenix AutoDock将该模型与人TMPRSS6 S762A-MMH--REGN7999 Fab-REGN8023 Fab复合物的cryoEM图谱对接并手动调整。使用LDLR结构域(PDB 1AJJ)的公开晶体结构作为指导,将LDLRa结构域手动构建到密度中。通过Cubilin(PDB 3KQ4)的公开晶体结构指导CUB结构域1和2的手动构建。大体积残基侧链的密度和N-连接的糖基化以及二硫桥的位置证实了正确的序列记录。N末端SEA结构域由于片段化密度差而没有构建。目前的模型包括人TMPRSS6残基212-811,除了位于无序接头中的残基573-581和662-664。由先前确定的REGN Fab结构制成REGN7999和REGN8023的Fab片段的同源性模型。与其独特的CDR序列相对应的可清楚解释的侧链密度有助于Fab模型与其各自密度的明确对接。对接后,手动调整模型,然后对整个TMPRSS6 S762A-MMH--REGN7999 Fab-REGN8023 Fab复合物进行真实空间细化。

[0322] 结果

[0323] 人TMPRSS6 S762A-MMH--REGN7999 Fab-REGN8023 Fab复合物的CryoEM结构:为了更好地理解抗TMPRSS6抗体如何结合并抑制TMPRSS6,通过SEC分离一种蛋白质复合物,所述蛋白质复合物由与抗TMPRSS6抗体REGN7999和REGN8023的Fab片段结合的无催化活性的人

TMPRSS6胞外域(人TMPRSS6 S762A-MMH)组成,并通过单颗粒CryoEM确定其三维结构。在3.3 Å 总分辨率下,CryoEM重建足以为约80%的人TMPRSS6胞外域构建原子模型,所述胞外域包括其两个CUB结构域、三个LDLRa结构域和催化丝氨酸蛋白酶结构域。所述重建还允许REGN7999和REGN8023 Fab片段的明确对接以及它们可变区的人工再拟合。两种Fab的互补位-表位界面的局部分辨率范围为3.1-3.5 Å,允许准确测定抗体和TMPRSS6之间的残基水平相互作用。三级复合物的结构也证实,REGN7999和REGN8023在非重叠表位处结合。

[0324] REGN7999表位和结构抑制机制:表18总结了TMPRSS6上REGN7999表位的残基。这些残基被定义为具有非氢原子的TMPRSS6残基,其在REGN7999的非氢原子的4 Å 内,并且可以涉及氢键、电荷-电荷相互作用或疏水/范德华相互作用。REGN7999表位可以在TMPRSS6上分成两个片段。第一片段位于催化结构域上,并且由TMPRSS6残基G699、H701、D724、Q726、L727、I728、P729、L732、E735、G749、Y750、R751、K752和N791组成。此片段处的接触由CDR H3、L2、L3和框架区(FR)L3的单个残基介导。第二片段位于LDLRa重复结构域2上并且由残基V490、S501、T502、C503、I504、S505和K508组成。第二片段的互补位包含跨越CDR-L2和FR-L3的部分的轻链残基的连续延伸。CUB结构域和SEA结构域远离REGN7999结合界面,并且对其在TMPRSS6上的表位没有贡献。来自对REGN7999的氘交换(HDX)质谱实验(实施例8)的数据通常与在CryoEM结构中观察到的催化结构域片段一致,但是没有突出显示来自LDLRa结构域2的残基对表位的贡献。

[0325] 尽管其表位包括催化结构域上的片段,但REGN7999不接触发生裂解的催化位点三联体(H617、D668和S672),也不定向为使得其在空间上阻断底物接近活性位点。结合至TMPRSS6的底物的位置尚未通过实验确定,但该位置可从Yuan等人,BMC Struct Biol. (2011) 11:30中报告的与肽抑制剂复合的蛋白裂解酶丝氨酸蛋白酶结构域的同源结构中推断。这些结构观察表明,可溶性血幼素与TMPRSS6胞外域的结合不受REGN7999的存在干扰。不受任何理论束缚,REGN7999可能通过将TMPRSS6变构“捕获”在能够结合但不能裂解底物的无活性构象中来抑制TMPRSS6。

[0326] REGN8023表位和结构抑制机制:表19总结了TMPRSS6上REGN8023表位的残基。这些残基被定义为具有非氢原子的TMPRSS6残基,其在REGN8023的非氢原子的4 Å 内,并且可以涉及氢键、电荷-电荷相互作用或疏水/范德华相互作用。REGN8023表位仅位于催化结构域上,并且由TMPRSS6残基R597、R599、I601、D622、L710、R711、E712、G713、G714、P715和I716组成。在该结构中观察到的表位通常与HDX质谱实验的数据一致。REGN8023互补位大部分包含在重链中,并且包括CDR H1、H2、H3、L1、L3以及FR-H3。

[0327] REGN8023结合TMPRSS6催化结构域,使得重链不直接接触催化三联体,但基于上述模型,似乎位于阻断底物接近活性位点的位置。不受任何理论束缚,REGN8023可能通过底物与活性位点结合的空间位阻来抑制TMPRSS6。结合数据也表明这一点,证实REGN8023与可溶性血幼素竞争结合至TMPRSS6胞外域蛋白。

[0328] 表19:抗TMPRSS6抗体表位。表位残基被定义为在抗体的非氢原子的4 Å 内具有非氢原子的氨基酸

	TMPRSS6 表位残基*	
	LDLRa 结构域 2	催化结构域
[0329] REGN7999	V490、S501、T502、 C503、I504、S505、K508	G699、H701、D724、Q726、 L727、I728、P729、L732、 E735、G749、Y750、R751、 K752、N791
REGN8023	N/A	R597、R599、I601、D622、 L710、R711、E712、G713、 G714、P715、I716

[0330] *序列编号对应于NCBI登记号NP_705837.1

[0331] 实施例10:雌性WT小鼠中REGN7999和REGN8023的比较

[0332] 实验步骤

[0333] 进行了两个体内实验来分析所选TMPRSS6抗体对血清铁调素和血清铁的作用。对于两项研究,使用具有人源化HJV的雌性野生型小鼠(研究1:11-13周龄,和研究2:6-9周龄)。在两项研究中,小鼠在第7天预抽血。在第一项研究(研究1)中,在研究的第0、2和7天,以10mg/kg向小鼠皮下施用两种所选TMPRSS6抗体REGN7999和REGN8023以及同型对照抗体。然后在第9天将小鼠处死,并收集末端出血用于分析。在第二项研究(研究2)中,在研究的第0、2和7天,以25mg/kg向小鼠皮下施用相同的两种TMPRSS6抗体REGN7999和REGN8023以及同型对照抗体。然后在第14天将小鼠处死,并收集末端出血用于分析。

[0334] 在这两项研究中,使用Siemens ADVIA Chemistry XPT仪器测量末端出血时的血清铁。根据制造商的说明书,使用铁调素-鼠竞争ELISA试剂盒(Intrinsic Lifesciences, 目录:HMC-001,批号:5142019)测量末端出血的血清铁调素。

[0335] 结果

[0336] 来自研究1的血清铁(表示为ng/mL)和血清铁调素(表示为g/dL)测量值示出于表20中,并且来自研究2的测量值示出于表21中。

[0337] 表20:人源化HJV小鼠响应于研究1中的TMPRSS6抗体治疗(10mg/kg)的血清铁和铁调素水平

	测量值	同型对照 Ab	REGN7999	REGN8023
	血清铁调素(ng/mL) 平均值±SD	390.2±175.4	652.0±175.4*	590±160.9
[0338]	血清铁(g/dL)平均 值±SD	148.8±37.78	79.63±18.15*	112±51.41

[0339] 如表20所示,在研究1中,与同型对照治疗的小鼠相比,在健康的REGN7999治疗的小鼠中,REGN7999治疗显著增加了血清铁调素并降低了血清铁。REGN8023治疗还增加了健康REGN8023治疗小鼠的血清铁调素并降低了血清铁,尽管这与同型对照治疗小鼠相比没有统计学意义。在表20中,所有值均为平均值±SD,每组n=6-8。单向ANOVA;*p<0.05对比同型对照Ab。

[0340] 表21:研究2中的人源化HJV小鼠响应于TMPRSS6抗体治疗(25mg/kg)的血清铁和铁调素水平

	测量值	同型对照 Ab	REGN7999	REGN8023
[0341]	血清铁调素 (ng/mL)平均值±SD	220.4±110.9	609.4±289.6*	363.4±108.1
	血清铁(g/dL)平均值 ±SD	156.8±25.02	58.00±11.14*	86.00±17.77*

[0342] 如表21所示,在研究2中,与同型对照治疗的小鼠相比,在健康的REGN7999治疗的小鼠中,REGN7999治疗显著增加了血清铁调素并降低了血清铁。REGN8023治疗也增加了健康的REGN8023治疗的小鼠的血清铁调素并降低了血清铁,尽管与同型对照治疗的小鼠相比,仅血清铁水平达到了统计显著性。在表21中,所有值均为平均值±SD,每组n=4-5。单向ANOVA;*p<0.05对比同型对照Ab。

[0343] 两项研究的数据表明,所选抗TMPRSS6抗体能够阻断TMPRSS6功能,从而对铁调素和血清铁水平产生观察到的作用。

[0344] 实施例11:在血色素沉着病小鼠模型中抗TMPRSS6对肝铁的作用

[0345] 为了进一步研究抗TMPRSS6抗体REGN7999在相关疾病模型中的功效,进行1型遗传性血色素沉着病研究。遗传性血色素沉着病是一种由HFE蛋白突变引起的铁过载疾病,其导致不适当的低铁调素水平(Finberg等人Blood (2011) 117(17):4590-4599)。

[0346] 实验步骤

[0347] 将在100% C57BL/6背景下对于小鼠HFE基因缺失为纯合的雄性小鼠(称为HFE^{-/-})用作1型遗传性血色素沉着病的小鼠模型。每周向HFE^{-/-}小鼠(n=5-7)皮下注射10mg/kg同型对照或REGN7999,除了在第1周注射施用2次。包括野生型小鼠对照组,并施用同型对照。8周后,使用CO₂窒息对小鼠实施安乐死。采集末梢血,并且按照制造商的方案使用铁调素鼠竞争ELISA试剂盒(Intrinsic Lifesciences,目录:HMC-001,批号:02032020)测量血清铁调素。处死小鼠后,将它们的肝快速冷冻。后来,基于以下描述的方法,对这些肝进行处理以测量肝铁含量:Torrance和Bothwell, S.Afr. J. Med. Sci. (1968) 33(1):9-11。

[0348] 结果

[0349] 表22示出了血清铁调素(以ng/mL报告)和肝铁含量(以μg/g干重报告)值。

[0350] 表22:在遗传性血色沉着病小鼠模型中REGN7999对血清铁调素和肝铁含量的影响

	HFE ^{+/+} (野生 型)小鼠 同型对照治疗	HFE ^{-/-} 小鼠 同型对照治疗	HFE ^{-/-} 小鼠 REGN7999 治疗	
[0351]	血清铁调素 (ng/mL)	364.8±96.89	339.3±150.7	1631±231.4* **
	肝铁含量 (mg/g 干重)	338.4±60.03	771.1±68.37*	618.7±51.17* **

[0352] 如表22所示,在用REGN7999治疗8周后,与用同型对照治疗的小鼠(约339.3ng/mL)

相比,HFE^{-/-}小鼠具有显著增加的血清铁调素(约1631ng/mL)。还如表22所示,在用REGN7999治疗8周后,与用同型对照(约771.1μg/g干重)治疗的小鼠相比,HFE^{-/-}小鼠具有显著更低的肝铁含量(约618.7μg/g干重)。在表22中,所有值均为平均值±SD,每组n=5-7。单向ANOVA;*p<0.05对比HFE+/+同型对照;**p<0.05对比HFE-/-同型对照。

[0353] 实施例12:抗TMPRSS6在β地中海贫血小鼠模型中的作用

[0354] 为了评估本文公开的两种抗TMPRSS6抗体的功效,在中型β地中海贫血(一种与无效红细胞生成和铁失调相关的铁过载病症)的鼠模型中进行研究。

[0355] 在C57BL/6/129S6背景中,产生了β1和β2基因杂合缺失的小鼠,其重现了人中型β地中海贫血(Ginzburg, Blood (2011) 118(16):4321-4330),并且人血幼素(HJV)的纯合表达代替了小鼠HJV(称为Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn})。每周向Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠(n=10-19)皮下注射10mg/kg的REGN7999、REGN8023或同型对照(除了第1周施用2次注射)。包括野生型(WT)小鼠对照组,并以类似方式施用同型对照。8周后,使用CO₂窒息对小鼠实施安乐死,通过心脏穿刺收集全血,并将其置于有或没有EDTA的血清采血管中。根据制造商的说明书,使用可商购获得的铁调素鼠竞争ELISA试剂盒(Intrinsic Lifesciences,目录:HMC-001,批号:08232019)测量血清铁调素。使用Siemens ADVIA Chemistry XPT仪器和Oxford Science GENESIS Hematology系统测量血清铁和全血液学指标,包括网织红细胞和成熟红细胞(RBC)。

[0356] 此外,在处死小鼠后,将其肝和脾快速冷冻,直至进一步处理。随后基于以下描述的方法,对肝样品进行处理以测量肝铁含量:Torrance和Bothwell, S. Afr. J. Med. Sci. (1968) 33(1):9-11。将脾切碎并通过70mm过滤器过滤到含有10mL autoMACS®缓冲液(Miltenyi Biotec,目录:130-091-221)的管中。为了从股骨中收获骨髓,从小鼠中切下髌关节末端,并将其置于含有100mL补充有牛血清白蛋白(BSA)的 autoMACS®缓冲液的试管中(Miltenyi Biotec,目录:130-091-376)。快速旋转试管(10s, 400x g),将骨髓释放到溶液中。

[0357] 将骨髓和脾细胞在4℃下以400×g离心10分钟,然后与抗小鼠CD45磁珠(Miltenyi Biotec,目录:130-052-301)在冰上孵育20分钟。在此之后在multi-24柱上进行磁分离(Miltenyi Biotec,目录:130-095-691)。收集富含成熟和前体RBC的流过液,并将其与抗小鼠CD16/CD32 Fc阻断(BD Biosciences,克隆2.4G2,目录:553142)一起孵育10分钟。在此之后与以下商用抗体(全部为大鼠抗小鼠抗体)孵育30分钟:FITC抗Ter119,克隆TER-119,目录:557915;APC抗CD44,克隆IM7,目录:561862;APC-Cy7抗CD45,克隆号30-F11,目录号:557659;APC-Cy7抗CD11b,克隆M1/70,目录:557657;以及APC-Cy7抗Ly6G,克隆1A8,目录:560600;全部来自BD Biosciences。

[0358] 添加AADvanced(ThermoFisher, S10349)持续30分钟,以从分析中排除死细胞。所有染色程序均在冰上进行,包括使用OneComp eBeads™(Invitrogen,目录:01-1111-42)进行补偿对照。准备负一对照板,用于对目标群体进行正确门控。在CytoFLEX LX流式细胞仪(Beckman-Coulter)上使用荧光负一对照来对目标群体进行门控,从而对样品进行测量。

[0359] 如表23所示,在用REGN7999或REGN8023治疗8周后,与用同型对照治疗的WT和Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠(分别为约225ng/mL和约511ng/mL)相比,Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠具有显著增加的血清铁调素水平(分别为约1510ng/mL和约1454ng/mL)。

[0360] 此外,在用REGN7999或REGN8023治疗8周后,与同型对照(约128 μ g/dL,表23)相比,Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}具有显著降低的血清铁(约50 μ g/dL)。在同型对照治疗组中,Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠比WT小鼠积累更多肝铁。与雄性小鼠(约215 μ g/g至约364 μ g/g干重)相比,雌性小鼠(约466 μ g/g至约985 μ g/g干重)的这种增加更明显(表23)。在治疗8周后,响应于REGN7999和REGN8023的肝铁含量的减少也在雌性小鼠中具有更大效果。在表23中,所有值均为平均值 $\pm$ SD,每组n=10-19。单向ANOVA;*p<0.01对比WT同型对照;**p<0.05对比Hbb^{th3/+}同型对照。

[0361] 表23:在 β -地中海贫血小鼠模型中,REGN7999和REGN8023对血清铁调素、血清铁和肝铁含量的影响

治疗组	血清铁调素 (ng/mL)	血清铁 (mg/dL)	肝铁 (mg/g 干重) 雌性群组	肝铁 (mg/g 干重) 雄性群组
野生型小鼠同型对照治疗	225 $\pm$ 107	167 $\pm$ 27	466 $\pm$ 64	215 $\pm$ 49
[0362] Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠同型对照治疗	511 $\pm$ 232	128 $\pm$ 31*	985 $\pm$ 190*	364 $\pm$ 123*
Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 REGN7999 治疗	1510 $\pm$ 911* **	51 $\pm$ 23* **	718 $\pm$ 177**	293 $\pm$ 119
Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 REGN8023 治疗	1454 $\pm$ 624* **	56 $\pm$ 34* **	732 $\pm$ 182**	264 $\pm$ 79

[0363] 在Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠中施用REGN7999或REGN8023导致与用同型对照(约8.72M/ μ L;表24)相比红细胞增加(分别为约10.51M/ μ L和约10.18M/ μ L)。在Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠中用REGN7999或REGN8023治疗八周导致脾网织红细胞减少(从同型对照的约38%减少到约18%;Ter-119⁺/CD44^高)和脾和骨髓成熟RBC水平增加(Ter-119⁺/CD44^低),表明脾中的红细胞生成得到改善且对继发性红细胞生成的需要减少(表25)。还观察到与同型对照(约0.301g)相比,用抗TMPRSS6 REGN7999(约0.142g)或REGN8023(约0.130g)治疗的Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠的脾重量显著降低(表24)。在表24中,所有值均为平均值 $\pm$ SD,每组n=10-19。单向ANOVA;*p<0.05对比WT同型对照;**p<0.05对比Hbb^{th3/+}同型对照。在表25中,所有值均为平均值 $\pm$ SD,每组n=10-19。单向ANOVA;*p<0.001对比WT同型对照;**p<0.0001对照Hbb^{th3/+}同型对照。

[0364] 表24:REGN7999和REGN8023对 β -地中海贫血小鼠模型中的红细胞和脾重量的影响

[0365]

治疗组	动物数量(n)	红细胞 (M/mL)	脾重量 (g)
野生型小鼠同型 对照治疗	16-19	10.05±0.87	0.076±0.014
Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 同型对照治疗	15-16	8.72±0.27*	0.301±0.112*
Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 REGN7999 治疗	11-14	10.51±0.87**	0.142±0.053* **
Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 REGN8023 治疗	10-13	10.18±0.47**	0.130±0.046**

[0366] 表25:在β-地中海贫血小鼠模型中REGN7999和REGN8023对骨髓和脾网织红细胞和红细胞的影响

[0367]

治疗组	骨髓网织 红细胞 (% CD44 ^高)	骨髓成熟红 细胞 (% CD44 ^低)	脾网织红细胞 (% CD44 ^高 Ter119 ⁺)	脾成熟红细胞 (% CD44 ^低 Ter119 ⁺)
	Ter119 ⁺)	Ter119 ⁺)		
野生型小鼠同 型对照治疗	45.6±5.4	42.0±5.4	17.0±5.4	80.5±5.4
Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 同型对照治疗	48.1±10.5	25.8±11.6*	38.0±8.2*	51.0±13.5*
Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 REGN7999 治 疗	40.4±6.8	46.2±7.8**	18.1±3.2**	80.1±4.3**
Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 REGN8023 治 疗	41.5±9.4	45.7±10.1**	18.5±5.6**	78.2±7.9**

[0368] 实施例13:REGN7999在β-地中海贫血小鼠模型中的作用

[0369] 为了进一步评估本文公开的REGN7999的功效,在中型β-地中海贫血的鼠模型中进行了研究,如实施例12中所述。

[0370] 在C57BL/6/129S6背景中,产生了β1和β2基因杂合缺失的小鼠,其重现了人中型β地中海贫血(Ginzburg, Blood (2011) 118(16):4321-4330),并且人血幼素(HJV)的纯合表达代替了小鼠HJV(称为Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn})。每周向Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠(n=7-9;关于生成这些小鼠的详情,参见实施例12)皮下注射5mg/kg的REGN7999或同型对照(除了在第1周施用2次注射)。包括野生型(WT)小鼠对照组,并以类似方式施用同型对照。8周后,如实施例12所

述处理小鼠并收集样品。如实施例12所述,测量血清铁调素、血清铁和全血液学指标,包括网织红细胞和成熟红细胞。

[0371] 此外,在处死小鼠后,将它们的肝快速冷冻,然后如实施例12所述进行处理。表26示出了血清铁调素(以ng/mL报告)和肝铁含量(以 $\mu\text{g/g}$ 干重报告)值。

[0372] 表26:在 β -地中海贫血小鼠模型中REGN7999对血清铁调素、血清铁和肝铁含量的影响

	野生型小鼠同型对照治疗	Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠同型对照治疗	Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 REGN7999 治疗
[0373] 血清铁调素 (ng/mL)	376.8 $\pm$ 217.6	713.1 $\pm$ 435.8	1781 $\pm$ 1053* **
血清铁 (mg/dL)	138.6 $\pm$ 60.92	102.3 $\pm$ 40.69	66.71 $\pm$ 25.53*
肝铁含量 ($\mu\text{g/g}$ 干重)	372.1 $\pm$ 83.96	547.2 $\pm$ 162.7*	513.9 $\pm$ 95.83

[0374] 如表26所示,在用5mg/kg REGN7999治疗8周后,与用同型对照治疗的WT和Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠(分别为约376.8ng/mL和约713.1ng/mL)相比,Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠具有显著增加(约1781ng/mL)的血清铁调素水平。同样如表26所示,与用同型对照治疗的Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠(约138 $\mu\text{g/dL}$)相比,用REGN7999治疗导致血清铁显著减少(约66 $\mu\text{g/dL}$)。在同型治疗的对照研究组中,观察到肝铁含量从野生型小鼠的约372 $\mu\text{g/g}$ 干重增加到Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠的约547 $\mu\text{g/g}$ 干重。虽然在Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠中,与同型对照相比,用REGN7999治疗没有显著降低肝铁含量(分别为约513.9和约547.2 $\mu\text{g/g}$ 干重),但与用同型对照治疗的野生型小鼠相比,观察到显著降低(表26)。在表26中,所有值均为平均值 $\pm$ SD,每组n=7-9;单向ANOVA*p<0.05对比WT同型对照;**p<0.05对比Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}同型对照。

[0375] 表27:REGN7999对 β -地中海贫血小鼠模型中的血细胞比容、红细胞和血红蛋白的影响

	野生型小鼠同型对照治疗	Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠同型对照治疗	Hbb ^{th3/+} x HJV ^{HumIn} 小鼠 REGN7999 治疗
[0376] 血细胞比容 (%)	36.92 $\pm$ 1.924	28.31 $\pm$ 1.969*	30.57 $\pm$ 3.216**
[0377] 红细胞 (M/mL)	9.52 $\pm$ 0.81	8.93 $\pm$ 0.68	11.2 $\pm$ 0.51* **
血红蛋白 (g/dL)	13.02 $\pm$ 0.73	9.22 $\pm$ 0.54*	10.1 $\pm$ 0.65* **

[0378] 如表27所示,正如预期的,与野生型小鼠相比,用同型对照治疗的Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠的血细胞比容、红细胞计数和血红蛋白水平较低。用5mg/kg同型对照治疗的Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠的血细胞比容从野生型小鼠的约37%降低至约28%。与同型对照相比,用REGN7999治疗对Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}中的血细胞比容没有显示出任何影响(表27)。红细胞(以M/ μ L报告)从野生型小鼠的约9.52降低到用同型对照治疗的Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠的约8.93。在Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠中用REGN7999治疗8周后,红细胞显著增加至约11.2M μ L(表27)。在野生型同型对照治疗的小鼠中,血红蛋白水平为约13g/dL,如表27所示,在Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠中用同型对照治疗将血红蛋白显著降低至约9.22g/dL。在Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠中治疗8周后,用REGN7999治疗将血红蛋白水平增加至约10.1g/dL。不受理论束缚,这些数据支持通过调节铁调素途径限制铁对红细胞具有有益作用的观点。在表27中,所有值均为平均值 $\pm$ SD,每组n=6-9;单向ANOVA*p<0.05对比WT同型对照;**p<0.05对比Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}同型对照。

[0379] 实施例14:在食蟹猴中的药代动力学(PK)和药效动力学(PD)

