



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102282168 A

(43) 申请公布日 2011. 12. 14

(21) 申请号 200980154509. 9

代理人 李丙林 张英

(22) 申请日 2009. 10. 14

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

C07K 14/76 (2006. 01)

61/115, 797 2008. 11. 18 US

A61K 38/38 (2006. 01)

PCT/US2009/040259 2009. 04. 10 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 07. 13

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/060721 2009. 10. 14

(87) PCT申请的公布数据

W02010/059315 EN 2010. 05. 27

(71) 申请人 梅里麦克制药股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 查尔洛特·麦克唐纳格

迈克尔·费尔德豪斯

亚历山大拉·胡哈洛夫

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

权利要求书 2 页 说明书 79 页

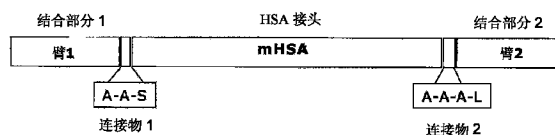
序列表 99 页 附图 41 页

(54) 发明名称

人血清白蛋白接头以及其结合物

(57) 摘要

本发明披露了一种人血清白蛋白 (HSA) 接头和与该 HSA 接头结合的结合剂、诊断剂、以及治疗剂。本发明还披露了一种结合物, 其中该 HAS 接头共价结合于作为第一和第二单链 Fv 分子 (scFv) 的氨基端和羧基端结合部分。示例性的结合物可用于例如减少肿瘤细胞增殖, 例如, 用于治疗应用。本发明还披露了 HSA 接头结合物的诊断和治疗应用的方法和试剂盒。



1. 一种 HSA 接头结合物, 包含:

i) 包含在 SEQ ID NO:6-15 中的任何一个所列出的氨基酸序列的人血清白蛋白 (HSA) 接头; 以及

ii) 选自抗体、单链 Fv 分子、双特异性单链 Fv((scFv')₂) 分子、域抗体、双抗体、三抗体、激素、Fab 片段、F(ab')₂ 分子、串联 scFv(taFv) 片段、受体、配体、适体、以及它们的生物活性片段组成的组中的第一和第二结合部分, 其中所述第一结合部分结合于所述 HSA 接头的氨基末端, 所述第二结合部分结合于所述 HSA 接头的羧基末端。

2. 根据权利要求 1 所述的 HSA 接头结合物, 其中所述 HSA 接头包含在 SEQ ID NO:1 中所列出的氨基酸序列。

3. 根据权利要求 1 所述的 HSA 接头结合物, 其中, 所述第一结合部分特异性地结合 ErbB3, 所述第二结合部分特异性地结合 ErbB2。

4. 具有或包含 SEQ ID NO:16 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-1。

5. 具有或包含 SEQ ID NO:17 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-2。

6. 具有或包含 SEQ ID NO:18 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-3。

7. 具有或包含 SEQ ID NO:19 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-4。

8. 具有或包含 SEQ ID NO:20 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-5。

9. 具有或包含 SEQ ID NO:21 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-6。

10. 具有或包含 SEQ ID NO:22 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-7。

11. 具有或包含 SEQ ID NO:23 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-8。

12. 具有或包含 SEQ ID NO:24 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-9。

13. 具有或包含 SEQ ID NO:25 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-10。

14. 根据权利要求 1-13 中任一项所述的 HSA 接头结合物与药用载体、赋形剂、或稀释剂混合。

15. 一种用于治疗患有疾病或紊乱的患者的方法, 其中所述方法包括向所述哺乳动物给予有效量的权利要求 1-13 中任一项所述的 HSA 接头结合物。

16. 一种组合物, 包含与一种或多种治疗剂联用的权利要求 1-13 中任一项所述的 HSA 接头结合物, 所述治疗剂选自以下组成的组中: 环磷酰胺、喜树碱、高喜树碱、秋水仙碱、combrestatin、combrestatin、根霉素、多拉司他汀 (dolistatin)、安丝菌素 p3、类美登碱、auristatin、卡奇霉素 (calechimicin)、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶 (5-FU)、多柔比星、紫杉醇、多西他赛、顺铂、卡铂、他莫昔芬、雷洛昔芬、来曲唑、表柔比星、贝伐单抗、帕妥珠单抗、曲妥珠单抗、以及它们的衍生物。