[0380] 本研究的目的是确定两种抗TMPRSS6人单克隆抗体(mAb)的药代动力学(PK)特征和药代动力学/药效动力学(PK/PD)关系。对于本研究,REGN7999和REGN8023作为单一静脉内(IV)输注向雌性食蟹猴施用。

[0381] 如表28中总结的,将21只雌性食蟹猴分配到6组中的一组(每组n=3或4只动物;5mg/kg或15mg/kg剂量组)。动物接受5mg/kg REGN7999、5mg/kg REGN8023、15mg/kg REGN7999、15mg/kg REGN8023或15mg/kg同型对照抗体的单次IV输注(表28)。在给药前和整个56天生命期的不同时间从所有动物中收集用于测定总药物浓度的血液样品。使用合格的抗人Fc酶联免疫吸附测定(ELISA)测定血清中的总人mAb的浓度。使用非房室分析(NCA)估计PK参数。在整个研究过程中的不同时间点收集药效动力学血液样品,并使用标准临床化学(Beckman Coulter AU680分析仪)和血液学(Avida 120分析仪)分析进行分析。根据制造商的说明书,使用可商购获得的铁调素鼠竞争ELISA试剂盒(Intrinsic Lifesciences,目录:HMC-001,批号:08232019)测量血清铁调素。

[0382] 表28:剂量和剂量组的总结

组号	测试或对照物品	剂量水平(mg/kg)	剂量体积(mL/kg)	动物数量
1	同型对照抗体	15	7.5	3
2	REGN7999	5	2.5	3
3	REGN7999	15	7.5	4
4	REGN8023	5	2.5	3
5	REGN8023	15	7.5	4

[0384] 注意:结果和讨论仅集中于REGN7999和REGN8023测试物品(第2组至第5组)的PK/PD。

[0385] 抗TMPRSS6单克隆抗体(mAb)REGN7999或REGN8023的PK曲线由非线性动力学描述,在低浓度下具有靶介导的清除率(TMC)并且在高mAb浓度下具有与靶介导的消除途径饱和一致的线性剂量比例动力学。在单剂量IV施用后,总REGN7999和REGN8023的浓度时间曲线

的特征在于初始短暂分布期,随后为短暂的线性 β 消除期,以及在低浓度下终末非线性靶介导的消除期和后靶介导的消除期。未观察到对曲线的类似抗药物抗体 (ADA) 的影响的确切证据,也未观察到对暴露的明显影响;因此,没有浓度值被排除在分析之外。

[0386] 药代动力学参数列出在表29中。在单次IV剂量5和15mg/kg抗体后,对于REGN7999观察到的最大血清浓度($C_{\max}$)值分别为约120和约410 $\mu\text{g/mL}$,对于REGN8023观察到的 $C_{\max}$ 值分别为约162和约508。相应剂量归一化 $C_{\max}$ ($C_{\max}/\text{剂量}$)值是在约1.4倍内,表明 $C_{\max}$ 随着抗TMPRSS6 mAbs REGN7999和REGN8023的IV剂量增加而成剂量比例增加。对于所有剂量组,观察到约0.5h的平均 $t_{\max}$ (达到 $C_{\max}$ 所需的时间),这是第一测量时间点。

[0387] REGN7999的暴露量(AUC_{inf})的增加大于剂量比例,在施用15mg/kg REGN7999后的 $\text{AUC}_{\text{inf}}/\text{剂量}$ 为约5mg/kg剂量的1.6倍。与此相一致,在5mg/kg剂量下观察到较大的总体清除率(CL),这是由于在较低浓度下TMC的影响较大。REGN8023的暴露量随着剂量增加而成比例增加,这表明在所检测的剂量下,TMC的影响更加适度。在所有剂量组中,代表TMC的终末半衰期($t_{1/2}$)范围在约7-8天之间。

[0388] 表29:向雌性食蟹猴单次静脉内推注施用后总REGN7999和总REGN8023的平均药代动力学参数

参数	单位	REGN7999				REGN8023			
		5 mg/kg (n=3)		15 mg/kg (n=4)		5 mg/kg (n=3)		15 mg/kg (n=4)	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
$C_{\max}$	$\mu\text{g/mL}$	120	7.57	410	47.2	162	16.2	508	55.0
$C_{\max}/\text{剂量}$	$(\mu\text{g/mL}) / (\text{mg/kg})$	23.9	1.51	27.3	3.15	32.5	3.24	33.9	3.66
$t_{\max}$	h	0.500	0	0.50 0	0	0.500	0	0.50 0	0
AUC_{inf}	天 $\cdot$ ($\mu\text{g/mL}$)	831	153	3950	617	1440	182	4500	951
$\text{AUC}_{\text{inf}}/\text{剂量}$	天 $\cdot$ ($\mu\text{g/mL}) / (\text{mg/kg})$	166	30.7	263	41.2	289	36.4	300	63.4
CL	$\text{mL}/\text{天}/\text{kg}$	6.17	1.25	3.88	0.68 0	3.50	0.44 6	3.46	0.79 2
V_{ss}	mL/kg	57.2	1.31	57.6	6.65	37.7	2.41	42.8	7.02
[0389] 终末 $t_{1/2}$	天	8.10	0.59 2	7.74	0.94 9	7.49	0.57 7	7.39	2.09

[0390] 如表30所示,在57天研究过程中追踪REGN7999和REGN8023对血清铁调素、血清铁

和转铁蛋白饱和度的药效动力学作用。在用5mg/kg或15mg/kg REGN7999或REGN8023治疗的组中,在给药后第1天,平均血清铁相对于基线血清铁浓度减少约60%。

[0391] 如表31所示,转铁蛋白饱和度从基线时的约35%下降到第1天的约12%,代表血清铁运载能力改善。第1天的PD效应与剂量无关,表明在低剂量和高剂量的REGN7999和REGN8023下,在第1天达到的浓度下TMPRSS6结合饱和度。在5mg/kg和15mg/kg剂量组中,在REGN7999给药后,血清铁和转铁蛋白饱和度的降低保持了至少6周。在5mg/kg剂量的REGN8023组中,对血清铁的药效动力学作用在IV施用后约1周开始恢复到基线,并且在第4周与同型对照治疗无统计学差异。在15mg/kg REGN8023剂量组中,由于持续较高的药物浓度,药效动力学作用持续时间比5mg/kg REGN8023剂量组更长。到第57天,大多数动物的血清铁和转铁蛋白饱和度都恢复到大约基线值。

[0392] 如表32所示,在给予REGN7999或REGN8023后,血清铁调素浓度略有增加,但观察到动物间存在较大变异性。

[0393] 表30:血清铁的药效动力学平均值(+/-SD)

剂量组:	血清铁对比基线的变化%		
	第 1 天	第 29 天	第 57 天
[0394] 同型对照抗体(15 mg/kg)	-17.1 ± 18.0	-22.9 ± 6.8	-13.0 ± 9.6
REGN7999 (5 mg/kg)	-62.7 ± 4.8 ****	-62.5 ± 2.9 ***	-31.6 ± 11.3
REGN7999 (15 mg/kg)	-65.0 ± 9.6 ****	-67.2 ± 4.9	-30.9 ±
[0395]		****	20.6
	REGN8023 (5 mg/kg)	-59.9 ± 7.3 ***	-41.4 ± 14.7
	REGN8023 (15 mg/kg)	-62.7 ± 8.4 ****	-69.9 ± 11.5 ****
			-39.0 ± 19.3 *

[0396] 表31:药效动力学平均值(+/-SD)转铁蛋白饱和度

剂量组:	转铁蛋白饱和度(%)			
	基线 (第 0 天)	第 1 天	第 29 天	第 57 天
同型对照抗体(15 mg/kg)	34.6 ± 8.7	27.3 ± 9.2	24.5 ± 3.6	20.1 ± 0.4
[0397] REGN7999 (5 mg/kg)	34.9 ± 9.8	12.5 ± 4.8 ***	11.3 ± 2.4 **	18.8 ± 0.4
REGN7999 (15 mg/kg)	34.1 ± 1.8	12.3 ± 4.8 ***	10.4 ± 2.8 ***	17.3 ± 0.5
REGN8023 (5 mg/kg)	32.0 ± 3.4	12.9 ± 4.2 **	16.9 ± 3.8	15.8 ± 0.4
REGN8023 (15 mg/kg)	29.3 ± 7.7	11.7 ± 3.2 ***	9.1 ± 4.4 ***	14.3 ± 0.5

[0398] 表32:血清铁调素的药效动力学平均值(+/-SD)

剂量组:	血清铁调素对比基线的变化%		
	第 1 天	第 29 天	第 57 天
同型对照抗体(15 mg/kg)	-19.5	-36.4	-37.2
[0399] REGN7999 (5 mg/kg)	261.1	-32.1	-10.7
REGN7999 (15 mg/kg)	162.7**	50.4	4
REGN8023 (5 mg/kg)	52.2	-42.5	-18.8
REGN8023 (15 mg/kg)	132.2	7.9	-34.0

[0400] 所有值均为平均值±SD,每组n=3-4。统计学Dunnett的双向ANOVA;*p<.05对比同型**p<.01对比同型对照;***p<.001对比同型对照;****p<.0001对比同型对照

[0401] 实施例15:REGN7999对β地中海贫血小鼠模型中的无氧能力的影响

[0402] 评估了REGN7999治疗对β地中海贫血小鼠模型中的无氧能力的影响。

[0403] 在C57BL/6/129S6背景中,产生了β1和β2基因杂合缺失的小鼠,其重现了人中型β地中海贫血(Ginzburg,Blood (2011) 118(16):4321-4330),并且人血幼素(HJV)的纯合表达代替了小鼠HJV(称为Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn})。Hbb^{th3/+} x HJV^{HumIn}小鼠(关于生成这些小鼠的进一步详情,见实施例12)。

[0404] 在Hbb^{th3/+}小鼠中的REGN7999治疗似乎导致红细胞增加,红细胞看起来更小、更健康并且具有更慢的更新(参见例如实施例13)。然而,尚不清楚这是否会转化为REGN7999治疗后红细胞的功能改善。例如,不知道这些更小但更健康的红细胞是否能够在无氧条件下输送足够的氧气,例如在力竭跑步期间。

[0405] 为了测试这一点,对Hbb^{th3/+}小鼠进行强迫跑步研究(参见图1中描述的研究计划)。在所有实验之前,将小鼠在配备有电击板的六车道电动跑步机(系列8跑步机,IITC Life Science)的皮带上训练2周。对于力竭跑步,基础速度(10米/分钟)每5min按5m/min增加。在60分钟时确定最大距离量。将在电击装置上保持静止或接受500次电击的小鼠从跑步机上

移出。

[0406] 观察到Hbb^{th3/+}小鼠跑步的距离显著小于用同型对照抗体(REGN1945)治疗的野生型C57BL/6小鼠,表明这些小鼠更快力竭(图2A)。用10mg/kg REGN7999治疗的Hbb^{th3/+}小鼠能够跑步的距离与野生型动物跑相似(图2A),这表明用REGN7999治疗观察到的红细胞健康的改善反映在无氧能力的改善上。注射有REGN7999的野生型C57BL/6小鼠与同型治疗的小鼠相比,在跑步距离上没有表现出差异,表明REGN7999没有改善非Hbb^{th3/+}小鼠的跑步能力(图3)。

[0407] 还收集了乳酸盐测量值。为了测定乳酸盐产量,在力竭跑步后从尾静脉收集15mL血液。通过使用如Summermatter等人Proc Natl Acad Sci USA.2013;110(21):8738-43中所述的乳量计(Nova Biomedical)来确定乳酸盐水平。对照Hbb^{th3/+}小鼠与用REGN7999治疗的Hbb^{th3/+}小鼠相比,尽管跑步距离更短,但产生更多血液乳酸盐,这进一步表明红细胞健康得到改善(图2B)。

[0408] 实施例16:REGN7999和Acvr2b(L79D)-Fc对肝铁和红细胞生成效力的影响

[0409] Acvr2b(L79D)-Fc已显示改善无效的红细胞生成并增加小鼠和人中的血红蛋白(参见例如Cappellini等人N Engl J Med.2020;382(13):1219-31;Suragani等人Blood.2014;123(25):3864-72)。如本文所示,用REGN7999阻断TMPRSS6似乎改善了无效的红细胞生成,并导致更多和更健康的红细胞。在β地中海贫血的小鼠模型中,评估REGN 7999治疗对肝铁和红细胞生成效力的影响,并与用Acvr2b(L79D)-Fc治疗进行比较。

[0410] 为了比较REGN7999治疗(10mg/kg)和Acvr2b(L79D)-Fc治疗(10mg/kg)的效果,对Hbb^{th3/+}小鼠施用两种分子中的一种,持续8周。如实施例10所述测量血清铁调素、血清铁和肝铁含量。用任一分子治疗8周后,观察到REGN7999治疗增加了血清铁调素,降低了血清铁和肝铁含量,但是Acvr2b(L79D)-Fc治疗对这些参数没有影响(图4A-4C)。Acvr2b(L79D)-Fc增加了体重,但对肝重量没有影响(图5)。REGN7999治疗显示减轻脾重量,但是Acvr2b(L79D)-Fc治疗没有(图6)。Hbb^{th3/+}对照小鼠具有显著的脾肿大,这通过用REGN7999治疗来部分逆转。Acvr2b(L79D)-Fc治疗没有为Hbb^{th3/+}小鼠的脾肿大带来任何变化。

[0411] 还从治疗的动物中收集血细胞计数板。如在先前的实施例中所见,血细胞计数板显示REGN7999治疗显著增加了Hbb^{th3/+}小鼠中的红细胞计数(表33)。与Hbb^{th3/+}对照相比,Acvr2b(L79D)-Fc治疗显著增加血红蛋白,但不增加红细胞计数。然而,REGN7999治疗显示出RBC计数的显著增加(表33)。

[0412] 使用流式细胞术来证实这一发现。将来自脾或骨髓的分离的红细胞与鼠Fc-阻断剂(抗CD16/32,BD Biosciences)一起孵育10分钟,然后与异硫氰酸荧光素(FITC)抗Ter119、藻红蛋白(PE)抗CD71、别藻蓝蛋白(APC)抗CD44和APC-青色素7(APC-Cy7)抗CD45/CD11b/Ly6G混合物(所有抗体BD Biosciences)一起孵育30分钟。为了从分析中排除死细胞,将细胞用Sytox AADvanced染色30分钟(ThermoFisher)。所有染色程序都在冰上进行。使用OneComp珠粒(Invitrogen)进行补偿对照,并在细胞染色时制备。准备负一对照板,用于对目标群体进行正确门控。在CytoFLEX流式细胞仪(Beckman-Coulter)上测量所有样品。

[0413] 流式细胞术数据显示仅在REGN7999治疗的小鼠中脾成熟红细胞增加,但在Acvr2b(L79D)-Fc治疗的小鼠中没有增加(图7)。REGN7999治疗还显示网织红细胞减少,这在Acvr2b(L79D)-Fc治疗中没有观察到(图8)。

[0414] 表33:用REGN7999或Acvr2b(L79D)-Fc治疗的Hbb^{th3/+}小鼠的血细胞计数板

组	WT REGN1945	Hbb ^{th3/+} REGN1945	Hbb ^{th3/+} REGN7999	Hbb ^{th3/+} Acvr2b(L79D)-Fc
<i>n</i>	7	7	6	6
红细胞 (M/mL)	10.25 ± 0.52	9.82 ± 1.47	11.65 ± 0.44**	11.08 ± 1.19
网织红细胞 (占 RBC 的%)	0.001 ± 0.004	0.26 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.09 ± 0.21
血细胞比容 (%)	42.64 ± 3.65	30.90 ± 3.95*	30.58 ± 1.76	31.82 ± 4.29
血红蛋白 (g/dL)	14.26 ± 0.63	10.11 ± 1.23*	10.37 ± 0.39	11.82 ± 1.24**
平均红细胞 体积(fL)	41.7 ± 1.27	31.63 ± 2.55*	26.25 ± 0.83**	31.35 ± 2.09***

[0417] 序列

[0418] 表34:本公开的示例性DNA和蛋白质(PRT)序列

[0419]

SEQ ID NO:	DNA/PR T 序列	序列
1	DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTCAATAACTATGGCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATCATATGATGGAAGTAATGAATATT ATTCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTTCAAATG AACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTATATTA CTGTGCGAGAGATCAGGACTACGGTGGTAACCTCTT TCATTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACTGTCTC CTCA
2	PRT	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFNNGMHW VRQAPGKGLEWVAIISYDGSNEYYSDSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQDYGGNLFH YWGQGLVTVSS
3	DNA	GGATTCACCTTCAATAACTATGGC
4	PRT	GFTFNNG
5	DNA	ATATCATATGATGGAAGTAATGAA
6	PRT	ISYDGSNE
7	DNA	GCGAGAGATCAGGACTACGGTGGTAACCTCTTTCAT TAC
8	PRT	ARDQDYGGNLFHY
9	DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCGT CAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC ACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTT GCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT CCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT TAAA
10	PRT	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLT LQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTRLEIK
11	DNA	CAGAGCATTAGCAGCTAT
12	PRT	QSISSY
13	DNA	GCTGCATCC

[0420]

14	PRT	AAS
15	DNA	CAACAGAGTTACAGTACCCCTCCGATCACC
16	PRT	QQSYSTPPIT
17	DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTCAATAACTATGGCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATCATATGATGGAAGTAATGAATATT ATTCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTTCAAATG AACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTATATTA CTGTGCGAGAGATCAGGACTACGGTGGTAACCTCTT TCATTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACTGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAG CCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG AACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACAC CTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA TGCCCAACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCTTGGGGGGA CCATCAGTCTTCTGTTCCTTCCCCCAAAACCCAAGGAC ACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGT CCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC ACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACA GAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA
18	PRT	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFNNGMHW VRQAPGKGLEWVAISYDGSNEYYSDSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQDYGGNLFH YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS

[0421]

		SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK*
19	DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCGT CAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTT ACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTT GCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT CCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT TAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAG CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAG CACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAC ACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTAG
20	PRT	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTRLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
21	DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTCAGTACCTATGGCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATCATATGATGGAAGTAATGACTACT ATTTAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAACCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTA CTGTGCGAAAGATCAGGGCTACGGTGGTAACCTCTT TGCCTCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTC CTCA
22	PRT	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHW VRQAPGKGLEWVAIISYDGSNDYYLDSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNNLRAEDTAVYYCAKDQGYGGNLFA SWGQGLTVTVSS
23	DNA	GGATTCACCTTCAGTACCTATGGC
24	PRT	GFTFSTYG
25	DNA	ATATCATATGATGGAAGTAATGAC
26	PRT	ISYDGSND
27	DNA	GCGAAAGATCAGGGCTACGGTGGTAACCTCTTTGCC TCC

[0422]

28	PRT	AKDQGYGGNLFAS
29	DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTCAGTACCTATGGCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATCATATGATGGAAGTAATGACTACT ATTTAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAACTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTA CTGTGCGAAAGATCAGGGCTACGGTGGTAACCTCTT TGCCTCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAG CCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG AACCAGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACAC CTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA TGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCTTGGGGGGA CCATCAGTCTTCTGTTCACCCCAAAACCCAAGGAC ACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGT CCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCAG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACA GAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA
30	PRT	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHW VRQAPGKGLEWVAIISYDGSNDYYLDSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNNLRAEDTAVYYCAKDQGYGGNLFAS SWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVQLHWDWLNQKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF

[0423]

		LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK*
31	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT AAAGCCGGGGGGGTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACTTTTCAGTAACGCCTGGATGAGCTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TTGGCCGTATTAAAAGCAAACTGATAGTGGGACA ACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGATTCAC CATCTCAAGAGATGATTCAAAAAACACGCTGTATCT GCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCG TGTATTACTGTACCACAGTGGATAACGATTTTTGGA GTGGTTATTATAACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGG GAACCCTGGTCACTGTCTCCTCA
32	PRT	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSW VRQAPGKGLEWVGRIKSKTDSGTTDYAAPVKGRFTIS RDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTVDNDFWSGY YNWFDPWGQGLVTVSS
33	DNA	GGATTCACCTTTCAGTAACGCCTGG
34	PRT	GFTFSNAW
35	DNA	ATTAAAAGCAAACTGATAGTGGGACAACA
36	PRT	IKSKTDSGTT
37	DNA	ACCACAGTGGATAACGATTTTTGGAGTGGTTATTAT AACTGGTTCGACCCC
38	PRT	TTVDNDFWSGYYNWFDP
39	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT AAAGCCGGGGGGGTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACTTTTCAGTAACGCCTGGATGAGCTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TTGGCCGTATTAAAAGCAAACTGATAGTGGGACA ACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGATTCAC CATCTCAAGAGATGATTCAAAAAACACGCTGTATCT GCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCG TGTATTACTGTACCACAGTGGATAACGATTTTTGGA GTGGTTATTATAACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGG GAACCCTGGTCACTGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGG GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGA GCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG TGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACAC CTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT GGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAG TCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCTGCCAGCA CCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTC CCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACG TGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGT

[0424]

		GGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCT GAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAA CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTA CCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG GGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGC AGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGG GAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGTC TCTGGGTAAATGA
40	PRT	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSW VRQAPGKGLEWVGRIKSKTDSGTTDYAAPVKGRFTIS RDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTVDNDFWSGY YNWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK*
41	DNA	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT TAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGAATTTCTGTGCAGC CTCTGGATTATTTTTGTTGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGTATAGGCTA TGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGA GTGGTCTGAGACCTGAGGACACGGCCTTGTATTATT GTGTAAAAAGTGGGTTCTATTACGTTAGGTCTTACT TTGACAACCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCT CCTCA
42	PRT	EVQLVESGGGLVKPGGSLRISCAASGFIFVDYAMHWV RQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSVKGRFTISRDN AKKSLYLQMSGRLRPEDTALYYCVKSGFYVRSYFDN WGQGLTVTVSS
43	DNA	GGATTATTTTTGTTGATTATGCC
44	PRT	GFIFVDYA
45	DNA	ATTAGTTGGAATAGTGGTAGTATA
46	PRT	ISWNSGSI
47	DNA	GTAAAAAGTGGGTTCTATTACGTTAGGTCTTACTTT GACAAC
48	PRT	VKSGFYVRSYFDN
49	DNA	GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCC GTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGG

[0425]

		TCTAGTCAGAGCCTCTTGGATAGTGATGATGGAAAC ACCTATTTGGACTGGTACCTGCGGAAGCCAGGGCA GTCTCCACAACCTCCTGATCTATACGCTTTCCTATCG GGCCTCTGGAGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTG GGTCAGGCACTGATTTTCACTGAAAATCAGTAGG GTGGAGGCTGACGATGTTGGAGTTTATTACTGCATG CAACGTATAGAGTTTCCGCTCACTTTCGGCGGAGGG ACCAAGGTGGAGATCAAA
50	PRT	DIVMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYL DWYLRKPGQSPQLLIYTLASYRASGVDPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEADDVGVVYYCMQRIEFPLTFGGGKVEIK
51	DNA	CAGAGCCTCTTGGATAGTGATGATGGAAACACCTAT
52	PRT	QSLLDSDDGNTY
53	DNA	ACGCTTTC
54	PRT	TLS
55	DNA	ATGCAACGTATAGAGTTTCCGCTCACT
56	PRT	MQRIEFPLT
57	DNA	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT TAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGAATTCCTGTGCAGC CTCTGGATTTATTTTGTGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGTATAGGCTA TGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGA GTGGTCTGAGACCTGAGGACACGGCCTTGTATTATT GTGTAAAAAGTGGGTCTATTACGTTAGGTCTTACT TTGACAACCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCT CCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCC TGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACA GCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACA GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACA CCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCC ATGCCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCTTGGGGGG ACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAGAAACCAAGGA CACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGG TCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCAG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC

[0426]

		ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACA GAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA
58	PRT	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRISCAASGFIFVDYAMHWV RQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSVKGRFTISRDN AKKSLYLQMSGLRPEDTALYYCVKSGFYVRSYFDN WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS LGK*
59	DNA	GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCC GTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGG TCTAGTCAGAGCCTCTTGGATAGTGATGATGAAAC ACCTATTTGGACTGGTACCTGCGGAAGCCAGGGCA GTCTCCACAACCTCTGATCTATACGCTTTCCTATCG GGCCTCTGGAGTCCCAGACAGGTTTCACTGGCAGTG GGTCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGTAGG GTGGAGGCTGACGATGTTGGAGTTTATTACTGCATG CAACGTATAGAGTTTCCGCTCACTTTCGGCGGAGGG ACCAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACC ATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGA AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAG GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAG CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAA GAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
60	PRT	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYL DWYLRKPGQSPQLLIYTLNYSYRASGVDPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEADDVGVYYCMQRIEFPLTFGGGKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLTLKA DYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC*
61	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCTGTATAGC TTCTGGATTCAACTTTGGTGATTATGGTATGAGCTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TAGGTTTCATTAGAAGCAAAGCTTATGGTGGGACA ACAGAATACGCCGCGTCTGTGAAAGGCAGATTCAC CATCTCAAGAGATGATTCCAAAAGCATCGCCTATCT

[0427]

		GCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACGCAGCCA TGTATTACTGTTCTAGAGATTATTACGATATTTTGAC TGGTTATTATGGCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCT GGTCACCGTCTCCTCA
62	PRT	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCIASGFNFGDYGMSWV RQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISR DDSKSIAYLQMNSLKTEDAAMYYCSRDIYDILTGY GDYWGQGLTVTVSS
63	DNA	GGATTCAACTTTGGTGATTATGGT
64	PRT	GFNFGDYG
65	DNA	ATTAGAAGCAAAGCTTATGGTGGGACAACA
66	PRT	IRSKAYGGT
67	DNA	TCTAGAGATTATTACGATATTTTGACTGGTTATTAT GGCGACTAC
68	PRT	SRDIYDILTGYGDY
69	DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTATCAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTCCCAT CAAGGTTCAAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTC ACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTT GCAACTTATTACTGCCAACAATATAATAGTTATTCT CGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAA A
70	PRT	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYQASSLESQVPSRFSQSGSGTEFTLTISL QPEDFATYYCQQYNYSRTFGQGTKVEIK
71	DNA	CAGAGTATTAGTAGCTGG
72	PRT	QSISSW
73	DNA	CAGGCGTCT
74	PRT	QAS
75	DNA	CAACAATATAATAGTTATTCTCGGACG
76	PRT	QQYNYSRT
77	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCTGTATAGC TTCTGGATTCAACTTTGGTGATTATGGTATGAGCTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TAGGTTTCATTAGAAGCAAAGCTTATGGTGGGACA ACAGAATACGCCGCGTCTGTGAAAGGCAGATTCAC CATCTCAAGAGATGATTCCAAAAGCATCGCCTATCT GCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACGCAGCCA TGTATTACTGTTCTAGAGATTATTACGATATTTTGAC TGGTTATTATGGCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCT GGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATC GGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTC CGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCG

[0428]

		GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC GAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAA TATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAG TTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCA AAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA AGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGG CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCC TCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCA AAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTG CCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAG CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGT CTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA CCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGG TAAATGA
78	PRT	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCIASGFNFGDYGMSWV RQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISR DDSKSIAYLQMNSLKTEDAAMYCSRDIYDILTGYY GDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSLGK*
79	DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTATCAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTCCCAT CAAGGTTCAAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTC ACTCTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTT GCAACTTATTACTGCCAACAATATAATAGTTATTCT CGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAA ACGAACGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTC TGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGA GGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCC

[0429]

		AATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAC CCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACA AAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTG AGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTAG
80	PRT	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYQASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL QPEDFATYYCQQYNSYSRTFGQGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
81	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT AAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGAGTCTCCTGTGCAG CCTCTGGAGTCACTTTCAGTAACGTCTGGATGAGTT GGGTCCGCCAGGTTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGG GTTGGCCGTATTAAGCAAACTGATGGTGGGAC AACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGATTTA CCATCTCAAAAGATGATTCAAAAAATACGTTGTTCC TGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAAGACACAGCC GTGTATTACTGTACCACAGAGACCGGCGATTTTTGG AGTGGTTATTATCCTCGCTTCCAGCACTGGGGCCAG GGCACCTGGTCACCGTCTCCTCA
82	PRT	EVQLVESGGGLVKPGGSLRVSCAASGVTFSSNVWMSW VRQVPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTIS KDDSKNTLFLQMNSLKTEDTAVYYCTTETGDFWSGY YPRFQHWGQGLTVVSS
83	DNA	GGAGTCACTTTCAGTAACGTCTGG
84	PRT	GVTFSSNVW
85	DNA	ATTAAAGCAAACTGATGGTGGGACAACA
86	PRT	IKSKTDGGTT
87	DNA	ACCACAGAGACCGGCGATTTTTGGAGTGGTTATTAT CCTCGCTTCCAGCAC
88	PRT	TTETGDFWSGYYPHFQ
89	DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCAAGTCAGTATATTAGCACCTATTTAAATTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAGCCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCAT CAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTT ACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTT GCATCTTACTCCTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
90	PRT	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISTYLNWYQQ KPGKAPSLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISL LQPEDFASYSCQQSYSTPPYTFGQGKLEIK
91	DNA	CAGTATATTAGCACCTAT
92	PRT	QYISTY

[0430]

93	DNA	CAACAGAGTTACAGTACCCCTCCGTACACT
94	PRT	QQSYSTPPYT
95	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT AAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGAGTCTCCTGTGCAG CCTCTGGAGTCACTTTCAGTAACGTCTGGATGAGTT GGGTCCGCCAGGTTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGG GTTGGCCGTATTAAGCAAACTGATGGTGGGAC AACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGATTTA CCATCTCAAAAGATGATTCAAAAAATACGTTGTTCC TGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAAGACACAGCC GTGTATTACTGTACCACAGAGACCGGCGATTTTGG AGTGGTTATTATCCTCGCTTCCAGCACTGGGGCCAG GGCACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGG AGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA CCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACT CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCT TGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGA GTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGC ACCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTT CCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC GTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGC TGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTA CACCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGA ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCC CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAG CAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGG GGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGT CTCTGGGTAAATGA
96	PRT	EVQLVESGGGLVKPGGSLRVSCAASGVTFSNVWMSW VRQVPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTIS KDDSKNTLFLQMNSLKTEDTAVYYCTTETGDFWSGY YPRFQHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN

[0431]

		KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK*
97	DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCAAGTCAGTATATTAGCACCTATTTAAATTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAGCCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCAT CAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTT ACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTT GCATCTTACTCCTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAG CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAG CACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAC ACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTAG
98	PRT	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISTYLNWYQQ KPGKAPSLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTSS LQPEDFASYSCQQSYSTPPYTFGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
99	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTAGTAGCTATGCCATGACCTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCAGCTATTAGTGGTAGTGATACTAGCACATACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTTTCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTA CTGTGCGAAACATCAAGATTACGATTTTTCCTACTA CTACTCCGCTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCA CGGTCACCGTCTCCTCA
100	PRT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMTWV RQAPGKGLEWVSAISGSDTSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCAKHQDYDFSYYYS MDVWGQGTTVTVSS
101	DNA	GGATTCACCTTTAGTAGCTATGCC
102	PRT	GFTFSSYA
103	DNA	ATTAGTGGTAGTGATACTAGCACA
104	PRT	ISGSDTST
105	DNA	GCGAAACATCAAGATTACGATTTTTCCTACTACTAC TCCGCTATGGACGTC

106	PRT	AKHQDYDFSYYYSAMDV
107	DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCATCATCACTTGTTCGG GCGAGTCAGGATTTCAACAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAACTCCTGAT CTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC AAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC CTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CGACTTACTATTGTCAGCAGACTGACAGTTTCCCAT TCACTTTTGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
108	PRT	DIQMTQSPSSLSASVGDRIITCRASQDFNSWLAWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQTDSFPFTFGPGTKVDIK
109	DNA	CAGGATTTCAACAGCTGG
110	PRT	QDFNSW
111	DNA	CAGCAGACTGACAGTTTCCCATTCCT
112	PRT	QQTDSFPFT
113	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTAGTAGCTATGCCATGACCTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCAGCTATTAGTGGTAGTGATACTAGCACATACT ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTTTCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTA CTGTGCGAAACATCAAGATTACGATTTTTCCTACTA CTACTCCGCTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCA CGGTACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCT CCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAAC TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC GAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAA TATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCAGCACCTGAG TTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCA AAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA AGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCTCACCGTCTGCAACAGGACTGGCTGAACGG CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCC TCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCA AAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAG CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC

[0432]

[0433]

		CGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGT CTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA CCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGG TAAATGA
114	PRT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMTWV RQAPGKGLEWVSAISGSDTSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCAKHQDYDFSYYSA MDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK*
115	DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCATCATCACTTGTCCG GCGAGTCAGGATTTC AACAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAACTCCTGAT CTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC AAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA CTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CGACTTACTATTGTCAGCAGACTGACAGTTTCCCAT TCACTTTTGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGC CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTG TTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGG CCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA TCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGA CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC TGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAA GTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG TTAG
116	PRT	DIQMTQSPSSLSASVGRVIITCRASQDFNSWLAWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQTDSFPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
117	PRT	GYKAEVMVSQVYSGSLRVLNRHFSQDLTRRESSAFRS ETAKAQKMLKELITSTRLGTYYNSSSVYSFGEGPLTCF FWFILQIPEHRLMLSPVVQALLVEELLSTVNSSAAV PYRAEYEVDPGLVILEASVKDIAALNSTLGCYRYSY VGQGQVLRLLKGPDLHLASSCLWHLQGPKDLMLKRLRLE WTLAECRDLRLAMYDVAGPLEKRLITSVYGCSRQEPV

[0434]

		VEVLASGAIMAVVWKKGLHSYYDPFVLSVQPVVFQA CEVNLTLDNRDLSQGVLPSTPYFPSYSPQTHCSWHLT VPSLDYGLALWFDAYALRRQKYDLPCTQGQWTIQNR RLCGLRILQPYAERIPVVATAGITINFTSQISLTGPGVR VHYGLYNQSDPCPGEFLCSVNGLCVPACDGVKDCPN GLDERNCVCRATFQCKEDSTCISLPKVCDDGQPDCLNG SDEEQCQEGVPCGTFTFQCEDRSCVKKPNPQCDGRPD CRDGSDEEHCDCLQGPSSRIVGGAVSSEGEWPWQAS LQVRGRHICGGALIADRWWITAACHCFQEDSMASSTVL WTVFLGKVVWQNSRWPGEVSFKVSRLLLHPYHEEDSH DYDVALLQLDHPVVRSAAVRPVCLPARSHFFEPGLHC WITGWGALREGGPISNALQKVDVQLIPQDLCSEVYRY QVTPRMLCAGYRKGGKDACQGDAGGPLVCKALSGR WFLAGLVSWGLGCGRPNYFGVYTRITGVISWIQQVVT EQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
118	PRT	KAEVTVSQVYSGSLRVLNRHFSQDLGRRESIAFRSESA KAQKMLQELVASTRLGTYYNSSSVYSFGEGPLTCFFW FILDIPEYQRLTSPVRELLVDELLSNSSTLASYSKTE YEVDPEGLVILEASVNDIVVLNSTLGCYRYSYVNPQG VLPLKGPDQQTTSCLWHLQGPEDLMIKVRLEWTRVD CRDRVAMYDAAGPLEKRLITSVYGCSRQEPVMEVLA SGSVMAVVWKKGMHSYYDPFLLSVKSVAFQDCQVN LTLEGRDQTQGLRTPYPSYSPSTHCSWHLTVPSLD YGLALWFDAYALRRQKYNRLCTQGQWMIQNRRLCG FRTLQPYAERIPMVASDGVNTINFTSQISLTGPGVQVYY SLYNQSDPCPGEFLCSVNGLCVPACDGIKDCPNGLDE RNCVCRAMFQCCQEDSTCISLPRVCDRQPDCLNGSDEE QCQEGVPCGTFTFQCEDRSCVKKPNPECDGQSDCRDG SDEQHCDCLQGLSSRIVGGTVSSEGEWPWQASLQIR GRHICGGALIADRWWITAACHCFQEDSMASPKLWTVFL GKMRQNSRWPGEVSFKVSRLFLHPYHEEDSHDYDVA LLQLDHPVVYSATVRPVCLPARSHFFEPGQHCWITGW GAQREGGPVSNTLQKVDVQLVPQDLCSEAYRYQVSP RMLCAGYRKGGKDACQGDAGGPLVCREPSGRWFLA GLVSWGLGCGRPNFFGVYTRVTRVINWIQQVLTEQKL ISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
119	PRT	GYKAEVTVSQVYSGSLRVLNRHFSQDLTRRESSAFRS ETAKAQKMLKELIASTRLGTYYNSSSVYSFGEGPLTCF FWFILQIPEHRRLMLSPEVVQALLVEELLSTVNSSAAV PYRAEYEVDPEGLVILEASVKDIAALNSTLGCYRYSY VGQGQVRLKGPDLHLASSCLWHLQGPEDLMKLRLE WTLAECRDLAMYDVAGPLEKRLITSVYGCSRQEPV VEVLASGAIMAVVWKKGLHSYYDPFMLSQSVVFQA CEVNLTLDRLDSQGVLPSTPYFPSYSPRTHCSWHLT VPSLDYGLALWFDAYALRRQKYDLPCTQGQWTIQNR RLCGLRILQPYAERIPVVATAGITINFTSQISLTGPGVR VHYGLYNQSDPCPGEFLCSVNGLCVPACDGVKDCPN GLDERNCVCRATFQCCQEDSTCISLLKVCDDGQPDCLNG SDEERCQEGVPCGTFTFQCEDQSCVKKPNPQCDGRPD CRDGSDEQHCDCLQGPSSRIVGGAVSSEGEWPWQA

[0435]

		SLQVRGRHICGGALIADRWVITAAHCFQEDSMASPAL WTVFLGKVVQNSRWPGEVSFKVSRLLLHPYHEEDSH DYDVALLQLDHPVVRSAAVRPVCLPARSHFFEPGLHC WITGWGALREGGPTSNALQKVDVQLIPQDLCSEAYR YQVTPRMLCAGYRKGGKDACQGDAGGPLVCKALSG RWFLAGLVSWGLGCGRPNYFGVYTRITGVIGWIQQV VTEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
120	PRT	SHFFEPGLHCW
121	PRT	LVSWGLGCGRPNYFGVYTRITGVISW
122	PRT	LITSTRLGT
123	PRT	GEWPWQASL
124	PRT	STVLWTVFLGKVVQNSRWPGEVSFK
125	PRT	ITGWGALREGGPISNALQKVD
126	PRT	MLLLFHSKRMPVAEAPQVAGGQGDGGDGEEAEPEG MFKACEDSKRKARGYLRLVPLFVLLALLVLASAGVLL WYFLGYKAEVMVSQVYSGSLRVLNRHFSQDLTRRES SAFRSETAKAQKMLKELITSTRLGTYNSSSVYSFGEG PLTCFFWFILQIPEHRRLMLSPEVVQALLVEELLSTVNS SAAVPYRAEYEVDP EGLVILEASVKDIAALNSTLGCY RYSYVGQGGVLRRLKGPDLASSCLWHLQGPDKLMLK LRLEWTLAECRDLAMYDVAGPLEKRLITSVYGCSRQ EPVVEVLASGAIMAVVWKKGLHSYYDPFVLSVQPVV FQACEVNLTLDNRDLSQGVLPSTPYFPSYSPQTHCSW HLTVPSLDYGLALWFDAYALRRQKYDLPCTQGQWTI QNRRLCGLRILQPYAERIPVVATAGITINFTSQISLTGP GVRVHYGLYNQSDPCPGEFLCSVNGLCVPACDGVKD CPNGLDERNCVCRATFQCKEDSTCISLPKVCDDGQPD LNGSDEEQCQEGVPCGTFTFQCEDRSCVKKPNPQCDG RPDCRDGSDEEHCDGLQGPSSRIVGGAVSSEGEWPP QASLQVRGRHICGGALIADRWVITAAHCFQEDSMAS VLWTVFLGKVVQNSRWPGEVSFKVSRLLLHPYHEED SHDYDVALLQLDHPVVRSAAVRPVCLPARSHFFEPGL HCWITGWGALREGGPISNALQKVDVQLIPQDLCSEVY RYQVTPRMLCAGYRKGGKDACQGDSSGGLVCKALS GRWFLAGLVSWGLGCGRPNYFGVYTRITGVISWIQQV VT
127	DNA	CTTGAGCCAGACCCAGTCCAGCTCTGGTGCCCTGCCC TCTGGTGCGAGCTGACCTGAGATGCACTTCCCTCCT CTGTGAGCTGTCTCGGCACCCACTTGCACTCACTGC CGCCTGATGTTGTTACTCTTCCACTCCAAAAGGATG CCCGTGGCCGAGGCCCCCAGGTGGCTGGCGGGCA GGGGGACGGAGGTGATGGCGAGGAAGCGGAGCCG GAGGGGATGTTCAAGGCCTGTGAGGACTCCAAGAG AAAAGCCCGGGGCTACCTCCGCCTGGTGCCCCTGTT TGTGCTGCTGGCCCTGCTCGTGCTGGCTTCGGCGGG GGTGCTACTCTGGTATTCCTAGGGTACAAGGCGGA GGTGATGGTCAGCCAGGTGTACTCAGGCAGTCTGC GTGTACTCAATCGCCACTTCTCCCAGGATCTTACCC GCCGGGAATCTAGTGCCTTCCGCAGTGAAACCGCC AAAGCCCAGAAGATGCTCAAGGAGCTCATCACCAG

[0436]

CACCCGCCTGGGAACTTACTACAACTCCAGCTCCGT
 CTATTCCTTTGGGGAGGGACCCCTCACCTGCTTCTT
 CTGGTTCATTCTCCAAATCCCCGAGCACCGCCGGCT
 GATGCTGAGCCCCGAGGTGGTGCAGGCACTGCTGG
 TGGAGGAGCTGCTGTCCACAGTCAACAGCTCGGCT
 GCCGTCCCCTACAGGGCCGAGTACGAAGTGGACCC
 CGAGGGCCTAGTGATCCTGGAAGCCAGTGTGAAAG
 ACATAGCTGCATTGAATTCCACGCTGGGTGTGTTACC
 GCTACAGCTACGTGGGCCAGGGCCAGGTCCTCCGG
 CTGAAGGGGCCTGACCACCTGGCCTCCAGCTGCCTG
 TGGCACCTGCAGGGCCCCAAGGACCTCATGCTCAA
 ACTCCGGCTGGAGTGGACGCTGGCAGAGTGCCGGG
 ACCGACTGGCCATGTATGACGTGGCCGGGCCCTG
 GAGAAGAGGCTCATCACCTCGGTGTACGGCTGCAG
 CCGCCAGGAGCCCGTGGTGGAGGTTCTGGCGTCGG
 GGGCCATCATGGCGGTCTGTCTGGAAGAAGGGCCTG
 CACAGCTACTACGACCCCTTCGTGCTCTCCGTGCAG
 CCGGTGGTCTTCCAGGCCTGTGAAGTGAACCTGACG
 CTGGACAACAGGCTCGACTCCCAGGGCGTCTCTCAG
 CACCCCGTACTTCCCCAGCTACTACTCGCCCCAAAC
 CCACTGCTCCTGGCACCTCACGGTGCCCTCTCTGGA
 CTACGGCTTGGCCCTCTGGTTTGATGCCTATGCACT
 GAGGAGGCAGAAGTATGATTTGCCGTGCACCCAGG
 GCCAGTGGACGATCCAGA
 ACAGGAGGCTGTGTGGCTTGCGCATCCTGCAGCCCT
 ACGCCGAGAGGATCCCCGTGGTGGCCACGGCCGGG
 ATCACCATCAACTTCACCTCCAGATCTCCCTCACC
 GGGCCCGGTGTGCGGGTGCACTATGGCTTGTAACAAC
 CAGTCGGACCCCTGCCCTGGAGAGTTCTCTGTCT
 GTGAATGGACTCTGTGTCCCTGCCTGTGATGGGGTC
 AAGGACTGCCCCAACGGCCTGGATGAGAGAACTG
 CGTTTGCAGAGCCACATTCCAGTGCAAAGAGGACA
 GCACATGCATCTCACTGCCCAAGGTCTGTGATGGGC
 AGCCTGATTGTCTCAACGGCAGCGACGAAGAGCAG
 TGCCAGGAAGGGGTGCCATGTGGGACATTACCTTC
 CAGTGTGAGGACCGGAGCTGCGTGAAGAAGCCCAA
 CCCGCAGTGTGATGGGCGGCCCGACTGCAGGGACG
 GCTCGGATGAGGAGCACTGTGACTGTGGCCTCCAG
 GGCCCCCTCCAGCCGCATTGTTGGTGGAGCTGTGTCC
 TCCGAGGGTGAGTGGCCATGGCAGGCCAGCCTCCA
 GGTTTCGGGGTCGACACATCTGTGGGGGGGCCCTCAT
 CGCTGACCGCTGGGTGATAACAGCTGCCCACTGCTT
 CCAGGAGGACAGCATGGCCTCCACGGTGCTGTGGA
 CCGTGTTCCTGGGCAAGGTGTGGCAGAACTCGCGCT
 GGCCTGGAGAGGTGTCCTTCAAGGTGAGCCGCCTG
 CTCCTGCACCCGTACCACGAAGAGGACAGCCATGA
 CTACGACGTGGCGCTGCTGCAGCTCGACCACCCGGT
 GGTGCGCTCGGCCGCCGTGCGCCCCGTCTGCCTGCC
 CGCGCGCTCCCACTTCTTCGAGCCCGGCCTGCACTG
 CTGGATTACGGGCTGGGGCGCCTTGCGCGAGGGCG

[0437]

		GCCCCATCAGCAACGCTCTGCAGAAAGTGGATGTG CAGTTGATCCACAGGACCTGTGCAGCGAGGTCTAT CGCTACCAGGTGACGCCACGCATGCTGTGTGCCGGC TACCGCAAGGGCAAGAAGGATGCCTGTCAGGGTGA CTCAGGTGGTCCGCTGGTGTGCAAGGCACTCAGTGG CCGCTGGTTCCTGGCGGGGCTGGTCAGCTGGGGCCT GGGCTGTGGCCGGCCTAACTACTTCGGCGTCTACAC CCGCATCACAGGTGTGATCAGCTGGATCCAGCAAG TGGTGACCTGAGGAAGTGGCCCCCTGCAAAGCAGG GCCCACCTCCTGGACTCAGAGAGCCCAGGGCAACT GCCAAGCAGGGGGACAAGTATTCTGGCGGGGGGTG GGGGAGAGAGCAGGCCCTGTGGTGGCAGGAGGTGG CATCTTGTCTCGTCCCTGATGTCTGCTCCAGTGATG GCAGGAGGATGGAGAAGTGCCAGCAGCTGGGGGTC AAGACGTCCCCTGAGGACCCAGGCCACACCCAGC CCTTCTGCCTCCCAATTCTCTCTCCTCCGTCCTTTC CTCCACTGCTGCCTAATGCAAGGCAGTGGCTCAGCA GCAAGAATGCTG GTTCTACATCCCGAGGAGTGTCTGAGGTGCGCCCCA CTCTGTACAGAGGCTGTTTGGGCAGCCTTGCCTCCA GAGAGCAGATTCCAGCTTCGGAAGCCCCTGGTCTA ACTTGGGATCTGGGAATGGAAGGTGCTCCCATCGG AGGGGACCCTCAGAGCCCTGGAGACTGCCAGGTGG GCCTGCTGCCACTGTAAGCCAAAAGGTGGGGAAAGT CCTGACTCCAGGGTCCTTGCCCCACCCCTGCCTGCC ACCTGGGGCCCTCACAGCCCAGACCCTCACTGGGAG GTGAGCTCAGCTGCCCTTTGGAATAAAGCTGCCTGA TCCAAAAAAAAAAAAAAAAA
128	PRT	MPVAKAPQVAGGQGDGGDGEEAEPEGMFEACEDSK RKARGYLRLAPLWLTLVVLTSVGVLLWYFLGYKAEV TVSQVYSGSLRVLNRHFSQDLTRRESSAFRSETAKAQ KMLKELIASTRLGTYYNSSSVYSFGEGPLTCFFWFILQI PEHRLMLSPEVVQALLVEELLSTVNSSAAVPYRAEY EVDPEGLVILEASVKDIAALNSTLGCYRYSYVGQGV LRLKGPDLHLASSCLWHLQGPEDLMLKLRLEWTLAEC RDRLAMVDVAGPLEKRLITSVYGCSRQEPVVEVLASG AIMAVVWKKGLHSYYDPFMLSQSVVFQACEVNLTL DDRLLDSQGVLPSTPYFPSYSPRTHCSWHLTVPSLDYG LALWFDAYALRRQKYDLPCTQGQWTIQNRRLCGLRI LQPYAERIPVVATAGITINFTSQISLTGPGVRVHYGLYN QSDPCPGEFLCSVNGLCVPACDGVKDCPNGLDERNCV CRATFQCQEDSTCISLLKVCDGQPDCLNGSDEERCQE GVPCGTFTFQCEDQSCVKKPNPQCDGRPDGRDGSDEQ HCDGLQGPSSRIVGGAVSSEGEWPWQASLQVRGRHI CGGALIADRWVITAAHCFQEDSMASPALWTVFLGKV WQNSRWPGEVSFKVSRLLLHPYHEEDSHDYDVALLQ LDHPVVRSAAVRPVCLPARSHFFEPGLHCWITGWGAL REGGPTSNALQKVDVQLIPQDLCSEAYRYQVTPRMLC AGYRKGGKDACQGDSGGPLVCKALSGRWFLAGLVS WGLGCGRPNYFGVYTRITGVIGWVQQVVT