17. 根据权利要求 16 所述的组合物, 其中, 所述治疗剂是曲妥珠单抗。

18. 根据权利要求 16 所述的组合物, 其中, 所述 HSA 接头结合物是具有或包含 SEQ ID NO:16 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-1。

19. 根据权利要求 16 所述的组合物, 其中, 所述治疗剂是曲妥珠单抗且所述 HSA 接头结合物是具有或包含 SEQ ID NO:16 的氨基酸序列的 HSA 接头结合物 B2B3-1。

20. 根据权利要求 19 所述的组合物, 其中, 当以第一剂量的所述治疗剂和第二剂量的所述 HSA 接头结合物利用人乳腺癌细胞在裸鼠人异种移植模型中进行测试时, 所述组合提供的效力比仅以第一剂量的所述治疗剂或仅以第二剂量的所述 HSA 接头结合物在所述相

同的模型中提供的效力更大。

21. 根据权利要求 20 所述的组合物, 剂量形式为给予受治疗者以提供至少 3mg/kg 的 B2B3-1 和至少 0.1mg/kg 的曲妥珠单抗。

22. 根据权利要求 21 所述的组合物, 剂量形式为适合于给予受治疗者以提供 3mg/kg 的 B2B3-1 和 0.1mg/kg 的曲妥珠单抗。

23. 根据权利要求 21 所述的组合物, 剂量形式为适合于给予受治疗者以提供 10mg/kg 的 B2B3-1 和 1mg/kg 的曲妥珠单抗。

24. 根据权利要求 22 所述的组合物, 其中, 向受治疗者给予 3mg/kg 的 B2B3-1 和 0.1mg/kg 的曲妥珠单抗比仅用 3mg/kg 的 B2B3-1 或仅用 0.1mg/kg 的曲妥珠单抗对匹配受治疗者的治疗更有效。

25. 根据权利要求 23 所述的组合物, 其中, 向受治疗者给药以提供 10mg/kg 的 B2B3-1 和 1mg/kg 的曲妥珠单抗比仅用 10mg/kg 的 B2B3-1 或仅用 1mg/kg 的曲妥珠单抗对匹配受治疗者的治疗更有效。

26. 根据权利要求 22 所述的组合物, 其中, 当向多个受治疗者给药以为每一个提供 3mg/kg 的 B2B3-1 和 0.1mg/kg 的曲妥珠单抗时, 在 20 天后会诱导超过 10% 的所述受治疗者体内的肿瘤消退。

27. 根据权利要求 23 所述的组合物, 其中, 当向多个受治疗者给药以为每一个提供 10mg/kg 的 B2B3-1 和 1mg/kg 的曲妥珠单抗时, 在 20 天后会诱导至少 50% 的所述受治疗者体内的肿瘤消退。

28. 根据权利要求 16 所述的组合物, 其中, 所述治疗剂是拉帕替尼。

29. 根据权利要求 16 所述的组合物, 其中, 所述治疗剂是紫杉烷。

30. 根据权利要求 29 所述的组合物, 其中, 所述治疗剂是多西他赛。

31. 根据权利要求 16 所述的组合物, 其中, 所述治疗剂是来曲唑。

32. 根据权利要求 3 所述的 HSA 接头结合物, 其中, 所述第一结合部分以约 16nM 的 K_d 结合 ErbB3 且所述第二结合部分以约 0.3nM 的 K_d 结合 ErbB2。

33. 一种治疗受治疗者的方法, 所述受治疗者需要肿瘤治疗, 所述治疗包括向所述受治疗者给予有效量的权利要求 1-14 和 32 中任一项所述的 HSA 接头结合物。