[0438]

129	DNA	CTCAGTCACAGTGCCGTCCTGGGCCCAGCAGGAGG AGCCCCATGGAGCCTGGGGCCACAGGCCACAGGGG ACAAGGGCCAGACACCCTGGCCATGGCTCTAGGCC ATTGATCCAGGCCGGGCTGGCACGGTGGGGGTAGG GAGGCCTTGGCCTGGACAAACAAAGGCTTCTGAGG CCTGCGTGCAGGCCCAGCACCTATCCGCCACTCCCA AAGGATGCCTGTGGCCAAGGCCCCCCAGGTGGCTG GTGGGCAGGGGGACGGAGGTGATGGCGAGGAAGC GGAGCCAGAGGGGATGTTTCGAGGCCTGTGAGGACT CCAAGAGAAAAGCCCCGGGGCTACCTCCGCCTGGCG CCCCTGTGGCTGACCCTGGTTGTGCTGACTTCAGTG GGGGTGCTACTCTGGTATTTTCCTAGGGTACAAGGCG GAGGTGACGGTCAGCCAGGTGTACTCAGGCAGCCT TCGCGTGCTCAATCGCCACTTCTCCCAGGATCTTAC CCGCCGGGAATCCAGTGCCTTCCGCAGTGAAACCG CCAAAGCCCAGAAGATGCTCAAGGAGCTCATCGCC AGCACCCGCCTGGGAACCTATTACAACCTCCAGCTCC GTCTATTCTTTGGGGAGGGACCGCTCACCTGCTTC TTCTGGTTCATTCTCCAAATCCCCGAGCACCGCCGG CTGATGCTGAGCCCCGAGGTGGTGCAGGCACTGCT GGTGGAGGAGCTGCTGTCCACAGTCAACAGCTCGG CGGCCGTCCCCTACAGGGCCGAGTACGAAGTGGAC CCCGAGGGCCTAGTGATCCTAGAAGCCAGTGTGAA AGACATAGCTGCACTGAATTCCACGCTGGGTTGTTA CCGCTACAGCTACGTGGGCCAGGGTCAGGTCCTCCG GCTGAAGGGACCCGACCACCTGGCCTCCAGCTGCCT GTGGCACCTGCAGGGCCCCGAAGACCTCATGCTGA AACTCCGGCTGGAGTGGACGCTGGCCGAGTGCCGG GACCGACTGGCCATGTATGACGTGGCTGGGCCCCCTG GAGAAGAGGCTCATCACCTCGGTGTATGGCTGCAG CCGCCAGGAGCCTGTGGTGGAAGTCCTGGCATCGG GGGCCATCATGGCGGTGGTCTGGAAGAAGGGCCTG CACAGCTACTACGACCCCTTTATGCTCTCCGTGCAG TCGGTGGTCTTCCAGGCCTGCGAGGTAAACCTGACG CTGGATGACAGGCTGGACTCCCAGGGCGTCCTCAG CACCCCGTACTTCCCCAGCTACTACTCGCCCCGAAC CCACTGCTCCTGGCACCTCACGGTGCCTTCTCTGGA CTACGGCTTGGCCCTCTGGTT TGACGCCTACGCACTGCGGAGGCAGAAAGTATGATT TGCCGTGCACCCAGGGCCAGTGGACGATCCAGAAC AGGAGGCTGTGTGGCCTGCGCATCCTGCAGCCTTAC GCTGAGAGGATCCCCGTGGTGGCCACGGCCGGCAT CACCATCAATTTACCTCCCAGATCTCCCTCACAGG GCCTGGTGTGCGGGTGCACCTATGGCTTGTACAACCA GTCGGACCCCTGCCCTGGAGAGTTCTCTGCTCTGT GAACGGACTCTGCGTCCCTGCCTGTGATGGGGTCAA GGACTGCCCCAACGGCCTGGATGAGAGAACTGCG TTTGCAGAGCCACATTCCAGTGCCAAGAGGACAGC ACGTGCATCTCACTGCTTAAGGTCTGTGACGGGCAG CCTGACTGTCTCAACGGCAGCGATGAAGAGCGGTG
-----	-----	---

[0439]

		CCAGGAAGGGGTGCCCTGCGGGACATTCACCTTCC AGTGTGAGGACCAGAGCTGCGTGAAGAAGCCCAAC CCACAGTGTGATGGGCGGCCGACTGCAGGGACGG CTCAGACGAGCAGCACTGTGACTGTGGCCTCCAGG GCCCCCTCCAGTCGCATTGTTGGTGGGGCCGTGTCCT CCGAGGGTGAGTGGCCATGGCAGGCCAGCCTCCAG GTTTCGGGGTCGACACATCTGTGGGGGCGCCCTCATC GCTGACCGCTGGGTGATAACAGCTGCCCATTGCTTC CAGGAGGACAGCATGGCCTCCCCGGCGCTGTGGAC GGTGTTCCTGGGCAAGGTGTGGCAGAACTCGCGCT GGCCTGGAGAGGTGTCCTTCAAGGTGAGCCGCCTA CTCCTGCATCCGTATCACGAAGAGGACAGCCACGA CTACGACGTGGCGCTGTTGCAGCTCGACCACCCGGT GGTGCCTCGGCCGCGCTGCGTCCAGTCTGCCTGCC CGCGCGCTCCCACTTCTTCGAACCCGGCCTGCACTG CTGGATCACTGGCTGGGGCGCCCTGCGCGAAGGCG GCCCCACCAGCAATGCTCTGCAGAAAGTGGACGTG CAGTTGATCCACAGGACCTGTGCAGCGAGGCCTAT CGCTACCAGGTGACGCCACGCATGCTGTGTGCCGGC TACCGCAAGGGCAAGAAGGATGCCTGCCAGGGTGA CTCGGGTGGTCCGCTGGTATGCAAGGCACTCAGTGG CCGCTGGTTCCTGGCAGGGCTGGTCAGCTGGGGCCT GGGCTGTGGCCGACCTAACTACTTCGGCGTCTACAC CCGCATCACAGGTGTGATCGGCTGGATCCAGCAAG TGGTGACCTGAGGAACTGCCCCCTGCAGAGCAGG TCCCACCTCTTGGACTCAGAGAGCCAGGGCAATTG CCAAGCAGGGGGACAAGTATTCTGGGGGGAGGGGG GCGCGAGCAGGCCCTGTGGTGGCAGGAGGTGGCAT CTTGTCTTGTCCCTGATGTCTGCTCCAGTGATGGCA GGAGGATGGAGGAGTGCCAGCAGCTGGGGGTCAAG ACGTCCCCTGGGGACCCAGGCCACACCCAGCCCTT CTGCCTCCCGATTCTCTCTCCTCCGTCCCCTTCCTCC ACTGCTGCCTATTGCAAGGAAGTGGCTCAGCAGCA AGAATGCTGGCTCTACGTCCCCAGGAGTGTCTGAGC TGTGCCCCGCTCTGTACAGAGGCTGCTTGGGCAGCC TTGCCTCTAGAGAGCAGATGCCAGCTTCGGAAGCCC CTGGTCTAACTTGGGATCTGGGAATGGAAGGTGCCC CCATAGGAGGGGACCCTCACAGCCCTGGGGACTGC CAGGTGGGCCGCTGCCACCGTAAGCCAAAAAAGG TGGGGAAGCCCTGACTCCAAGGTCCTTGCCCCACCC CTGCCTGCCACCTGGCCCCTCACAGCCCAGACCCTC ACCGGCAGGTGAGCTCAGCTGCCCTTTGGAATAAA GCTGCCTGATCCAA
130	PRT	MPRCFQLPCSTRMPTTEVPQAADGQGDAGDGEEAAE PEGKFKPPKNTKRKNRDYVRFTPLLLVLAALVSAGV MLWYFLGYKAEVTVSQVYSGSLRVLNRHFSQDLGRR ESIAFRSESAKAQKMLQELVASTRLGTYYNSSSVYSFG EGPLTCFFWFILDIPEYQRLTLSPEVVRELLVDELLSNS STLASYSKTEYEVDPEGLVILEASVNDIVVLNSTLGCYR YSYVNPQVLPLKGPDQQTTSCLWHLQGPEDLMIKV

[0440]

		RLEWTRVDCRDRVAMYDAAGPLEKRLITSVYGCSRQ EPVMEVLASGSVMVWKKGMHSYYDPFLLSVKSV AFQDCQVNLTLLEGRLDTQGFLRTPYYPSYYSPSTHCS WHLTVPSLDYGLALWFDAYALRRQKYNRLCTQGQW MIQNRRLCGFRTLQPYAERIPMVASDGVNTINFTSQISLT GPGVQVYYSLYNQSDPCPGEFLCSVNLGCVACDGIK DCPNGLDERNCVCRAMFQCQEDSTCISLPRVCDRQPD CLNGSDEEQCQEGVPCGTFTFQCEDRSCVKKNPECD GQSDCRDGSDEQHCDGLQGLSSRIVGGTVSSEGEWP WQASLQIRGRHICGGALIADRWVITAAHCFQEDSMAS PKLWTVFLGKMRQNSRWPGEVSFKVSRLFLHPYHEE DSHDYDVALLQLDHPVVYSATVRPVCLPARSHFFEPG QHCWITGWGAQREGGPVSNTLQKVDVQLVPQDLCSE AYRYQVSPRMLCAGYRKGKKDACQGDGGPLVCREP SGRWFLAGLVSWGLGCGRPNFFGVYTRVTRVINWIQ QVLT
131	DNA	AGTTTCATTGTGCGCCCTGGACCTGACAGGAGAGGCC CATGGAACCTTGGGGCCACAGGCCACAAGGGACAAG GGCCAGACACCCCAGCCATGGCTCCAGGCCATTGA TCCAACCTAAGCTGGCCAGTTGGGGGTGGAAAGAC CTTGGCCTGGATAAACAGAGGCCTCCAGGCCTGTGT GCAGGCCCGGCACCTACCTTCCACTCTTGAAGATGC CGAGATGTTTCCAGCTCCCCTGTTCTACCAGGATGC CCACCACCGAGGTCCCCCAAGCGGCTGATGGTCAG GGCGATGCGGGTGATGGAGAGGAAGCTGCTGAGCC AGAGGGGAAGTTCAAGCCCCCAAAAAACACCAAGA GAAAAAACCGGGACTACGTCCGCTTCACGCCACTG TTGCTGGTCTTGGCTGCGCTGGTCTCAGCAGGGGTC ATGCTTTGGTATTTCTAGGGTACAAAGCGGAAGTG ACCGTAAGCCAGGTGTACTCTGGCAGCCTCCGGGTG CTCAACCGTCATTTCTCCAGGACCTGGGCCGACGG GAGTCTATTGCTTTCCGCAGTGAATCTGCCAAAGCC CAGAAGATGCTCCAAGAACTGGTTGCCAGCACCCG CCTGGGTACTTACTACAACCTCTAGTTCTGTCTACTCC TTGGGGAGGGACCCCTCACCTGCTTCTTCTGGTTT ATCCTTGACATCCCTGAGTACCAGCGACTGACCCTG AGCCCTGAAGTAGTGCGCGAGCTCCTGGTGGATGA GCTACTGTCCAACAGCTCAACCCTGGCTTCCTATAA GACCGAATATGAGGTGGACCCGGAAGGCCTGGTGA TCCTGGAAGCCAGTGTGAACGACATAGTCGTA CTG AATTCCACGCTGGGCTGTTATCGCTACAGCTATGTG AACCAGGCCAGGTCCTCCCATTTGAAGGGGCCTGA CCAGCAGACCACAAGCTGCCTGTGGCATCTGCAAG GGCCCGAAGACCTCATGATCAAAGTGCGGCTGGAG TGGACCCGGGTCGATTGCAGAGACAGGGTGGCGAT GTACGACGCAGCTGGGCCCTGGAGAAGAGACTTA TCACCTCGGTCTATGGGTGCAGCCGCCAGGAACCTG TGATGGAGGTGCTGGCATCGGGCTCCGTCATGGCCG TGGTGTGGAAAAAGGGCATGCATAGCTACTATGAC CCTTTCCTGCTCTCAGTGAAGTCTGTGGCCTTCCAG

[0441]

GACTGCCAGGTGAACCTGACACTGGAGGGCCGGCT
 GGACACACAGGGCTTCCTCCGTACACCCTACTACCC
 CAGTTACTACTCTCCCAGTACCCACTGCTCCTGGCA
 TCTCACGGTACCCTCTCTGGACTACGGCTTGCGCT
 CTGGTTCGATGCCTACGCACTGAGGAGGCAGAAGT
 ACAACCGACTGTGTACTCAGGGCCAGTGGATGATC
 CAGAACAGGAGGCTGTGTGGCTTCCGTACCCTGCA
 GCCATATGCTGAGAGGATCCCCATGGTGGCCTCAG
 ATGGTGTACCATCAACTTCACCTCCCAGATCTCCC
 TCACAGGCCCCGGGTGTGCAAGTGTACTACAGCTTGT
 ACAACCAATCAGACCCCTGCCCTGGTGAGTTCCTCT
 GCTCTGTGAAT
 GGACTGTGTGTCCTGCGTGTGACGGGATCAAGGA
 CTGCCCCAATGGCCTGGATGAGAGAACTGTGTCTG
 CAGAGCCATGTTCCAGTGCCAAGAGGACAGCACGT
 GCATTTCACTGCCTAGAGTCTGTGACCGGCAGCCCG
 ACTGTCTCAATGGCAGTGACGAAGAACAGTGCCAA
 GAAGGAGTGCCCTGTGGGACATTCACTTTCCAGTGT
 GAGGACCGGAGCTGTGTGAAGAAGCCCAACCCAGA
 GTGTGACGGCCAGTCAGATTGCAGAGACGGCTCAG
 ATGAGCAACACTGTGACTGTGGCCTCCAGGGCCTCT
 CCAGCCGTATTGTGGGCGGGACCGTGTCTCCGAGG
 GTGAGTGGCCATGGCAGGCCAGCCTCCAGATTCCG
 GGTCGACACATCTGTGGGGGGGCTCTCATCGCTGAC
 CGCTGGGTCTATAACGGCCGCCACTGCTTCCAGGAG
 GACAGCATGGCCTCCCCGAAGCTGTGGACCGTGTTC
 CTGGGAAAGATGCGGCAGAACTCGCGCTGGCCAGG
 CGAGGTGTCCTTCAAGGTGAGCCGTCTGTTCTTGCA
 CCCGTACCACGAGGAGGACAGCCATGACTACGACG
 TGGCCCTGCTGCAGCTCGACCACCCCGTGGTGTACT
 CGGCCACTGTGCGCCCCGTCTGCCTGCCTGCCCGCT
 CCCACTTCTTTGAGCCAGGCCAGCACTGCTGGATCA
 CAGGCTGGGGAGCCCAGCGAGAGGGTGGTCCGGTG
 AGCAACACCCTGCAGAAGGTGGACGTACAGCTGGT
 CCCTCAGGACCTCTGCAGTGAGGCCTACCGCTACCA
 GGTGTCCCCACGCATGCTCTGTGCTGGCTACCGCAA
 GGGCAAGAAAGATGCCTGCCAGGGTGACTCTGGAG
 GCCCACTGGTTTGAGGGAGCCCAGTGGCCGCTGGT
 TCCTGGCAGGGTTGGTTAGCTGGGGCCTGGGCTGTG
 GCCGACCCAATTTCTTTGGCGTCTACACCCGTGTCA
 CACGTGTGATCAACTGGATCCAGCAGGTGCTGACCT
 GAGGGCTGTTCTACAGAGCTGGACCTGCCTCCAGGC
 CAAGTTCAGGGTGTCCACCCAGCCAGGACACAAGT
 ATTCTGGGGCAAGTGACCCTGCTAAGGCCTGTTTCC
 CTCAGGCCTACCCAGTGACAGTACAGAGAAGGAT
 GTCAGCTGGTGGTTAGGATGCCTCCTGAGGTCCAGG
 GGCCAGCCTCGGCTAGGTTTCACTTCTAACCCTTTC
 TTATTCTAGTCCTTTCCCCTCCCTGCTCCTACCACTG
 TTTTGGAGTGGGGTCTGGCGGCCATGACCTTGGCCT
 CCGGGTCTCTGTAGGAAAGAAAGAATCCTTCCCCTT

[0442]

		GCAAAAGCCTCTTGGGGGAACTGCACAGAGAAAGA AGGTGCCTCTATCAAGGCTCTATCAGAGCCCTTGAG TCTGCCAAGTGGGCTGTACTCTAAGCCAAATCACCG GGCAGCCTCAGCTGCAGATGCCTGCTGAAGCTCTGC CTGCTACAGGGGCCTCCCTGCCATTCACTGGAGGCC CACTGTCTGTTCTGGGAATAAAGCACTTGACCAAGC CCTGACACTGAAAAAAAAAAAAAAAAA
--	--	--

序列表

<110> 再生元制药公司(Regeneron Pharmaceuticals, Inc.)

<120> 抗TMPRSS6抗体及其用途

<130> 728825: RGN9-002PC

<150> 63/187,150

<151> 2011-05-11

<160> 131

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 1

```
cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcaat aactatggca tgcactgggt ccgccaggct      120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaagtaa tgaatattat      180
tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
cttcaaatac acagcctgag agctgaggac acggctgtat attactgtgc gagagatcag      300
gactacgggtg gtaacctctt tcattactgg ggccaggga ccttggtcac tgtctcctca      360
```

<210> 2

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 2

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Asp Tyr Gly Gly Asn Leu Phe His Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 3
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 3

ggattcacct tcaataacta tggc

24

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 4

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Gly
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 5

atatcatatg atggaagtaa tgaa

24

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 6

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Glu

1	5	
<210>	7	
<211>	39	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	7	
gcgagagatc aggactacgg tggtaacctc tttcattac		39
<210>	8	
<211>	13	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	8	
Ala Arg Asp Gln Asp Tyr Gly Gly Asn Leu Phe His Tyr		
1	5	10
<210>	9	
<211>	324	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	9	
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc		60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca		120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgta		180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tctgcaacct		240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc		300
caagggacac gactggagat taaa		324
<210>	10	
<211>	108	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	10	
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		

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

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 11

cagagcatta gcagctat

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 13

gctgcatcc

9

<210> 14

<211>	3	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	14	
Ala Ala Ser		
1		
<210>	15	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	15	
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc		30
<210>	16	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	16	
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr		
1	5	10
<210>	17	
<211>	1344	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	17	
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc		60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcaat aactatggca tgcactgggt ccgccaggct		120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaagtaa tgaatattat		180
tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat		240
cttcaaata ga acagcctgag agctgaggac acggctgtat attactgtgc gagagatcag		300
gactacgggtg gtaacctctt tcattactgg ggccaggga ccctggtcac tgtctcctca		360
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag		420

```

agcacagccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg      480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgctg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca      540
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc      600
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc      660
aaatatggtc ccccatgccc accctgcccga gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc      720
ttcctgttcc ccccaaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg      780
tgcgtgggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat      840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac      900
cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag      960
tgcaagggtc ccaacaaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1020
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag     1080
aaccagggtc gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag     1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc     1200
gacggctcct tcttctctca cagcaggtc accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg     1260
aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagtcc     1320
ctctccctgt ctctgggtaa atga                                             1344

```

<210> 18

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 18

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ser Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Asp Tyr Gly Gly Asn Leu Phe His Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala
130						135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155					160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
				165					170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
				180					185					190	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys
				195				200					205		
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro
				210				215					220		
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
225					230					235					240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
					245					250					255
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
				260					265					270	
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
				275					280					285	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
				290					295					300	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305					310					315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325					330					335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
				340					345					350	
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
				355					360					365	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
				370					375					380	
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385					390					395					400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
				405						410					415
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
				420					425					430	
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	

435	440	445	
<210> 19			
<211> 648			
<212> DNA			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列			
<400> 19			
gacatccaga tgacccagtc tccatectec ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc			60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca			120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca			180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tctgcaacct			240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc			300
caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttccc			360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc			420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc			480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg			540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag			600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag			648
<210> 20			
<211> 215			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列			
<400> 20			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1 5 10 15			
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr			
20 25 30			
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35 40 45			
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50 55 60			
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65 70 75 80			
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro			
85 90 95			
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala			

	100					105					110					
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	
	115					120					125					
Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	
	130					135					140					
Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	
145	150					155					160					
Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	
	165					170					175					
Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	
	180					185					190					
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	
	195					200					205					
Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
	210					215										
<210>	21															
<211>	360															
<212>	DNA															
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	人工序列															
<400>	21															
caggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	gtggtccagc	ctgggaggtc	cctgagactc										60	
tcctgtgcag	cctctggatt	caccttcagt	acctatggca	tgactgggt	ccgccaggct										120	
ccaggcaagg	ggctggagtg	ggtggcaatt	atatcatatg	atggaagtaa	tgactactat										180	
ttagactccg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat										240	
ctgcaaatga	acaacctgag	agctgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gaaagatcag										300	
ggctacggtg	gtaacctctt	tgctctctgg	ggccagggaa	ccctgggtcac	cgtctcctca										360	
<210>	22															
<211>	120															
<212>	PRT															
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	人工序列															
<400>	22															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	
1			5				10					15				
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	
	20					25					30					

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

<210> 23

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 23

ggattcacct tcagtaccta tggc

24

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 24

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly

1 5

<210> 25

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 25

atatcatatg atggaagtaa tgac

24

<210> 26

<211> 8

<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	26	
	Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asp	
1	5	
<210>	27	
<211>	39	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	27	
	gcgaaagatc agggctacgg tggtaacctc tttgcctcc	39
<210>	28	
<211>	13	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	28	
	Ala Lys Asp Gln Gly Tyr Gly Gly Asn Leu Phe Ala Ser	
1	5 10	
<210>	29	
<211>	1344	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	29	
	cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
	tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
	ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaagtaa tgactactat	180
	ttagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
	ctgcaaatga acaacctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagatcag	300
	ggctacgggtg gtaacctctt tgcctcctgg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca	360
	gcctccacca agggcccac ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag	420
	agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	480

```

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca    540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc    600
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc    660
aaatatggtc ccccatgccc accctgccc gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc    720
ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg    780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat    840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac    900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag    960
tgcaaggtct ccaacaaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa   1020
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag   1080
aaccagggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag   1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctccctg gctggactcc   1200
gacggctcct tcttctctta cagcaggtc accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg   1260
aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagtcc   1320
ctctccctgt ctctgggtaa atga                                           1344

```

<210> 30

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 30

```

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

```

130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro		
210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu		
260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
305	310	315
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile		
325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
340	345	350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
355	360	365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
405	410	415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
435	440	445

<210>	31	
<211>	378	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	31	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtaaagc cggggggggtc ccttagactc	60
	tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct	120
	ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatag tgggacaaca	180
	gactacgctg caccctgtaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg	240
	ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca	300
	gtggataacg atttttggag tggttattat aactggttcg acccctgggg ccagggaacc	360
	ctggtcactg tctcctca	378
<210>	32	
<211>	126	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	32	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala	
	20 25 30	
	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
	Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala	
	50 55 60	
	Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr	
	65 70 75 80	
	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr	
	85 90 95	
	Tyr Cys Thr Thr Val Asp Asn Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Asn Trp	
	100 105 110	
	Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
	115 120 125	
<210>	33	
<211>	24	

<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	33	
	ggattcactt tcagtaacgc ctgg	24
<210>	34	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	34	
	Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp	
1	5	
<210>	35	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	35	
	attaaaagca aaactgatag tgggacaaca	30
<210>	36	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	36	
	Ile Lys Ser Lys Thr Asp Ser Gly Thr Thr	
1	5 10	
<210>	37	
<211>	51	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	37	

accacagtgg ataacgattt ttggagtggg tattataact ggttcgaccc c	51
<210> 38	
<211> 17	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 38	
Thr Thr Val Asp Asn Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Asn Trp Phe Asp	
1 5 10 15	
Pro	
<210> 39	
<211> 1362	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 39	
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc cggggggggtc ccttagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct	120
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatag tgggacaaca	180
gactacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg	240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca	300
gtggataacg atttttggag tggttattat aactggttcg acccctgggg ccagggaacc	360
ctgggtcactg tctcctcagc ctccaccaag ggcccatcgg tcttccccct ggcgccctgc	420
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc	480
gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc	540
gctgtcctac agtcctcagg actctactcc ctacgcagcg tggtgaccgt gccctccagc	600
agcttgggca cgaagacctc cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg	660
gacaagagag ttgagtccaa atatggctcc ccatgcccac cctgcccagc acctgagttc	720
ctgggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca aggacactct catgatctcc	780
cggacccctg aggtcacgtg cgtgggtggg gacgtgagcc aggaagaccc cgaggtccag	840
ttcaactggg acgtggatgg cgtggaggtg cataatgcc aagacaaagcc gcgggaggag	900
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tcctgcacca ggactggctg	960
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtctc catcgagaaa	1020
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct gcccccatec	1080
caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctacccc	1140
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccagc	1200
cctcccgtgc tggactccga cggctcctt ttcctctaca gcaggctcac cgtggacaag	1260

```

agcagggtggc aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac      1320
cactacacac agaagtcctt ctccctgtct ctgggtaaata ga                          1362
<210> 40
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 40
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
          20          25          30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45
Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
          50          55          60
Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65          70          75          80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85          90          95
Tyr Cys Thr Thr Val Asp Asn Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Asn Trp
          100          105          110
Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
          115          120          125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
          130          135          140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145          150          155          160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
          165          170          175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
          180          185          190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
          195          200          205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
          210          215          220
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
225          230          235          240

```

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 260 265 270
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 275 280 285
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 290 295 300
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 305 310 315 320
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 325 330 335
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 355 360 365
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 370 375 380
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445

Leu Ser Leu Gly Lys
 450

<210> 41

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 41

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttaagc ctgggggggtc cctgagaatt	60
tcctgtgcag cctctggatt tatttttgtt gattatgcc a tgcactgggt ccggaagct	120
ccagggaagg gcctggagt ggtctcaggt attagttgga atagtggtat tataggctat	180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa gtccctgtat	240

ctgcaaatga gtggtctgag acctgaggac acggccttgt attattgtgt aaaaagtggg 300
 ttctattacg ttaggtctta ctttgacaac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 42

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 42

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Val Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Gly Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Lys Ser Gly Phe Tyr Tyr Val Arg Ser Tyr Phe Asp Asn Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 43

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 43

ggatttattt ttgttgatta tgcc

24

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223>	人工序列	
<400>	44	
Gly Phe Ile Phe Val Asp Tyr Ala		
1	5	
<210>	45	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	45	
attagttgga atagtggtag tata		24
<210>	46	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	46	
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile		
1	5	
<210>	47	
<211>	42	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	47	
gtaaaaagtg ggttctatta cgttaggtct tactttgaca ac		42
<210>	48	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	48	
Val Lys Ser Gly Phe Tyr Tyr Val Arg Ser Tyr Phe Asp Asn		
1	5	10
<210>	49	

<211>	339	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	49	
	gatattgtga tgacccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc	60
	atctcctgca ggtctagtca gaggctcttg gatagtgatg atggaaacac ctatttggac	120
	tggtacctgc ggaagccagg gcagtctcca caactcctga tctatacgct ttcctatcgg	180
	gcctctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcactgattt cacactgaaa	240
	atcagtaggg tggagctga cgatgttga gtttattact gcattgcaacg tatagagttt	300
	ccgctcactt tcggcggagg gaccaaggtg gagatcaaa	339
<210>	50	
<211>	113	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	50	
	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly	
	1 5 10 15	
	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser	
	20 25 30	
	Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Arg Lys Pro Gly Gln	
	35 40 45	
	Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val	
	50 55 60	
	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys	
	65 70 75 80	
	Ile Ser Arg Val Glu Ala Asp Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln	
	85 90 95	
	Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile	
	100 105 110	
	Lys	
<210>	51	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		

<223> 人工序列	
<400> 51	
cagagcctct tggatagtga tgatggaaac acctat	36
<210> 52	
<211> 12	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 52	
Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asn Thr Tyr	
1 5 10	
<210> 53	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 53	
acgctttcc	9
<210> 54	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 54	
Thr Leu Ser	
1	
<210> 55	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 55	
atgcaacgta tagagtttcc gtcact	27
<210> 56	
<211> 9	

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 56

Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr

1

5

<210> 57

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 57

gaagtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggttaagc	ctgggggggc	cctgagaatt	60
tcctgtgcag	cctctggatt	tatTTTTgtt	gattatgcc	tgcaactggg	ccggcaagct	120
ccagggaagg	gcctggagtg	ggtctcaggt	attagttgga	atagtggtag	tataggctat	180
gcggactctg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	acgccaagaa	gtccctgtat	240
ctgcaaatga	gtggtctgag	acctgaggac	acggccttgt	attattgtgt	aaaaagtggg	300
ttctattacg	ttaggtctta	ctttgacaac	tggggccagg	gaaccctggg	caccgtctcc	360
tcagcctcca	ccaagggccc	atcggtcttc	cccctggegc	cctgctccag	gagcacctcc	420
gagagcacag	ccgccctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgaacc	ggtgacgggtg	480
tcgtggaact	caggcgccct	gaccagcggc	gtgcacacct	tcccggctgt	cctacagtcc	540
tcaggactct	actccctcag	cagcgtgggtg	accgtgccct	ccagcagctt	gggcacgaag	600
acctacacct	gcaacgtaga	tcacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gagagttgag	660
tccaaatatg	gtcccccatg	cccaccctgc	ccagcacctg	agttcctggg	gggaccatca	720
gtcttcctgt	tcccccaaaa	acccaaggac	actctcatga	tctcccggac	ccctgaggtc	780
acgtgcgtgg	tggtggacgt	gagccaggaa	gaccccgagg	tccagttcaa	ctggtacgtg	840
gatggcgtgg	aggtgcataa	tgccaagaca	aagccgcggg	aggagcagtt	caacagcacg	900
taccgtgtgg	tcagcgtcct	caccgtcctg	caccaggact	ggctgaacgg	caaggagtac	960
aagtgcaagg	tctccaacaa	aggcctcccc	tcttccatcg	agaaaacat	ctccaaagcc	1020
aaagggcagc	cccagagagcc	acaggtgtac	acctgcccc	catcccagga	ggagatgacc	1080
aagaaccagg	tcagcctgac	ctgcctggtc	aaaggtttct	accccagcga	catcgccgtg	1140
gagtgggaga	gcaatgggca	gccggagaac	aactacaaga	ccacgcctcc	cgtgctggac	1200
tccgacggct	ccttcttcct	ctacagcagg	ctcaccgtgg	acaagagcag	gtggcaggag	1260
gggaatgtct	tctcatgctc	cgtgatgcat	gaggtctctg	acaaccacta	cacacagaag	1320
tccctctccc	tgtctctggg	taaatga				1347

<210> 58

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 58

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

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala	
275	280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val	
290	295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr	
305	310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr	
	325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu	
	340 345 350
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys	
	355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	
	370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp	
385	390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser	
	405 410 415
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala	
	420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys	
	435 440 445

<210> 59

<211> 663

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 59

gatattgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc	60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg gatagtgatg atggaaacac ctatttggac	120
tggtacctgc ggaagccagg gcagtctcca caactctga tctatacgct ttcctatcgg	180
gcctctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcactgattt cacactgaaa	240
atcagtaggg tggaggctga cgatgttga gtttattact gcattgcaacg tatagagttt	300
ccgctcactt tcggcggagg gaccaaggtg gagatcaaac gaactgtggc tgcaccatct	360
gttttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc	420
ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc	480
caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc	540
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc	600

gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt	660
tag	663
<210> 60	
<211> 220	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 60	
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly	
1 5 10 15	
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser	
20 25 30	
Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Arg Lys Pro Gly Gln	
35 40 45	
Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val	
50 55 60	
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys	
65 70 75 80	
Ile Ser Arg Val Glu Ala Asp Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln	
85 90 95	
Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile	
100 105 110	
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp	
115 120 125	
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn	
130 135 140	
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu	
145 150 155 160	
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp	
165 170 175	
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr	
180 185 190	
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser	
195 200 205	
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
210 215 220	
<210> 61	
<211> 372	

<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	61	
	gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc	60
	tcctgtatag cttctggatt caactttggt gattatggta tgagctgggt ccgccaggct	120
	ccaggggaagg ggctggagtg ggtaggtttc attagaagca aagcttatgg tgggacaaca	180
	gaatacgccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc caaaagcatc	240
	gcctatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacgcag ccatgtatta ctgttctaga	300
	gattattacg atattttgac tggttattat ggcgactact ggggccaggg aaccctggtc	360
	accgtctcct ca	372
<210>	62	
<211>	124	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	62	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Ser Gly Phe Asn Phe Gly Asp Tyr	
	20 25 30	
	Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
	Gly Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala	
	50 55 60	
	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ile	
	65 70 75 80	
	Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Ala Ala Met Tyr	
	85 90 95	
	Tyr Cys Ser Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Gly Asp	
	100 105 110	
	Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
<210>	63	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	

<220>		
<223>	人工序列	
<400>	63	
ggattcaact ttggtgatta tggt		24
<210>	64	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	64	
Gly Phe Asn Phe Gly Asp Tyr Gly		
1 5		
<210>	65	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	65	
attagaagca aagcttatgg tgggacaaca		30
<210>	66	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	66	
Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Thr		
1 5 10		
<210>	67	
<211>	45	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	67	
tctagagatt attacgatat tttgactggt tattatggcg actac		45
<210>	68	

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 68

Ser Arg Asp Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Gly Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 69

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 69

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatcag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tataatagtt attctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 70

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gln Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg

	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
	100	105	
<210>	71		
<211>	18		
<212>	DNA		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	人工序列		
<400>	71		
cagagtatta gtagctgg			18
<210>	72		
<211>	6		
<212>	PRT		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	人工序列		
<400>	72		
Gln Ser Ile Ser Ser Trp			
1	5		
<210>	73		
<211>	9		
<212>	DNA		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	人工序列		
<400>	73		
caggcgtct			9
<210>	74		
<211>	3		
<212>	PRT		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	人工序列		
<400>	74		
Gln Ala Ser			
1			
<210>	75		
<211>	27		

<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	75	
	caacaatata atagttattc tcggacg	27
<210>	76	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	76	
	Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg Thr	
	1 5	
<210>	77	
<211>	1356	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	77	
	gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc	60
	tcctgtatag cttctggatt caactttggg gattatggta tgagctgggt ccgccaggct	120
	ccagggaagg ggctggagtg ggtaggtttc attagaagca aagcttatgg tgggacaaca	180
	gaatacgccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc caaaagcatc	240
	gcctatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacgcag ccatgtatta ctgttctaga	300
	gattattacg atattttgac tggttattat ggcgactact ggggccaggg aaccctggtc	360
	accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg	420
	agcacctccg agagcacagc cgccctgggc tgccctggtea aggactactt cccgaaccg	480
	gtgacgggtg cgtggaactc aggcgccttg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc	540
	ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtag ccgtgccctc cagcagcttg	600
	ggcacgaaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag	660
	agagttgagt ccaaatatgg tcccccatgc ccacctgcc cagcacctga gttcctgggg	720
	ggaccatcag tcttcctgtt cccccaaaaa cccaaggaca ctctcatgat ctcccgacc	780
	cctgaggtca cgtgcgtggt ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac	840
	tggtacgtgg atggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagttc	900
	aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaacggc	960
	aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggcctcccg cctccatcga gaaaaccatc	1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagagcca caggtgtaca ccctgcccc atcccaggag 1080
 gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctgtgta aaggcttcta ccccagcgac 1140
 atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc 1200
 gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaggc tcaccgtgga caagagcagg 1260
 tggcaggagg ggaatgtctt ctcattgtcc gtgatcatg aggctctgca caaccactac 1320
 acacagaagt ccctctccct gtctctgggt aatga 1356

<210> 78

<211> 451

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 78

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

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser			
210	215	220	
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly			
225	230	235	240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			
	245	250	255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln			
	260	265	270
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
	275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr			
	290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
305	310	315	320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile			
	325	330	335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
	340	345	350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser			
	355	360	365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu			
	370	375	380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro			
385	390	395	400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val			
	405	410	415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
	420	425	430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
	435	440	445
Leu Gly Lys			
450			
<210>	79		
<211>	645		
<212>	DNA		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	人工序列		
<400>	79		

gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatcag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tataatagtt attctcggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 80

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 80

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

										165				170				175															
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr																		
										180				185				190															
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser																		
										195				200				205															
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys																												
										210																							
<210>										81																							
<211>										378																							
<212>										DNA																							
<213>										人工序列 (Artificial Sequence)																							
<220>																																	
<223>										人工序列																							
<400>										81																							
gaggtgcagc										tggtggagtc				tgggggaggc				ttggtaaagc				ctgggggggtc				cctgagagtc				60			
tcctgtgcag										cctctggagt				cactttcagt				aacgtctgga				tgagttgggt				ccgccaggtt				120			
ccagggaagg										ggctggaatg				ggttggccgt				attaaaagca				aaactgatgg				tgggacaaca				180			
gactacgctg										cacccgtgaa				aggcagattt				accatctcaa				aagatgattc				aaaaaatacg				240			
ttgttcctgc										aaatgaacag				cctgaaaacc				gaagacacag				ccgtgtatta				ctgtaccaca				300			
gagaccggcg										atttttggag				tggttattat				cctcgcttcc				agcactgggg				ccagggcacc				360			
ctggtcaccg										tctcctca																378							
<210>										82																							
<211>										126																							
<212>										PRT																							
<213>										人工序列 (Artificial Sequence)																							
<220>																																	
<223>										人工序列																							
<400>										82																							
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly																																	
1										5				10				15															
Ser Leu Arg Val Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Asn Val																																	
										20				25				30															
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val																																	
										35				40				45															
Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala																																	
										50				55				60															
Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asp Ser Lys Asn Thr																																	
65										70				75				80															
Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr																																	

				85					90					95				
Tyr	Cys	Thr	Thr	Glu	Thr	Gly	Asp	Phe	Trp	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Pro	Arg			
				100				105						110				
Phe	Gln	His	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser					
			115				120					125						

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 83

ggagtcactt tcagtaacgt ctgg

24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 84

Gly Val Thr Phe Ser Asn Val Trp

1 5

<210> 85

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 85

attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca

30

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 86

Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr

1 5 10

<210>	87	
<211>	51	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	87	
	accacagaga ccggcgattt ttggagtggg tattatcctc gcttccagca c	51
<210>	88	
<211>	17	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	88	
	Thr Thr Glu Thr Gly Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Pro Arg Phe Gln	
	1 5 10 15	
	His	
<210>	89	
<211>	324	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	89	
	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
	atcacttgcc gggcaagtca gtatattagc acctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
	gggaaagccc ctagcctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tctgcaacct	240
	gaagattttg catcttactc ctgtcaacag agttacagta cccctccgta cacttttggc	300
	caggggacca agctggagat caaa	324
<210>	90	
<211>	108	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	90	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	

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

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 91

cagtatatta gcacctat

18

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 92

Gln Tyr Ile Ser Thr Tyr

1 5

<210> 93

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 93

caacagagtt acagtacccc tccgtacact

30

<210> 94

<211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 94

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Tyr Thr

1 5 10

<210> 95
 <211> 1362
 <212> DNA
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 95

gaggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggtaaagc	ctggggggtc	cctgagagtc	60
tcctgtgcag	cctctggagt	cactttcagt	aacgtctgga	tgagttgggt	ccgccaggtt	120
ccagggaagg	ggctggaatg	ggttggccgt	attaaaagca	aaactgatgg	tgggacaaca	180
gactacgctg	cacccgtgaa	aggcagattt	accatctcaa	aagatgattc	aaaaaatacg	240
ttgttcctgc	aaatgaacag	cctgaaaacc	gaagacacag	ccgtgtatta	ctgtaccaca	300
gagaccggcg	atttttggag	tggttattat	cctcgttcc	agcactgggg	ccagggcacc	360
ctggtcaccg	tctcctcagc	ctccaccaag	ggcccatcgg	tcttccccct	ggcgccctgc	420
tccaggagca	cctccgagag	cacagccgcc	ctgggctgcc	tggtcaagga	ctacttcccc	480
gaaccgggtga	cgggtgtcgtg	gaactcaggc	gccctgacca	gcggcgtgca	caccttccccg	540
gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	ctcagcagcg	tggtgaccgt	gccctccagc	600
agcttgggca	cgaagaccta	cacctgcaac	gtagatcaca	agcccagcaa	caccaaggtg	660
gacaagagag	ttgagtccaa	atatggtccc	ccatgcccac	cctgcccagc	acctgagttc	720
ctgggggggac	catcagtctt	cctgttcccc	ccaaaaccca	aggacactct	catgatctcc	780
cggacccctg	aggtcacgtg	cgtggtggtg	gacgtgagcc	aggaagaccc	cgaggtccag	840
ttcaactgggt	acgtggatgg	cgtggagggtg	cataatgcc	agacaaagcc	gcgggaggag	900
cagttcaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	gtcctcaccg	tcctgcacca	ggactggctg	960
aacggcaagg	agtacaagtg	caaggtctcc	aacaaaggcc	tcccgctctc	catcgagaaa	1020
accatctcca	aagccaaaagg	gcagccccga	gagccacagg	tgtacaccct	gcccccatcc	1080
caggaggaga	tgaccaagaa	ccaggtcagc	ctgacctgcc	tggtcaaagg	cttctacccc	1140
agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	1200
cctcccggtgc	tggactccga	cggtctcttc	ttcctctaca	gcaggctcac	cgtggacaag	1260
agcaggtggc	aggaggggaa	tgtctttctca	tgctccgtga	tgcatgaggc	tctgcacaac	1320
cactacacac	agaagtcctt	ctccctgtct	ctgggtaaat	ga		1362

<210> 96

<211> 453
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 96
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Val Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Asn Val
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr Glu Thr Gly Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Pro Arg
 100 105 110
 Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
 210 215 220
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 225 230 235 240
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 245 250 255
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

260	265	270
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser		
290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
305	310	315
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser		
325	330	335
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln		
355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
385	390	395
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu		
405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
435	440	445

Leu Ser Leu Gly Lys

450

<210> 97

<211> 648

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 97

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgcc gggcaagtca gtatattagc acctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctagcctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttg catcttactc ctgtcaacag agttacagta cccctccgta cacttttggc	300
caggggacca agctggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttccc	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600
 ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgtag 648

<210> 98

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 98

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Thr Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Ser Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Ser Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210>	99	
<211>	372	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	99	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc	60
	tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctatgcca tgacctgggt ccgccaggct	120
	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgatactag cacatactac	180
	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt	240
	ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaacatcaa	300
	gattacgatt tttcctacta ctactccgct atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc	360
	accgtctcct ca	372
<210>	100	
<211>	124	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	100	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
	20 25 30	
	Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Asp Thr Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
	50 55 60	
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe	
	65 70 75 80	
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
	Ala Lys His Gln Asp Tyr Asp Phe Ser Tyr Tyr Tyr Ser Ala Met Asp	
	100 105 110	
	Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
<210>	101	
<211>	24	

<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	101	
	ggattcacct ttagtagcta tgcc	24
<210>	102	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	102	
	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala	
1	5	
<210>	103	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	103	
	attagtggtgta gtgatactag caca	24
<210>	104	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	104	
	Ile Ser Gly Ser Asp Thr Ser Thr	
1	5	
<210>	105	
<211>	51	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	105	

gcgaaacatc aagattacga tttttcctac tactactccg ctatggacgt c	51
<210> 106	
<211> 17	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 106	
Ala Lys His Gln Asp Tyr Asp Phe Ser Tyr Tyr Tyr Ser Ala Met Asp	
1 5 10 15	
Val	
<210> 107	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 107	
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcac	60
atcacttgtc gggcgagtca ggatttcaac agctggttag cctggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gaagattttg cgacttacta ttgtcagcag actgacagtt tcccattcac ttttggccct	300
gggaccaaag tggatatcaa a	321
<210> 108	
<211> 107	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列	
<400> 108	
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
1 5 10 15	
Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Phe Asn Ser Trp	
20 25 30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
35 40 45	
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
50 55 60	

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

<210> 109
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 109

caggatttca acagctgg

18

<210> 110
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 110

Gln Asp Phe Asn Ser Trp
1 5

<210> 111
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 111

cagcagactg acagtttccc attcact

27

<210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列
<400> 112

Gln Gln Thr Asp Ser Phe Pro Phe Thr

1	5	
<210>	113	
<211>	1356	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	113	
gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag	cctctggatt	cacctttagt agctatgcc tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct attagtggta gtgatactag cacatactac 180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaacatcaa 300
gattacgatt	tttcctacta	ctactccgct atggacgtct ggggcccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct	cagcctccac	caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 420
agcacctccg	agagcacagc	cgccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 480
gtgacggtgt	cgtggaactc	aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc 540
ctacagtcct	caggactcta	ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg 600
ggcacgaaga	cctacacctg	caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660
agagttgagt	ccaaatatgg	tcccccatgc ccaccctgcc cagcacctga gttcctgggg 720
ggaccatcag	tcttctgtt	cccccaaaa cccaaggaca ctctcatgat ctcccgacc 780
cctgagggtca	cgtgcgtggt	ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac 840
tggtacgtgg	atggcgtgga	ggtgcataat gccaaagaaa agccgcggga ggagcagttc 900
aacagcacgt	accgtgtggt	cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaacggc 960
aaggagtaca	agtgcagggt	ctccaacaaa ggcctcccgt cctccatcga gaaaaccatc 1020
tccaaagcca	aagggcagcc	ccgagagcca caggtgtaca ccctgcccc atcccaggag 1080
gagatgacca	agaaccagggt	cagcctgacc tgctggtca aaggcttcta ccccagcgac 1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc 1200
gtgctggact	ccgacggctc	cttcttctc tacagcaggc tcaccgtgga caagagcagg 1260
tggcaggagg	ggaatgtctt	ctcatgtctc gtgatgcatg aggtcttgca caaccactac 1320
acacagaagt	ccctctccct	gtctctgggt aatga 1356
<210>	114	
<211>	451	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	人工序列	
<400>	114	
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Asp Thr Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Lys His Gln Asp Tyr Asp Phe Ser Tyr Tyr Tyr Ser Ala Met Asp			
100	105	110	
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys			
115	120	125	
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu			
130	135	140	
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro			
145	150	155	160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr			
165	170	175	
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val			
180	185	190	
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn			
195	200	205	
Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser			
210	215	220	
Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly			
225	230	235	240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			
245	250	255	
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln			
260	265	270	
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
275	280	285	
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr			
290	295	300	
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
305	310	315	320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Gly Lys
 450

<210> 115

<211> 645

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 115

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcac 60
 atcacttgctc gggcgagtca ggatttcaac agctggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg cgacttacta ttgtcagcag actgacagtt tccattcac ttttggccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 116

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 116

```

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

```

<210> 117

<211> 763

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 117

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

305	310	315	320
Cys Thr Gln Gly Gln Trp Thr Ile Gln Asn Arg Arg Leu Cys Gly Leu			
	325	330	335
Arg Ile Leu Gln Pro Tyr Ala Glu Arg Ile Pro Val Val Ala Thr Ala			
	340	345	350
Gly Ile Thr Ile Asn Phe Thr Ser Gln Ile Ser Leu Thr Gly Pro Gly			
	355	360	365
Val Arg Val His Tyr Gly Leu Tyr Asn Gln Ser Asp Pro Cys Pro Gly			
	370	375	380
Glu Phe Leu Cys Ser Val Asn Gly Leu Cys Val Pro Ala Cys Asp Gly			
385	390	395	400
Val Lys Asp Cys Pro Asn Gly Leu Asp Glu Arg Asn Cys Val Cys Arg			
	405	410	415
Ala Thr Phe Gln Cys Lys Glu Asp Ser Thr Cys Ile Ser Leu Pro Lys			
	420	425	430
Val Cys Asp Gly Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp Glu Glu Gln			
	435	440	445
Cys Gln Glu Gly Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln Cys Glu Asp			
	450	455	460
Arg Ser Cys Val Lys Lys Pro Asn Pro Gln Cys Asp Gly Arg Pro Asp			
465	470	475	480
Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu Glu His Cys Asp Cys Gly Leu Gln Gly			
	485	490	495
Pro Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Ala Val Ser Ser Glu Gly Glu Trp			
	500	505	510
Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln Val Arg Gly Arg His Ile Cys Gly Gly			
	515	520	525
Ala Leu Ile Ala Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His Cys Phe Gln			
	530	535	540
Glu Asp Ser Met Ala Ser Thr Val Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly Lys			
545	550	555	560
Val Trp Gln Asn Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys Val Ser			
	565	570	575
Arg Leu Leu Leu His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His Asp Tyr Asp			
	580	585	590
Val Ala Leu Leu Gln Leu Asp His Pro Val Val Arg Ser Ala Ala Val			
	595	600	605
Arg Pro Val Cys Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu Pro Gly Leu			
610	615	620	