34. 一种治疗受治疗者的方法, 所述受治疗者需要肿瘤治疗, 所述治疗包括向所述受治疗者给予有效量的权利要求 16-30 中任一项所述的组合物。

35. 权利要求 1-14 和 32 中任一项所述的 HSA 接头结合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的应用。

36. 权利要求 16-30 中任一项所述的组合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的应用。

人血清白蛋白接头及其结合物

技术领域

[0001] 本发明提供了人血清白蛋白 (HSA) 接头结合物以及其结合、诊断、和治疗结合物。在一个实施方式中, HSA 接头包括两种氨基酸取代。另一个实施方式是其中 HSA 接头共价结合于氨基和羧基端结合部分的结合物, 该氨基和羧基端结合部分是第一和第二单链 Fv 分子 (scFv)。示例性的结合物可用于, 例如减少肿瘤细胞增殖, 例如用于治疗应用。本发明进一步提供了用于制备和给予诊断和治疗 HSA 接头结合物的方法。

背景技术

[0002] 抗体样结合部分 (包括完整抗体中的那些抗体样结合部分, 抗体片段、以及 scFv) 经常被用于治疗应用。抗体片段和 scFv 通常表现出比完整抗体更短的血清半衰期, 并且在一些治疗应用中, 增加具有这样的片段和 scFv 功能的治疗剂的体内半衰期是合乎需要的。

[0003] 人血清白蛋白 (HSA) 是一种约 66, 500kD 的蛋白质, 由包括至少 17 个二硫桥的 585 个氨基酸构成。正如白蛋白家族的许多成员, 人血清白蛋白在人生理学上具有重要作用并且基本上出现在每个人体组织和身体分泌物中。HSA 能够结合并转运许多种循环系统中的配体, 包括长链脂肪酸, 其否则不溶于循环血浆。

[0004] 血清白蛋白属于蛋白质家族, 其包括 α -甲胎蛋白和人类群体特异性成分, 还称作维生素 D 结合蛋白。血清白蛋白是循环系统主要的可溶性蛋白并且有助于许多重要的生理过程。血清白蛋白通常包含按干重计约 50% 的总血液成分。白蛋白以及它们的相关血液蛋白在人体中在许多内源性和外源性配体的转运、分布、以及代谢方面还具有重要作用, 包括各种各样的化学上不同的分子, 如脂肪酸、氨基酸、类固醇、钙、金属如铜和锌、以及各种药剂。通常认为白蛋白家族分子会促进许多这些配体转移穿过器官循环界面, 如肝、肠、肾、以及脑。因此白蛋白涉及各种各样的循环和代谢功能。

发明内容

[0005] 第一方面, 本发明提供了一种 HSA 接头结合物, 该 HSA 接头结合物包括人血清白蛋白 (HSA) 接头 (linker), 上述接头包括 SEQ ID NO: 6-15 中的任何一个所列出的氨基酸序列以及第一和第二结合部分, 该第一和第二结合部分选自抗体、单链 Fv 分子、双特异性单链 Fv ((scFv')₂) 分子、域抗体、双抗体、三抗体、激素、Fab 片段、F(ab')₂ 分子、串联 scFv (taFv) 片段、受体 (例如, 细胞表面受体)、配体、适体、以及它们的生物活性片段, 其中第一结合部分结合于 HSA 接头的氨基末端而第二结合部分结合于 HSA 接头的羧基末端。在一个实施方式中, 第一结合部分特异性地结合 ErbB3 而第二结合部分特异性地结合 ErbB2。在其它实施方式中, HSA 接头包含在 SEQ ID NO: 1、9、10、14 或 15 中所列出的氨基酸序列。

[0006] 第二方面, 三个或更多结合部分 (binding moieties) (例如, 4、5、6、7、8、9、10、或更多个) 可以包括在药剂中; 可以将这些另外的结合部分加入药剂中, 例如, 以与第一或第二结合部分串联的形式 (例如, 2、3、4、或 5 或更多个串联)。