His Cys Trp Ile Thr Gly Trp Gly Ala Leu Arg Glu Gly Gly Pro Ile			
625	630	635	640
Ser Asn Ala Leu Gln Lys Val Asp Val Gln Leu Ile Pro Gln Asp Leu			
	645	650	655
Cys Ser Glu Val Tyr Arg Tyr Gln Val Thr Pro Arg Met Leu Cys Ala			
	660	665	670
Gly Tyr Arg Lys Gly Lys Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ala Gly Gly			
	675	680	685
Pro Leu Val Cys Lys Ala Leu Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly Leu			
	690	695	700
Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Tyr Phe Gly Val Tyr			
705	710	715	720
Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile Ser Trp Ile Gln Gln Val Val Thr Glu			
	725	730	735
Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile			
	740	745	750
Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His			
	755	760	

<210> 118

<211> 759

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 118

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

Thr	Glu	Tyr	Glu	Val	Asp	Pro	Glu	Gly	Leu	Val	Ile	Leu	Glu	Ala	Ser	115	120	125
Val	Asn	Asp	Ile	Val	Val	Leu	Asn	Ser	Thr	Leu	Gly	Cys	Tyr	Arg	Tyr	130	135	140
Ser	Tyr	Val	Asn	Pro	Gly	Gln	Val	Leu	Pro	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp	Gln	145	150	155
Gln	Thr	Thr	Ser	Cys	Leu	Trp	His	Leu	Gln	Gly	Pro	Glu	Asp	Leu	Met	165	170	175
Ile	Lys	Val	Arg	Leu	Glu	Trp	Thr	Arg	Val	Asp	Cys	Arg	Asp	Arg	Val	180	185	190
Ala	Met	Tyr	Asp	Ala	Ala	Gly	Pro	Leu	Glu	Lys	Arg	Leu	Ile	Thr	Ser	195	200	205
Val	Tyr	Gly	Cys	Ser	Arg	Gln	Glu	Pro	Val	Met	Glu	Val	Leu	Ala	Ser	210	215	220
Gly	Ser	Val	Met	Ala	Val	Val	Trp	Lys	Lys	Gly	Met	His	Ser	Tyr	Tyr	225	230	235
Asp	Pro	Phe	Leu	Leu	Ser	Val	Lys	Ser	Val	Ala	Phe	Gln	Asp	Cys	Gln	245	250	255
Val	Asn	Leu	Thr	Leu	Glu	Gly	Arg	Leu	Asp	Thr	Gln	Gly	Phe	Leu	Arg	260	265	270
Thr	Pro	Tyr	Tyr	Pro	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Ser	Thr	His	Cys	Ser	Trp	275	280	285
His	Leu	Thr	Val	Pro	Ser	Leu	Asp	Tyr	Gly	Leu	Ala	Leu	Trp	Phe	Asp	290	295	300
Ala	Tyr	Ala	Leu	Arg	Arg	Gln	Lys	Tyr	Asn	Arg	Leu	Cys	Thr	Gln	Gly	305	310	315
Gln	Trp	Met	Ile	Gln	Asn	Arg	Arg	Leu	Cys	Gly	Phe	Arg	Thr	Leu	Gln	325	330	335
Pro	Tyr	Ala	Glu	Arg	Ile	Pro	Met	Val	Ala	Ser	Asp	Gly	Val	Thr	Ile	340	345	350
Asn	Phe	Thr	Ser	Gln	Ile	Ser	Leu	Thr	Gly	Pro	Gly	Val	Gln	Val	Tyr	355	360	365
Tyr	Ser	Leu	Tyr	Asn	Gln	Ser	Asp	Pro	Cys	Pro	Gly	Glu	Phe	Leu	Cys	370	375	380
Ser	Val	Asn	Gly	Leu	Cys	Val	Pro	Ala	Cys	Asp	Gly	Ile	Lys	Asp	Cys	385	390	395
Pro	Asn	Gly	Leu	Asp	Glu	Arg	Asn	Cys	Val	Cys	Arg	Ala	Met	Phe	Gln	405	410	415
Cys	Gln	Glu	Asp	Ser	Thr	Cys	Ile	Ser	Leu	Pro	Arg	Val	Cys	Asp	Arg			

420	425	430
Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp Glu Glu Gln Cys Gln Glu Gly		
435	440	445
Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln Cys Glu Asp Arg Ser Cys Val		
450	455	460
Lys Lys Pro Asn Pro Glu Cys Asp Gly Gln Ser Asp Cys Arg Asp Gly		
465	470	475
Ser Asp Glu Gln His Cys Asp Cys Gly Leu Gln Gly Leu Ser Ser Arg		
485	490	495
Ile Val Gly Gly Thr Val Ser Ser Glu Gly Glu Trp Pro Trp Gln Ala		
500	505	510
Ser Leu Gln Ile Arg Gly Arg His Ile Cys Gly Gly Ala Leu Ile Ala		
515	520	525
Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His Cys Phe Gln Glu Asp Ser Met		
530	535	540
Ala Ser Pro Lys Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly Lys Met Arg Gln Asn		
545	550	555
Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys Val Ser Arg Leu Phe Leu		
565	570	575
His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His Asp Tyr Asp Val Ala Leu Leu		
580	585	590
Gln Leu Asp His Pro Val Val Tyr Ser Ala Thr Val Arg Pro Val Cys		
595	600	605
Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu Pro Gly Gln His Cys Trp Ile		
610	615	620
Thr Gly Trp Gly Ala Gln Arg Glu Gly Gly Pro Val Ser Asn Thr Leu		
625	630	635
Gln Lys Val Asp Val Gln Leu Val Pro Gln Asp Leu Cys Ser Glu Ala		
645	650	655
Tyr Arg Tyr Gln Val Ser Pro Arg Met Leu Cys Ala Gly Tyr Arg Lys		
660	665	670
Gly Lys Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ala Gly Gly Pro Leu Val Cys		
675	680	685
Arg Glu Pro Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly		
690	695	700
Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Thr		
705	710	715
Arg Val Ile Asn Trp Ile Gln Gln Val Leu Thr Glu Gln Lys Leu Ile		
725	730	735

Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp
 740 745 750
 Leu His His His His His His
 755
 <210> 119
 <211> 763
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 119
 Gly Tyr Lys Ala Glu Val Thr Val Ser Gln Val Tyr Ser Gly Ser Leu
 1 5 10 15
 Arg Val Leu Asn Arg His Phe Ser Gln Asp Leu Thr Arg Arg Glu Ser
 20 25 30
 Ser Ala Phe Arg Ser Glu Thr Ala Lys Ala Gln Lys Met Leu Lys Glu
 35 40 45
 Leu Ile Ala Ser Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Ser Val
 50 55 60
 Tyr Ser Phe Gly Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp Phe Ile Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Pro Glu His Arg Arg Leu Met Leu Ser Pro Glu Val Val Gln
 85 90 95
 Ala Leu Leu Val Glu Glu Leu Leu Ser Thr Val Asn Ser Ser Ala Ala
 100 105 110
 Val Pro Tyr Arg Ala Glu Tyr Glu Val Asp Pro Glu Gly Leu Val Ile
 115 120 125
 Leu Glu Ala Ser Val Lys Asp Ile Ala Ala Leu Asn Ser Thr Leu Gly
 130 135 140
 Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Val Gly Gln Gly Gln Val Leu Arg Leu Lys
 145 150 155 160
 Gly Pro Asp His Leu Ala Ser Ser Cys Leu Trp His Leu Gln Gly Pro
 165 170 175
 Glu Asp Leu Met Leu Lys Leu Arg Leu Glu Trp Thr Leu Ala Glu Cys
 180 185 190
 Arg Asp Arg Leu Ala Met Tyr Asp Val Ala Gly Pro Leu Glu Lys Arg
 195 200 205
 Leu Ile Thr Ser Val Tyr Gly Cys Ser Arg Gln Glu Pro Val Val Glu
 210 215 220

Val	Leu	Ala	Ser	Gly	Ala	Ile	Met	Ala	Val	Val	Trp	Lys	Lys	Gly	Leu
225						230				235					240
His	Ser	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Phe	Met	Leu	Ser	Val	Gln	Ser	Val	Val	Phe
				245						250					255
Gln	Ala	Cys	Glu	Val	Asn	Leu	Thr	Leu	Asp	Asp	Arg	Leu	Asp	Ser	Gln
			260						265					270	
Gly	Val	Leu	Ser	Thr	Pro	Tyr	Phe	Pro	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Arg	Thr
			275				280							285	
His	Cys	Ser	Trp	His	Leu	Thr	Val	Pro	Ser	Leu	Asp	Tyr	Gly	Leu	Ala
			290				295							300	
Leu	Trp	Phe	Asp	Ala	Tyr	Ala	Leu	Arg	Arg	Gln	Lys	Tyr	Asp	Leu	Pro
305					310					315					320
Cys	Thr	Gln	Gly	Gln	Trp	Thr	Ile	Gln	Asn	Arg	Arg	Leu	Cys	Gly	Leu
				325					330						335
Arg	Ile	Leu	Gln	Pro	Tyr	Ala	Glu	Arg	Ile	Pro	Val	Val	Ala	Thr	Ala
			340					345						350	
Gly	Ile	Thr	Ile	Asn	Phe	Thr	Ser	Gln	Ile	Ser	Leu	Thr	Gly	Pro	Gly
			355					360						365	
Val	Arg	Val	His	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Asn	Gln	Ser	Asp	Pro	Cys	Pro	Gly
			370					375						380	
Glu	Phe	Leu	Cys	Ser	Val	Asn	Gly	Leu	Cys	Val	Pro	Ala	Cys	Asp	Gly
385					390					395					400
Val	Lys	Asp	Cys	Pro	Asn	Gly	Leu	Asp	Glu	Arg	Asn	Cys	Val	Cys	Arg
				405					410						415
Ala	Thr	Phe	Gln	Cys	Gln	Glu	Asp	Ser	Thr	Cys	Ile	Ser	Leu	Leu	Lys
			420						425					430	
Val	Cys	Asp	Gly	Gln	Pro	Asp	Cys	Leu	Asn	Gly	Ser	Asp	Glu	Glu	Arg
			435					440						445	
Cys	Gln	Glu	Gly	Val	Pro	Cys	Gly	Thr	Phe	Thr	Phe	Gln	Cys	Glu	Asp
			450				455							460	
Gln	Ser	Cys	Val	Lys	Lys	Pro	Asn	Pro	Gln	Cys	Asp	Gly	Arg	Pro	Asp
465					470					475					480
Cys	Arg	Asp	Gly	Ser	Asp	Glu	Gln	His	Cys	Asp	Cys	Gly	Leu	Gln	Gly
				485					490					495	
Pro	Ser	Ser	Arg	Ile	Val	Gly	Gly	Ala	Val	Ser	Ser	Glu	Gly	Glu	Trp
			500					505						510	
Pro	Trp	Gln	Ala	Ser	Leu	Gln	Val	Arg	Gly	Arg	His	Ile	Cys	Gly	Gly
			515					520						525	
Ala	Leu	Ile	Ala	Asp	Arg	Trp	Val	Ile	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Phe	Gln

530	535	540
Glu Asp Ser Met Ala Ser Pro Ala Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly Lys		
545	550	555
Val Trp Gln Asn Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys Val Ser		
565	570	575
Arg Leu Leu Leu His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His Asp Tyr Asp		
580	585	590
Val Ala Leu Leu Gln Leu Asp His Pro Val Val Arg Ser Ala Ala Val		
595	600	605
Arg Pro Val Cys Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu Pro Gly Leu		
610	615	620
His Cys Trp Ile Thr Gly Trp Gly Ala Leu Arg Glu Gly Gly Pro Thr		
625	630	635
Ser Asn Ala Leu Gln Lys Val Asp Val Gln Leu Ile Pro Gln Asp Leu		
645	650	655
Cys Ser Glu Ala Tyr Arg Tyr Gln Val Thr Pro Arg Met Leu Cys Ala		
660	665	670
Gly Tyr Arg Lys Gly Lys Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ala Gly Gly		
675	680	685
Pro Leu Val Cys Lys Ala Leu Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly Leu		
690	695	700
Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Tyr Phe Gly Val Tyr		
705	710	715
Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile Gly Trp Ile Gln Gln Val Val Thr Glu		
725	730	735
Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile		
740	745	750
Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His		
755	760	
<210> 120		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列		
<400> 120		
Ser His Phe Phe Glu Pro Gly Leu His Cys Trp		
1	5	10
<210> 121		

<211> 26
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 121
 Leu Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Tyr Phe Gly Val
 1 5 10 15
 Tyr Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile Ser Trp
 20 25
 <210> 122
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 122
 Leu Ile Thr Ser Thr Arg Leu Gly Thr
 1 5
 <210> 123
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 123
 Gly Glu Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu
 1 5
 <210> 124
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 124
 Ser Thr Val Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly Lys Val Trp Gln Asn Ser
 1 5 10 15
 Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys
 20 25

<210> 125

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 125

Ile Thr Gly Trp Gly Ala Leu Arg Glu Gly Gly Pro Ile Ser Asn Ala

1 5 10 15

Leu Gln Lys Val Asp

20

<210> 126

<211> 811

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 126

Met Leu Leu Leu Phe His Ser Lys Arg Met Pro Val Ala Glu Ala Pro

1 5 10 15

Gln Val Ala Gly Gly Gln Gly Asp Gly Gly Asp Gly Glu Glu Ala Glu

20 25 30

Pro Glu Gly Met Phe Lys Ala Cys Glu Asp Ser Lys Arg Lys Ala Arg

35 40 45

Gly Tyr Leu Arg Leu Val Pro Leu Phe Val Leu Leu Ala Leu Leu Val

50 55 60

Leu Ala Ser Ala Gly Val Leu Leu Trp Tyr Phe Leu Gly Tyr Lys Ala

65 70 75 80

Glu Val Met Val Ser Gln Val Tyr Ser Gly Ser Leu Arg Val Leu Asn

85 90 95

Arg His Phe Ser Gln Asp Leu Thr Arg Arg Glu Ser Ser Ala Phe Arg

100 105 110

Ser Glu Thr Ala Lys Ala Gln Lys Met Leu Lys Glu Leu Ile Thr Ser

115 120 125

Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Ser Val Tyr Ser Phe Gly

130 135 140

Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp Phe Ile Leu Gln Ile Pro Glu

145 150 155 160

His Arg Arg Leu Met Leu Ser Pro Glu Val Val Gln Ala Leu Leu Val

				165						170					175	
Glu	Glu	Leu	Leu	Ser	Thr	Val	Asn	Ser	Ser	Ala	Ala	Val	Pro	Tyr	Arg	
				180						185					190	
Ala	Glu	Tyr	Glu	Val	Asp	Pro	Glu	Gly	Leu	Val	Ile	Leu	Glu	Ala	Ser	
				195						200					205	
Val	Lys	Asp	Ile	Ala	Ala	Leu	Asn	Ser	Thr	Leu	Gly	Cys	Tyr	Arg	Tyr	
				210						215					220	
Ser	Tyr	Val	Gly	Gln	Gly	Gln	Val	Leu	Arg	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp	His	
225						230				235					240	
Leu	Ala	Ser	Ser	Cys	Leu	Trp	His	Leu	Gln	Gly	Pro	Lys	Asp	Leu	Met	
				245						250					255	
Leu	Lys	Leu	Arg	Leu	Glu	Trp	Thr	Leu	Ala	Glu	Cys	Arg	Asp	Arg	Leu	
				260						265					270	
Ala	Met	Tyr	Asp	Val	Ala	Gly	Pro	Leu	Glu	Lys	Arg	Leu	Ile	Thr	Ser	
				275						280					285	
Val	Tyr	Gly	Cys	Ser	Arg	Gln	Glu	Pro	Val	Val	Glu	Val	Leu	Ala	Ser	
				290						295					300	
Gly	Ala	Ile	Met	Ala	Val	Val	Trp	Lys	Lys	Gly	Leu	His	Ser	Tyr	Tyr	
305						310				315					320	
Asp	Pro	Phe	Val	Leu	Ser	Val	Gln	Pro	Val	Val	Phe	Gln	Ala	Cys	Glu	
				325						330					335	
Val	Asn	Leu	Thr	Leu	Asp	Asn	Arg	Leu	Asp	Ser	Gln	Gly	Val	Leu	Ser	
				340						345					350	
Thr	Pro	Tyr	Phe	Pro	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Gln	Thr	His	Cys	Ser	Trp	
				355						360					365	
His	Leu	Thr	Val	Pro	Ser	Leu	Asp	Tyr	Gly	Leu	Ala	Leu	Trp	Phe	Asp	
				370						375					380	
Ala	Tyr	Ala	Leu	Arg	Arg	Gln	Lys	Tyr	Asp	Leu	Pro	Cys	Thr	Gln	Gly	
385						390				395					400	
Gln	Trp	Thr	Ile	Gln	Asn	Arg	Arg	Leu	Cys	Gly	Leu	Arg	Ile	Leu	Gln	
				405						410					415	
Pro	Tyr	Ala	Glu	Arg	Ile	Pro	Val	Val	Ala	Thr	Ala	Gly	Ile	Thr	Ile	
				420						425					430	
Asn	Phe	Thr	Ser	Gln	Ile	Ser	Leu	Thr	Gly	Pro	Gly	Val	Arg	Val	His	
				435						440					445	
Tyr	Gly	Leu	Tyr	Asn	Gln	Ser	Asp	Pro	Cys	Pro	Gly	Glu	Phe	Leu	Cys	
				450						455					460	
Ser	Val	Asn	Gly	Leu	Cys	Val	Pro	Ala	Cys	Asp	Gly	Val	Lys	Asp	Cys	
465						470				475					480	

Pro	Asn	Gly	Leu	Asp	Glu	Arg	Asn	Cys	Val	Cys	Arg	Ala	Thr	Phe	Gln
					485				490						495
Cys	Lys	Glu	Asp	Ser	Thr	Cys	Ile	Ser	Leu	Pro	Lys	Val	Cys	Asp	Gly
					500				505						510
Gln	Pro	Asp	Cys	Leu	Asn	Gly	Ser	Asp	Glu	Glu	Gln	Cys	Gln	Glu	Gly
					515				520						525
Val	Pro	Cys	Gly	Thr	Phe	Thr	Phe	Gln	Cys	Glu	Asp	Arg	Ser	Cys	Val
					530				535						540
Lys	Lys	Pro	Asn	Pro	Gln	Cys	Asp	Gly	Arg	Pro	Asp	Cys	Arg	Asp	Gly
545						550					555				560
Ser	Asp	Glu	Glu	His	Cys	Asp	Cys	Gly	Leu	Gln	Gly	Pro	Ser	Ser	Arg
					565				570						575
Ile	Val	Gly	Gly	Ala	Val	Ser	Ser	Glu	Gly	Glu	Trp	Pro	Trp	Gln	Ala
					580				585						590
Ser	Leu	Gln	Val	Arg	Gly	Arg	His	Ile	Cys	Gly	Gly	Ala	Leu	Ile	Ala
					595				600						605
Asp	Arg	Trp	Val	Ile	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Phe	Gln	Glu	Asp	Ser	Met
					610				615						620
Ala	Ser	Thr	Val	Leu	Trp	Thr	Val	Phe	Leu	Gly	Lys	Val	Trp	Gln	Asn
625						630					635				640
Ser	Arg	Trp	Pro	Gly	Glu	Val	Ser	Phe	Lys	Val	Ser	Arg	Leu	Leu	Leu
					645				650						655
His	Pro	Tyr	His	Glu	Glu	Asp	Ser	His	Asp	Tyr	Asp	Val	Ala	Leu	Leu
					660				665						670
Gln	Leu	Asp	His	Pro	Val	Val	Arg	Ser	Ala	Ala	Val	Arg	Pro	Val	Cys
					675				680						685
Leu	Pro	Ala	Arg	Ser	His	Phe	Phe	Glu	Pro	Gly	Leu	His	Cys	Trp	Ile
					690				695						700
Thr	Gly	Trp	Gly	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Gly	Pro	Ile	Ser	Asn	Ala	Leu
705						710					715				720
Gln	Lys	Val	Asp	Val	Gln	Leu	Ile	Pro	Gln	Asp	Leu	Cys	Ser	Glu	Val
					725				730						735
Tyr	Arg	Tyr	Gln	Val	Thr	Pro	Arg	Met	Leu	Cys	Ala	Gly	Tyr	Arg	Lys
					740				745						750
Gly	Lys	Lys	Asp	Ala	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Val	Cys
					755				760						765
Lys	Ala	Leu	Ser	Gly	Arg	Trp	Phe	Leu	Ala	Gly	Leu	Val	Ser	Trp	Gly
					770				775						780
Leu	Gly	Cys	Gly	Arg	Pro	Asn	Tyr	Phe	Gly	Val	Tyr	Thr	Arg	Ile	Thr

785	790	795	800
Gly Val Ile Ser Trp	Ile Gln Gln Val Val	Thr	
	805	810	
<210> 127			
<211> 3209			
<212> DNA			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列			
<400> 127			
cttgagccag acccagtcca gctctgggtgc ctgccctctg gtgcgagctg acctgagatg			60
cacttccctc ctctgtgagc tgtctcggca cccacttgca gtcactgccg cctgatgttg			120
ttactcttcc actccaaaag gatgcccgtg gccgaggccc cccaggtggc tggcgggcag			180
ggggacggag gtgatggcga ggaagcggag ccggagggga tgttcaaggc ctgtgaggac			240
tccaagagaa aagcccgggg ctacctccgc ctggtgcccc tgtttgtgct gctggccctg			300
ctcgtgctgg cttcggcggg ggtgctactc tggtatttcc tagggtacaa ggcggaggtg			360
atggtcagcc aggtgtactc aggagctctg cgtgtactca atcgccactt ctcccaggat			420
cttaccgccg gggaatctag tgccttccgc agtgaaaccg ccaaagccca gaagatgctc			480
aaggagctca tcaccagcac ccgcctggga acttactaca actccagctc cgtctattcc			540
tttggggagg gaccctcac ctgcttcttc tggttcattc tccaaatccc cgagcacccg			600
cggctgatgc tgagccccga ggtggtgcag gcactgctgg tggaggagct gctgtccaca			660
gtcaacagct cggctgccgt cccctacagg gccgagtacg aagtggacct cgagggccta			720
gtgatcctgg aagccagtgt gaaagacata gctgcattga attccacgct gggttgttac			780
cgtacagct acgtgggcca gggccaggtc ctccggctga aggggcctga ccacctggcc			840
tccagctgcc tgtggcacct gcagggcccc aaggacctca tgctcaaact ccggtggag			900
tggacgctgg cagagtgccg ggaccgactg gccatgtatg acgtggccgg gcccctggag			960
aagaggctca tcacctcggg gtacggctgc agccgccagg agcccgtggg ggaggttctg			1020
gcgtcggggg ccatcatggc ggtcgtctgg aagaagggcc tgcacagcta ctacgacccc			1080
ttcgtgctct ccgtgcagcc ggtggtcttc caggcctgtg aagtgaacct gacgtggac			1140
aacaggctcg actcccaggg cgtcctcagc acccgtact tcccagcta ctactgccc			1200
caaaccact gtccttgga cctcacggtg ccctctctgg actacggctt ggccctctgg			1260
tttgatgcct atgactgag gaggcagaag tatgatttgc cgtgcacca gggccagtgg			1320
acgatccaga acaggaggt gtgtggcttg cgcactctgc agccctacgc cgagaggatc			1380
cccgtggtgg ccacggccgg gatcaccatc aacttcacct cccagatctc cctcaccggg			1440
cccgtgtgct ggggtgacta tggtttgtac aaccagtcgg acccctgccc tggagagttc			1500
ctctgttctg tgaatggact ctgtgtccct gcctgtgatg gggtaagga ctgccccaac			1560
ggcctggatg agagaaactg cgtttgaga gccacattcc agtgcaaaga ggacagcaca			1620
tgcactctac tgcccaaggt ctgtgatggg cagcctgatt gtctcaacgg cagcgacgaa			1680
gagcagtgcc aggaaggggt gccatgtggg acattcacct tccagtgtga ggaccggagc			1740

```

tgcgtgaaga agcccaaccc gcagtgtgat gggcggcccc actgcaggga cggctcggat 1800
gaggagcact gtgactgtgg cctccagggc ccctccagcc gcattgttgg tggagctgtg 1860
tcctccgagg gtgagtggcc atggcaggcc agcctccagg ttcggggtcg acacatctgt 1920
ggggggggccc tcatcgctga ccgctgggtg ataacagctg cccactgctt ccaggaggac 1980
agcatggcct ccacgggtgt gtggaccgtg ttcctgggca aggtgtggca gaactcgcgc 2040
tggcctggag aggtgtcctt caagtgagc cgctgtctcc tgcacccgta ccacgaagag 2100
gacagccatg actacgacgt ggcgtgtgtg cagctcgacc acccggtggt gcgctcggcc 2160
gccgtgcgcc ccgtctgcct gcccgcgcgc tcccatttct tcgagcccgg cctgcactgc 2220
tggattacgg gctggggcgc cttgcgcgag ggcggcccca tcagcaacgc tctgcagaaa 2280
gtggatgtgc agttgatccc acaggacctg tgcagcgagg tctatcgcta ccaggtgacg 2340
ccacgcatgc tgtgtgccgg ctaccgcaag ggcaagaagg atgcctgtca gggtgactca 2400
gggtgtccgc tgggtgtcaa ggcaactcagt ggccgctggt tcctggcggg gctggtcagc 2460
tggggcctgg gctgtggccg gcctaactac ttcggcgtct acaccgcat cacaggtgtg 2520
atcagctgga tccagcaagt ggtgacctga ggaactgccc ccctgcaaag caggggccac 2580
ctcctggact cagagagccc agggcaactg ccaagcaggg ggacaagtat tctggcgggg 2640
gggtgggggag agagcaggcc ctgtggtggc aggaggtggc atcttgtctc gtccctgatg 2700
tctgtccag tgatggcagg aggatggaga agtgccagca gctgggggtc aagacgtccc 2760
ctgaggaccc agggccacac ccagcccttc tgctcccaa ttctctctcc tccgtccct 2820
tcctccactg ctgcctaatg caaggcagtg gctcagcagc aagaatgtg gttctacatc 2880
ccgaggagtg tctgaggtgc gcccactct gtacagaggc tgtttgggca gccttgctc 2940
cagagagcag attccagctt cggaagcccc tggcttaact tgggatctgg gaatggaagg 3000
tgctcccatc ggaggggacc ctgagagccc tggagactgc caggtgggcc tgctgccact 3060
gtaagccaaa aggtggggaa gtcctgactc cagggtcctt gcccacccc tgctgccac 3120
ctgggcccctc acagcccaga ccctcactgg gaggtgagct cagctgccct ttggaataaa 3180
gctgcctgat ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3209

```

<210> 128

<211> 800

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 128

Met Pro Val Ala Lys Ala Pro Gln Val Ala Gly Gly Gln Gly Asp Gly

1 5 10 15

Gly Asp Gly Glu Glu Ala Glu Pro Glu Gly Met Phe Glu Ala Cys Glu

20 25 30

Asp Ser Lys Arg Lys Ala Arg Gly Tyr Leu Arg Leu Ala Pro Leu Trp

35 40 45

Leu Thr Leu Val Val Leu Thr Ser Val Gly Val Leu Leu Trp Tyr Phe

50	55	60
Leu Gly Tyr Lys Ala Glu Val Thr Val Ser Gln Val Tyr Ser Gly Ser		
65	70	75
Leu Arg Val Leu Asn Arg His Phe Ser Gln Asp Leu Thr Arg Arg Glu		80
	85	90
Ser Ser Ala Phe Arg Ser Glu Thr Ala Lys Ala Gln Lys Met Leu Lys		95
	100	105
Glu Leu Ile Ala Ser Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Ser		110
	115	120
Val Tyr Ser Phe Gly Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp Phe Ile		125
	130	135
Leu Gln Ile Pro Glu His Arg Arg Leu Met Leu Ser Pro Glu Val Val		140
145	150	155
Gln Ala Leu Leu Val Glu Glu Leu Leu Ser Thr Val Asn Ser Ser Ala		160
	165	170
Ala Val Pro Tyr Arg Ala Glu Tyr Glu Val Asp Pro Glu Gly Leu Val		175
	180	185
Ile Leu Glu Ala Ser Val Lys Asp Ile Ala Ala Leu Asn Ser Thr Leu		190
	195	200
Gly Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Val Gly Gln Gly Gln Val Leu Arg Leu		205
	210	215
Lys Gly Pro Asp His Leu Ala Ser Ser Cys Leu Trp His Leu Gln Gly		220
225	230	235
Pro Glu Asp Leu Met Leu Lys Leu Arg Leu Glu Trp Thr Leu Ala Glu		240
	245	250
Cys Arg Asp Arg Leu Ala Met Tyr Asp Val Ala Gly Pro Leu Glu Lys		255
	260	265
Arg Leu Ile Thr Ser Val Tyr Gly Cys Ser Arg Gln Glu Pro Val Val		270
	275	280
Glu Val Leu Ala Ser Gly Ala Ile Met Ala Val Val Trp Lys Lys Gly		285
	290	295
Leu His Ser Tyr Tyr Asp Pro Phe Met Leu Ser Val Gln Ser Val Val		300
305	310	315
Phe Gln Ala Cys Glu Val Asn Leu Thr Leu Asp Asp Arg Leu Asp Ser		320
	325	330
Gln Gly Val Leu Ser Thr Pro Tyr Phe Pro Ser Tyr Tyr Ser Pro Arg		335
	340	345
Thr His Cys Ser Trp His Leu Thr Val Pro Ser Leu Asp Tyr Gly Leu		350
	355	360
		365

Ala Leu Trp Phe Asp Ala Tyr Ala Leu Arg Arg Gln Lys Tyr Asp Leu		
370	375	380
Pro Cys Thr Gln Gly Gln Trp Thr Ile Gln Asn Arg Arg Leu Cys Gly		
385	390	395 400
Leu Arg Ile Leu Gln Pro Tyr Ala Glu Arg Ile Pro Val Val Ala Thr		
	405	410 415
Ala Gly Ile Thr Ile Asn Phe Thr Ser Gln Ile Ser Leu Thr Gly Pro		
	420	425 430
Gly Val Arg Val His Tyr Gly Leu Tyr Asn Gln Ser Asp Pro Cys Pro		
	435	440 445
Gly Glu Phe Leu Cys Ser Val Asn Gly Leu Cys Val Pro Ala Cys Asp		
	450	455 460
Gly Val Lys Asp Cys Pro Asn Gly Leu Asp Glu Arg Asn Cys Val Cys		
465	470	475 480
Arg Ala Thr Phe Gln Cys Gln Glu Asp Ser Thr Cys Ile Ser Leu Leu		
	485	490 495
Lys Val Cys Asp Gly Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp Glu Glu		
	500	505 510
Arg Cys Gln Glu Gly Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln Cys Glu		
	515	520 525
Asp Gln Ser Cys Val Lys Lys Pro Asn Pro Gln Cys Asp Gly Arg Pro		
530	535	540
Asp Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu Gln His Cys Asp Cys Gly Leu Gln		
545	550	555 560
Gly Pro Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Ala Val Ser Ser Glu Gly Glu		
	565	570 575
Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln Val Arg Gly Arg His Ile Cys Gly		
	580	585 590
Gly Ala Leu Ile Ala Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His Cys Phe		
	595	600 605
Gln Glu Asp Ser Met Ala Ser Pro Ala Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly		
610	615	620
Lys Val Trp Gln Asn Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys Val		
625	630	635 640
Ser Arg Leu Leu Leu His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His Asp Tyr		
	645	650 655
Asp Val Ala Leu Leu Gln Leu Asp His Pro Val Val Arg Ser Ala Ala		
	660	665 670
Val Arg Pro Val Cys Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu Pro Gly		

675	680	685
Leu His Cys Trp Ile Thr Gly Trp Gly Ala Leu Arg Glu Gly Gly Pro		
690	695	700
Thr Ser Asn Ala Leu Gln Lys Val Asp Val Gln Leu Ile Pro Gln Asp		
705	710	715
Leu Cys Ser Glu Ala Tyr Arg Tyr Gln Val Thr Pro Arg Met Leu Cys		
725	730	735
Ala Gly Tyr Arg Lys Gly Lys Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly		
740	745	750
Gly Pro Leu Val Cys Lys Ala Leu Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly		
755	760	765
Leu Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Tyr Phe Gly Val		
770	775	780
Tyr Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile Gly Trp Ile Gln Gln Val Val Thr		
785	790	795
		800

<210> 129

<211> 3262

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 129

ctcagtcaca gtgccgtcct gggcccagca ggaggagccc catggagcct ggggccacag	60
gccacagggg acaagggcc aacaccctgg ccatggctct aggccattga tccaggccgg	120
gctggcacgg tgggggtagg gaggccttgg cctggacaaa caaaggcttc tgaggcctgc	180
gtgcaggccc agcacctatc cgccactccc aaaggatgcc tgtggccaag gccccccagg	240
tggctggtgg gcagggggac ggaggtgatg gcgaggaagc ggagccagag gggatgttcg	300
aggcctgtga ggactccaag agaaaagccc ggggctacct ccgcctggcg cccctgtggc	360
tgaccctggt tgtgctgact tcagtggggg tgctactctg gtatttcccta gggtacaagg	420
cggaggtgac ggtagccag gtgtactcag gcagccttcg cgtgctcaat cgccacttct	480
cccaggatct taccgcccgg gaatccagtg cttccgcag tgaaaccgcc aaagcccaga	540
agatgctcaa ggagctcatc gccagcacc gcctgggaac ttattacaac tccagctccg	600
tctattcctt tggggaggga ccgctcacct gtttcttctg gttcattctc caaatccccg	660
agcaccgccg gctgatgctg agccccgagg tggtgcaggc actgctggtg gaggagctgc	720
tgtccacagt caacagctcg gcggccgtcc cctacagggc cgagtacgaa gtggacccccg	780
agggcctagt gatcctagaa gccagtgtga aagacatagc tgcactgaat tccacgtgg	840
gttggtaccg ctacagctac gtgggccagg gtcaggtcct ccggctgaag ggacccgacc	900
acctggcctc cagctgcctg tggcacctgc agggccccga agacctcatg ctgaaactcc	960
ggctggagtg gacgctggcc gaggccggg accgactggc catgtatgac gtggctgggc	1020

ccctggagaa	gaggctcatc	acctcgggtgt	atggctgcag	ccgccaggag	cctgtggtgg	1080
aagtcctggc	atcgggggcc	atcatggcgg	tggtctggaa	gaagggcctg	cacagctact	1140
acgacccctt	tatgctctcc	gtgcagtcgg	tggtcttcca	ggcctgcgag	gtaaacctga	1200
cgctggatga	caggctggac	tcccagggcg	tcctcagcac	cccgtacttc	cccagctact	1260
actcgccccg	aacccactgc	tcctggcacc	tcacggtgcc	ttctctggac	tacggcttgg	1320
ccctctgggt	tgacgcctac	gcactgcgga	ggcagaagta	tgatttgccg	tgacccagg	1380
gccagtggac	gatccagaac	aggaggtgt	gtggcctgcg	catcctgcag	ccttacgctg	1440
agaggatccc	cgtggtggcc	acggccggca	tcaccatcaa	tttcacctcc	cagatctccc	1500
tcacagggcc	tggtgtgcgg	gtgcactatg	gcttgtaaa	ccagtcggac	ccctgccctg	1560
gagagtccct	ctgctctgtg	aacggactct	gcgtccctgc	ctgtgatggg	gtcaaggact	1620
gccccaacgg	cctggatgag	agaaaactgcg	tttgacagagc	cacattccag	tgccaagagg	1680
acagcacgtg	catctcactg	cttaaggtct	gtgacgggca	gcctgactgt	ctcaacggca	1740
gcgatgaaga	gcggtgccag	gaaggggtgc	cctgcgggac	attcaccttc	cagtgtgagg	1800
accagagctg	cgtgaagaag	cccaaccac	agtgtgatgg	gcggcccgac	tgacgggacg	1860
gctcagacga	gcagcactgt	gactgtggcc	tccagggccc	ctccagtcgc	attgttgggtg	1920
gggccgtgtc	ctccgagggt	gagtggccat	ggcaggccag	cctccagggt	cggggtcgac	1980
acatctgtgg	gggcgccctc	atcgtgacc	gctgggtgat	aacagctgcc	cattgtcttc	2040
aggaggacag	catggcctcc	ccggcgctgt	ggacggtgtt	cctgggcaag	gtgtggcaga	2100
actcgcgctg	gcctggagag	gtgtccttca	aggtgagccg	cctactcctg	catccgtatc	2160
acgaagagga	cagccacgac	tacgacgtgg	cgctgttgca	gctcgaccac	ccggtggtgc	2220
gctcgccgcg	cgtgcgtcca	gtctgcctgc	ccgcgcgctc	ccacttcttc	gaacccggcc	2280
tgactgctg	gatcactggc	tggggcgccc	tgcggaagg	cggccccacc	agcaatgctc	2340
tgacagaaagt	ggacgtgcag	ttgatccac	aggacctgtg	cagcgaggcc	tatcgctacc	2400
aggtgacgcc	acgcatgctg	tgtgccggct	accgcaagg	caagaaggat	gcctgccagg	2460
gtgactcggg	tggtccgctg	gtatgcaagg	cactcagtgg	ccgctgggtc	ctggcagggc	2520
tggtcagctg	gggcctgggc	tgtggccgac	ctaactactt	cggcgtctac	acccgcatca	2580
caggtgtgat	cggctggatc	cagcaagtgg	tgacctgagg	aactgcccc	ctgcagagca	2640
ggtcccacct	cttgactca	gagagcccag	ggcaattgcc	aagcaggggg	acaagtattc	2700
tggggggagg	ggggcgcgag	caggccctgt	ggtggcagga	ggtggcatct	tgtcttgtcc	2760
ctgatgtctg	ctccagtgat	ggcaggagga	tggaggagtg	ccagcagctg	ggggtcaaga	2820
cgtccccctg	ggacccaggc	ccacaccag	cccttctgcc	tcccgattct	ctctcctccg	2880
tcccccttct	ccactgctgc	ctattgcaag	gaagtggctc	agcagcaaga	atgctggctc	2940
tacgtcccca	ggagtgtctg	agctgtgccc	cgctctgtac	agaggctgct	tgggcagcct	3000
tgctctaga	gagcagatgc	cagcttcgga	agccctggt	ctaacttggg	atctgggaat	3060
ggaagggtgcc	cccataggag	gggacctca	cagccctggg	gactgccagg	tgggccggct	3120
gccaccgtaa	gccccaaaag	gtggggaagc	cctgactcca	aggtccctgc	cccacccctg	3180
cctgccacct	ggccccctac	agcccagacc	ctcaccggca	ggtgagctca	gctgcccttt	3240
ggaataaagc	tgctgatcc	aa				3262
<210> 130						

<211> 811
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列
 <400> 130
 Met Pro Arg Cys Phe Gln Leu Pro Cys Ser Thr Arg Met Pro Thr Thr
 1 5 10 15
 Glu Val Pro Gln Ala Ala Asp Gly Gln Gly Asp Ala Gly Asp Gly Glu
 20 25 30
 Glu Ala Ala Glu Pro Glu Gly Lys Phe Lys Pro Pro Lys Asn Thr Lys
 35 40 45
 Arg Lys Asn Arg Asp Tyr Val Arg Phe Thr Pro Leu Leu Leu Val Leu
 50 55 60
 Ala Ala Leu Val Ser Ala Gly Val Met Leu Trp Tyr Phe Leu Gly Tyr
 65 70 75 80
 Lys Ala Glu Val Thr Val Ser Gln Val Tyr Ser Gly Ser Leu Arg Val
 85 90 95
 Leu Asn Arg His Phe Ser Gln Asp Leu Gly Arg Arg Glu Ser Ile Ala
 100 105 110
 Phe Arg Ser Glu Ser Ala Lys Ala Gln Lys Met Leu Gln Glu Leu Val
 115 120 125
 Ala Ser Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Ser Val Tyr Ser
 130 135 140
 Phe Gly Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp Phe Ile Leu Asp Ile
 145 150 155 160
 Pro Glu Tyr Gln Arg Leu Thr Leu Ser Pro Glu Val Val Arg Glu Leu
 165 170 175
 Leu Val Asp Glu Leu Leu Ser Asn Ser Ser Thr Leu Ala Ser Tyr Lys
 180 185 190
 Thr Glu Tyr Glu Val Asp Pro Glu Gly Leu Val Ile Leu Glu Ala Ser
 195 200 205
 Val Asn Asp Ile Val Val Leu Asn Ser Thr Leu Gly Cys Tyr Arg Tyr
 210 215 220
 Ser Tyr Val Asn Pro Gly Gln Val Leu Pro Leu Lys Gly Pro Asp Gln
 225 230 235 240
 Gln Thr Thr Ser Cys Leu Trp His Leu Gln Gly Pro Glu Asp Leu Met
 245 250 255
 Ile Lys Val Arg Leu Glu Trp Thr Arg Val Asp Cys Arg Asp Arg Val

260	265	270
Ala Met Tyr Asp Ala Ala Gly Pro Leu Glu Lys Arg Leu Ile Thr Ser		
275	280	285
Val Tyr Gly Cys Ser Arg Gln Glu Pro Val Met Glu Val Leu Ala Ser		
290	295	300
Gly Ser Val Met Ala Val Val Trp Lys Lys Gly Met His Ser Tyr Tyr		
305	310	315
Asp Pro Phe Leu Leu Ser Val Lys Ser Val Ala Phe Gln Asp Cys Gln		
325	330	335
Val Asn Leu Thr Leu Glu Gly Arg Leu Asp Thr Gln Gly Phe Leu Arg		
340	345	350
Thr Pro Tyr Tyr Pro Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr His Cys Ser Trp		
355	360	365
His Leu Thr Val Pro Ser Leu Asp Tyr Gly Leu Ala Leu Trp Phe Asp		
370	375	380
Ala Tyr Ala Leu Arg Arg Gln Lys Tyr Asn Arg Leu Cys Thr Gln Gly		
385	390	395
Gln Trp Met Ile Gln Asn Arg Arg Leu Cys Gly Phe Arg Thr Leu Gln		
405	410	415
Pro Tyr Ala Glu Arg Ile Pro Met Val Ala Ser Asp Gly Val Thr Ile		
420	425	430
Asn Phe Thr Ser Gln Ile Ser Leu Thr Gly Pro Gly Val Gln Val Tyr		
435	440	445
Tyr Ser Leu Tyr Asn Gln Ser Asp Pro Cys Pro Gly Glu Phe Leu Cys		
450	455	460
Ser Val Asn Gly Leu Cys Val Pro Ala Cys Asp Gly Ile Lys Asp Cys		
465	470	475
Pro Asn Gly Leu Asp Glu Arg Asn Cys Val Cys Arg Ala Met Phe Gln		
485	490	495
Cys Gln Glu Asp Ser Thr Cys Ile Ser Leu Pro Arg Val Cys Asp Arg		
500	505	510
Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp Glu Glu Gln Cys Gln Glu Gly		
515	520	525
Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln Cys Glu Asp Arg Ser Cys Val		
530	535	540
Lys Lys Pro Asn Pro Glu Cys Asp Gly Gln Ser Asp Cys Arg Asp Gly		
545	550	555
Ser Asp Glu Gln His Cys Asp Cys Gly Leu Gln Gly Leu Ser Ser Arg		
565	570	575

Ile Val Gly Gly Thr Val Ser Ser Glu Gly Glu Trp Pro Trp Gln Ala	
580	585 590
Ser Leu Gln Ile Arg Gly Arg His Ile Cys Gly Gly Ala Leu Ile Ala	
595	600 605
Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His Cys Phe Gln Glu Asp Ser Met	
610	615 620
Ala Ser Pro Lys Leu Trp Thr Val Phe Leu Gly Lys Met Arg Gln Asn	
625	630 635 640
Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe Lys Val Ser Arg Leu Phe Leu	
	645 650 655
His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His Asp Tyr Asp Val Ala Leu Leu	
	660 665 670
Gln Leu Asp His Pro Val Val Tyr Ser Ala Thr Val Arg Pro Val Cys	
	675 680 685
Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu Pro Gly Gln His Cys Trp Ile	
	690 695 700
Thr Gly Trp Gly Ala Gln Arg Glu Gly Gly Pro Val Ser Asn Thr Leu	
705	710 715 720
Gln Lys Val Asp Val Gln Leu Val Pro Gln Asp Leu Cys Ser Glu Ala	
	725 730 735
Tyr Arg Tyr Gln Val Ser Pro Arg Met Leu Cys Ala Gly Tyr Arg Lys	
	740 745 750
Gly Lys Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys	
	755 760 765
Arg Glu Pro Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly	
	770 775 780
Leu Gly Cys Gly Arg Pro Asn Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Thr	
785	790 795 800
Arg Val Ile Asn Trp Ile Gln Gln Val Leu Thr	
	805 810

<210> 131

<211> 3206

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列

<400> 131

agtttcattg tcgccctgga cctgacagga gaggccatg gaacttgggg ccacaggcca	60
caagggacaa gggccagaca cccagccat ggctccaggc cattgatcca acctaagctg	120

gccagttggg	ggtggaaaga	ccttggcctg	gataaacaga	ggcctccagg	cctgtgtgca	180
ggccccgcac	ctaccttcca	ctcttgaaga	tgccgagatg	tttccagctc	ccctgttcta	240
ccaggatgcc	caccaccgag	gtcccccaag	cggctgatgg	tcagggcgat	gcgggtgatg	300
gagaggaagc	tgctgagcca	gaggggaagt	tcaagcccc	aaaaaacacc	aagagaaaaa	360
accgggacta	cgtccgcttc	acgccactgt	tgctggctct	ggctgcgctg	gtctcagcag	420
gggtcatgct	ttggtatttc	ctagggtaca	aagcgggaagt	gaccgtaagc	caggtgtact	480
ctggcagcct	ccgggtgctc	aaccgtcatt	tctcccagga	cctggggccga	cgggagtcta	540
ttgctttccg	cagtgaatct	gccaaagccc	agaagatgct	ccaagaactg	gttgccagca	600
cccgcctggg	tacttactac	aactctagtt	ctgtctactc	ctttggggag	ggaccacctca	660
cctgcttctt	ctggtttata	cttgacatcc	ctgagtacca	gcgactgacc	ctgagccctg	720
aagtagtgcg	cgagctcctg	gtggatgagc	tactgtccaa	cagctcaacc	ctggcttctt	780
ataagaccga	atatgaggtg	gacccggaag	gcctggatgat	cctggaagcc	agtgtgaacg	840
acatagtcgt	actgaattcc	acgttgggct	gttatcgcta	cagctatgtg	aaccagggcc	900
aggtcctccc	attgaagggg	cctgaccagc	agaccacaag	ctgcctgtgg	catctgcaag	960
ggcccgaaga	cctcatgata	aaagtgcggc	tggagtggac	ccgggtcgat	tgcagagaca	1020
gggtggcgat	gtacgacgca	gctgggcccc	tggagaagag	acttatcacc	tcggtctatg	1080
ggtgcagccg	ccaggaacct	gtgatggagg	tgctggcatc	gggctccgtc	atggccgtgg	1140
tgtggaaaaa	gggcatgcat	agctactatg	accctttcct	gctctcagtg	aagtctgtgg	1200
ccttccagga	ctgccaggtg	aacctgacac	tggagggccg	gctggacaca	cagggcttcc	1260
tccgtacacc	ctactacccc	agttactact	ctcccagtac	ccactgctcc	tggcatctca	1320
cggtaccctc	tctggactac	ggcttggcgc	tctggttcga	tgcctacgca	ctgaggaggc	1380
agaagtacaa	ccgactgtgt	actcagggcc	agtggatgat	ccagaacagg	aggctgtgtg	1440
gcttccgtac	cctgcagcca	tatgctgaga	ggatccccat	ggtggcctca	gatggtgtca	1500
ccatcaactt	cacctcccag	atctccctca	caggccccgg	tgtgcaagtg	tactacagct	1560
tgtacaacca	atcagacccc	tgccctgggtg	agttcctctg	ctctgtgaat	ggactgtgtg	1620
tccctgcgtg	tgacgggatc	aaggactgcc	ccaatggcct	ggatgagaga	aactgtgtct	1680
gcagagccat	gttccagtgc	caagaggaca	gcacgtgcat	ttcactgcct	agagtctgtg	1740
accggcagcc	cgactgtctc	aatggcagtg	acgaagaaca	gtgccaagaa	ggagtgcctt	1800
gtgggacatt	cactttccag	tgtgaggacc	ggagctgtgt	gaagaagccc	aaccagagtg	1860
gtgacggcca	gtcagattgc	agagacggct	cagatgagca	acactgtgac	tgtggcctcc	1920
agggcctctc	cagccgtatt	gtgggcggga	ccgtgtcctc	cgagggtgag	tggccatggc	1980
aggccagcct	ccagattcgg	ggtcgacaca	tctgtggggg	ggctctcatc	gctgaccgct	2040
gggtcataac	ggccgcccac	tgtttccagg	aggacagcat	ggcctccccg	aagctgtgga	2100
ccgtgttctt	gggaaaagatg	cggcagaact	cgcgtggcc	aggcgaggtg	tccttcaagg	2160
tgagccgtct	gttcttgac	ccgtaccacg	aggaggacag	ccatgactac	gacgtggccc	2220
tgtgcagct	cgaccacccc	gtggtgtact	cggccactgt	gcgccccgtc	tgcctgcctg	2280
cccgtccca	cttctttgag	ccaggccagc	actgctggat	cacaggctgg	ggagcccagc	2340
gagaggggtg	tccggtgagc	aacaccctgc	agaaggtgga	cgtacagctg	gtccctcagg	2400
acctctgcag	tgaggcctac	cgctaccagg	tgtccccacg	catgctctgt	gctggctacc	2460

gcaagggcaa gaaagatgcc tgccagggtg actctggagg cccactggtt tgcagggagc	2520
ccagtggccg ctggttcctg gcagggttgg ttagctgggg cctgggctgt ggccgaccca	2580
atttcttttg cgtctacacc cgtgtcacac gtgtgatcaa ctggatccag caggtgctga	2640
cctgagggct gttctacaga gctggacctg cctccaggcc aagttcaggg tgtccacca	2700
gccaggacac aagtattctg gggcaagtga ccctgctaag gcctgtttcc ctcaggccta	2760
ccccagtgac agtacagaga aggatgtcag ctgggtggta ggatgcctcc tgaggtccag	2820
gggccagcct cggtaggtt tcacttctaa ccttttctta ttctagtcct ttcccctccc	2880
tgctcctacc actgttttgg agtgggggtct ggcgggccatg accttggcct ccgggtctct	2940
gtaggaaaga aagaatcctt ccccttgcaa aagcctcttg ggggaactgc acagagaaag	3000
aaggtgcctc tatcaaggct ctatcagagc cttgagtct gccaagtggg ctgtactcta	3060
agccaaatca ccgggcagcc tcagctgcag atgcctgctg aagctctgcc tgctacaggg	3120
gcctccctgc cattcactgg aggcccactg tctgttctgg gaataaagca cttgaccaag	3180
ccctgacact gaaaaaaaaa aaaaaa	3206

雄性 $Hbb^{th3/+}$ 小鼠，4-8 周龄
每周一次 MAB 注射(8 周)
第一周：在第 0 天和第 3 天注射

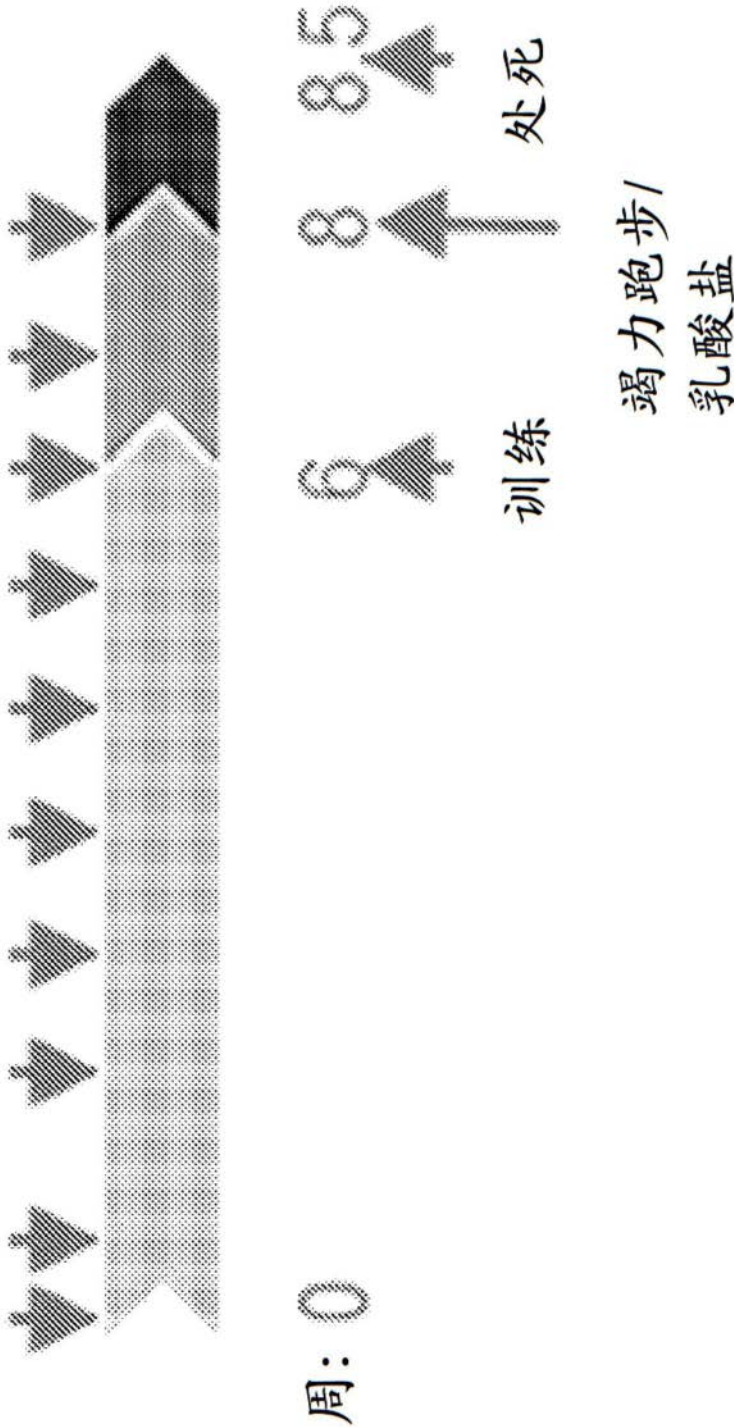


图1

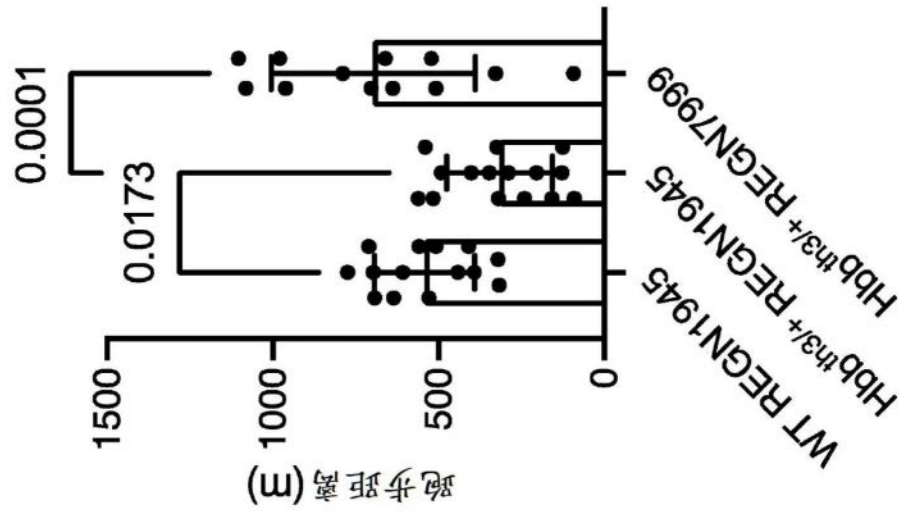


图2A

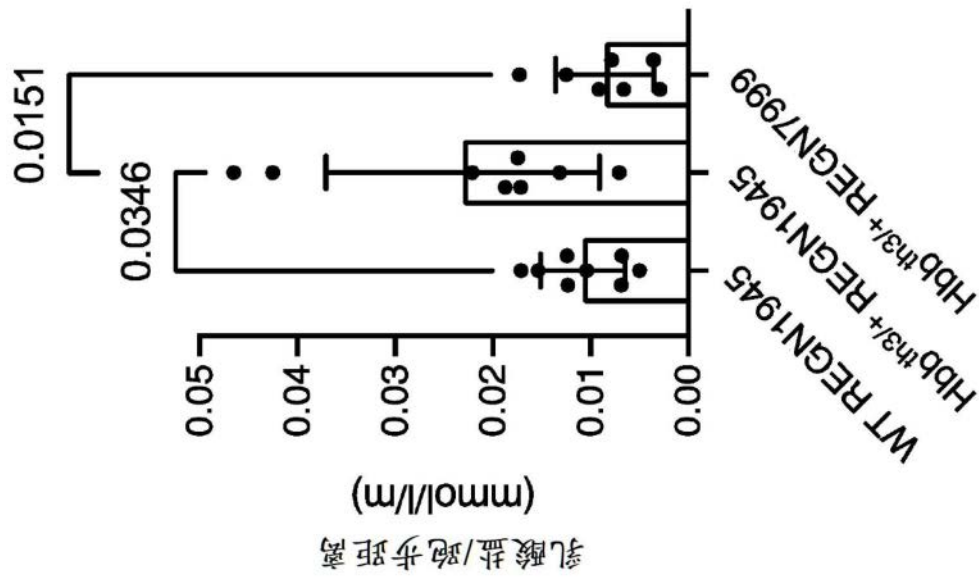


图2B

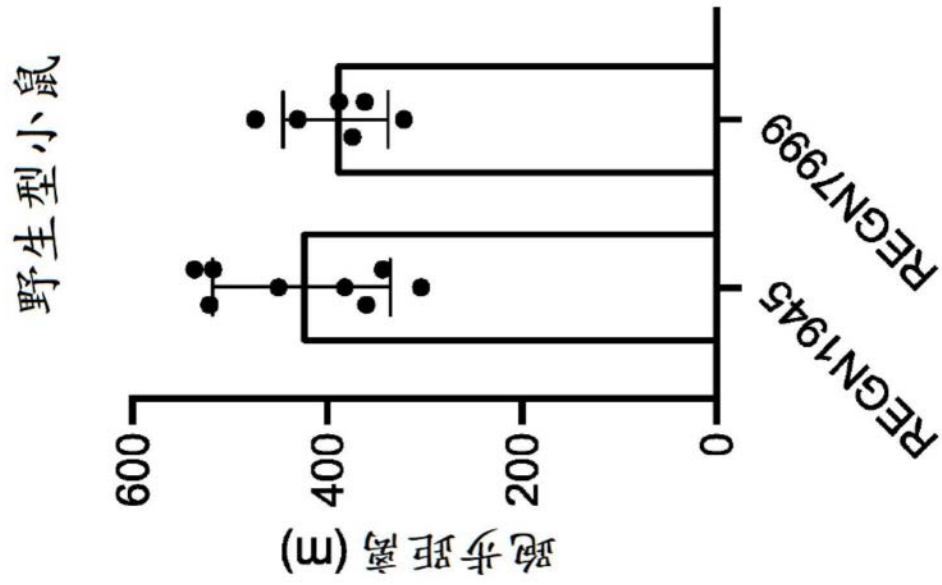


图3

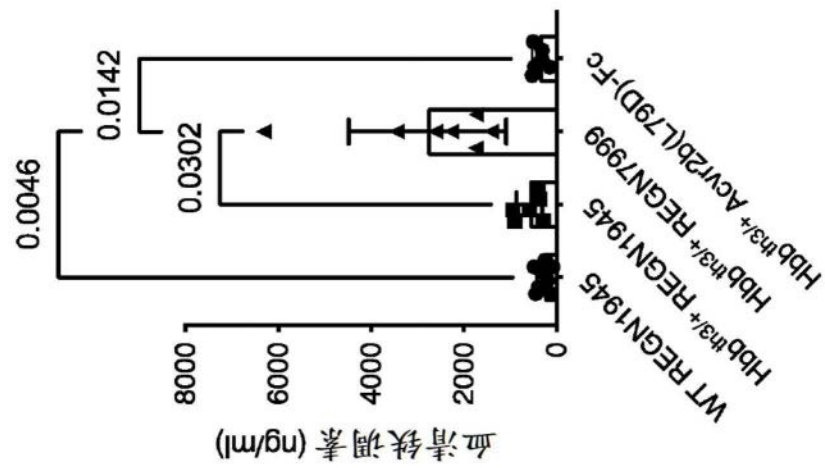


图4A

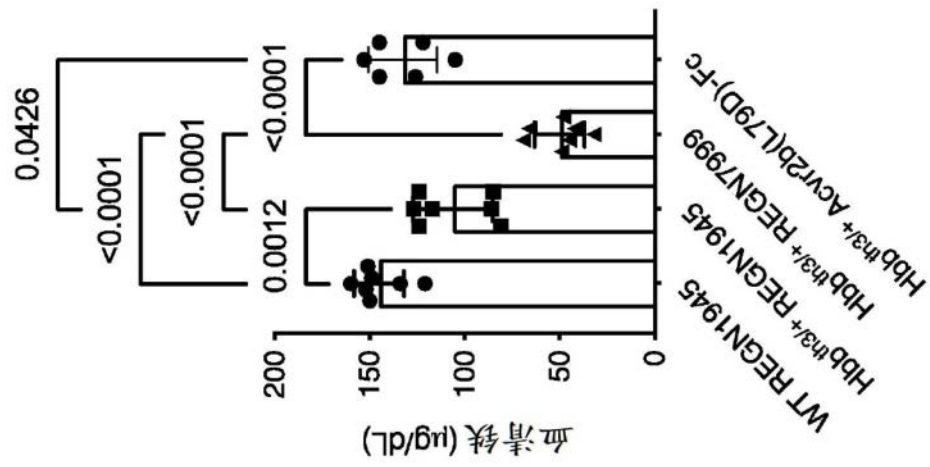


图4B

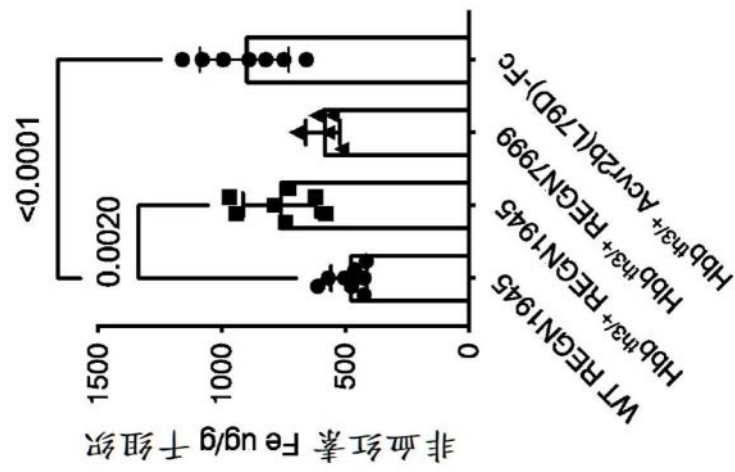


图4C

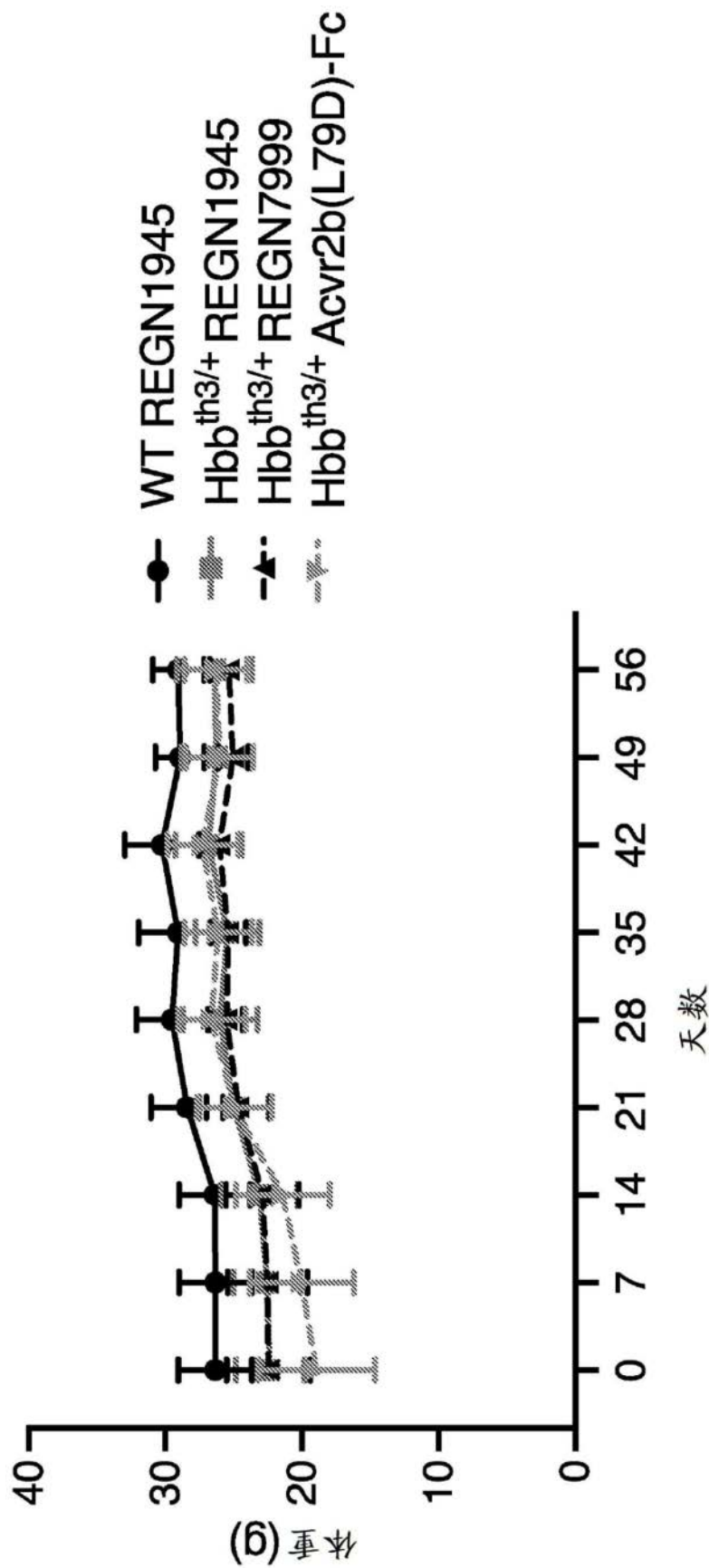


图5

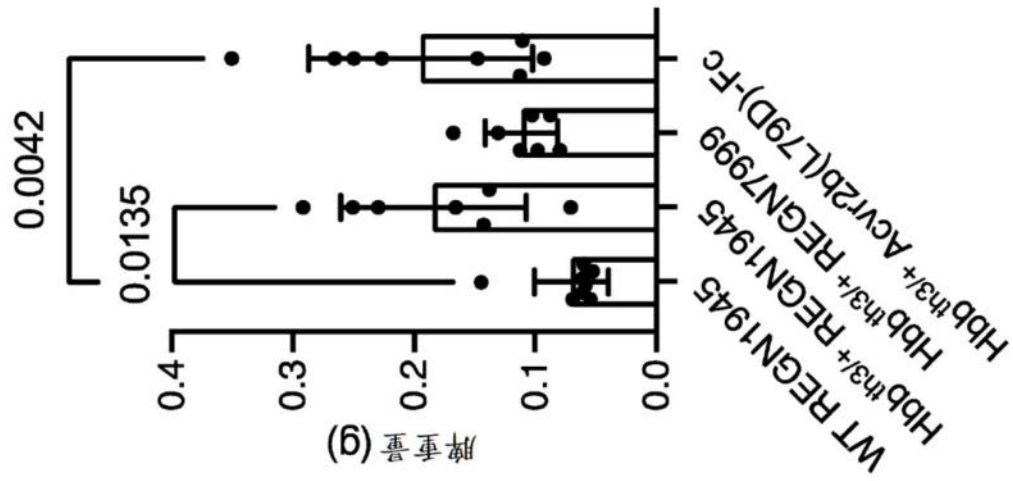


图6

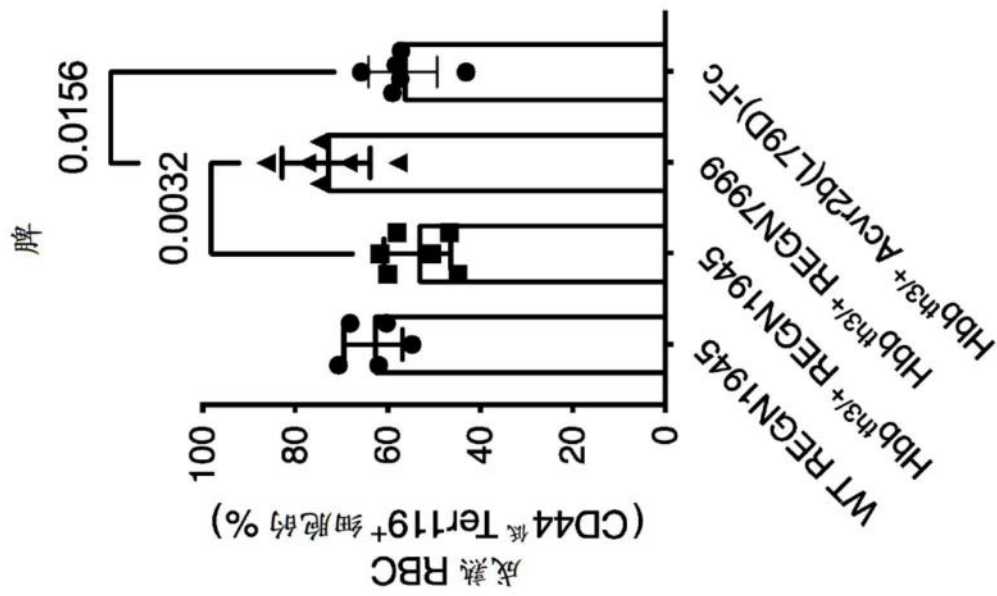


图7

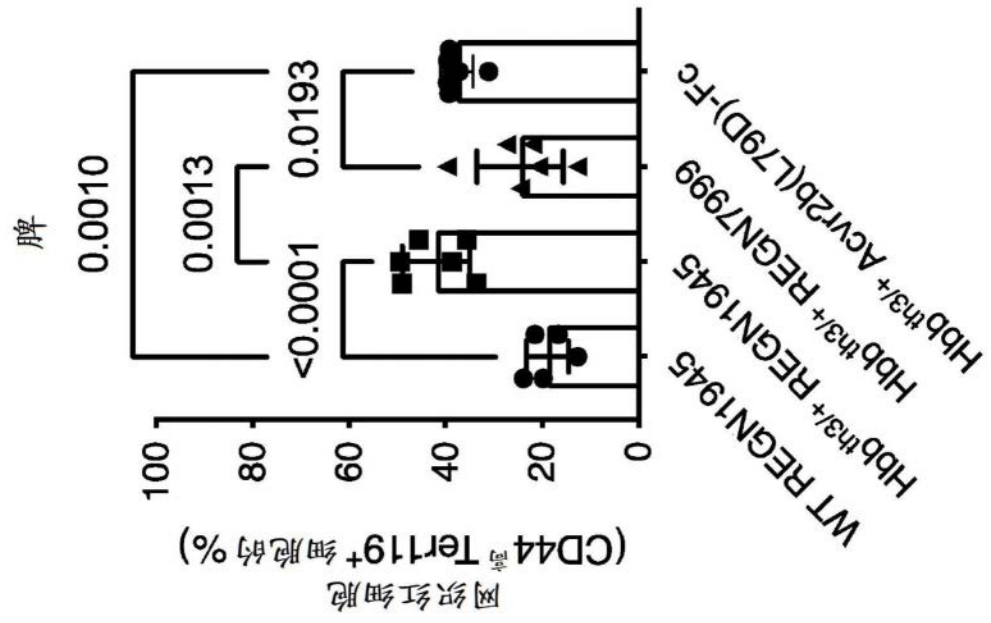


图8