[0007] 第三方面, 本发明提供了一种 HSA 接头, 该接头包含相对于在 SEQ ID NO: 1 中列出

的序列具有至少 90% 序列同一性的氨基酸序列,以及在 SEQ ID NO:1 中所列出的氨基酸序列在位置 34 处的丝氨酸残基和在位置 503 处的谷氨酰胺残基。在一个实施方式中,氨基酸序列相对于在 SEQ ID NO:1 中所列出的序列具有至少 95% 序列同一性。在另一个实施方式中,HSA 接头包含在 SEQ ID NO:1 中所列出的氨基酸序列。在另一实施方式中,HSA 接头具有在 SEQ ID NO:1 中列出的氨基酸序列。

[0008] 第四方面,本发明提供了一种 HSA 接头结合物,该 HSA 接头结合物包括 HSA 接头,其相对于在 SEQ ID NO:1 中列出的序列具有至少 90% 氨基酸序列同一性,以及至少第一结合部分。在一个实施方式中,该 HSA 接头结合物包括第一肽连接物 (connector),该连接物将第一结合部分结合于 HSA 接头。

[0009] 第五方面,本发明的特征在于一种 HSA 接头结合物,该 HSA 接头结合物包括 HSA 接头,其具有在 SEQ ID NO:11-15 中的任何一个列出的氨基酸序列、或这些序列的任何之一的片段或变体,以及至少第一结合部分。

[0010] 本发明的第四或第五方面的某些实施方式中,上述 HSA 接头结合物进一步包括第一肽连接物 (例如,AAS、AAQ、或 AAAL (SEQ ID NO:5)),该连接物将第一结合部分结合于 HSA 接头的氨基或羧基末端。在一个实施方式中,第一连接物将第一结合部分共价结合于 HSA 接头。

[0011] 本发明的第四或第五方面的某些实施方式中,上述 HSA 接头结合物进一步包括至少第二结合部分。在一个实施方式中,上述 HSA 接头结合物进一步包括第二肽连接物 (例如,AAS、AAQ、或 AAAL (SEQ ID NO:5)),该连接物将第二结合部分结合于 HSA 接头。在其它实施方式中,第二连接物将第二结合部分结合于 HSA 接头的氨基或羧基末端。在又一个实施方式中,第二连接物将第二结合部分共价结合于 HSA 接头。在其它实施方式中,上述 HSA 接头结合物进一步包括与第一或第二结合部分串联的三个或更多结合部分;上述三个或更多结合部分可以进一步包括连接物序列,该连接物序列使三个或更多结合部分连接于第一或第二结合部分以及使三个或更多结合部分彼此连接。

[0012] 本发明的第四或第五方面的某些实施方式中,上述 HSA 接头结合物包括第一肽连接物,该连接物将第一结合部分共价结合于 HSA 接头的氨基末端,以及第二肽连接物,该连接物将第二结合部分共价结合于 HSA 接头的羧基末端。在一个实施方式中,第一连接物具有氨基酸序列 AAS 或 AAQ,以及第二连接物具有在 SEQ ID NO:5 中列出的氨基酸序列。

[0013] 本发明的第四或第五方面的某些实施方式中,第一或第二结合部分 (或第三或更多结合部分) 是抗体、单链 Fv 分子、双特异性单链 Fv ((scFv')₂) 分子、域抗体、双抗体、三抗体、激素、Fab 片段、F(ab')₂ 分子、串联 scFv (taFv) 片段、受体 (例如,细胞表面受体)、配体、适体、或它们的生物活性片段。在其它实施方式中,本发明提供的 HSA 接头结合物包括这些不同类型的结合部分的组合。在一个实施方式中,至少第一或第二结合部分是人或人源化单链 Fv 分子。

[0014] 在本发明的第一、第二、第三、第四、或第五方面的任何一方面的一个实施方式中,第一或第二结合部分 (或者,如果存在的话,第三或另外结合部分) 的一个或多个是或特异性地结合于选自以下的蛋白质,选自由胰岛素样生长因子 1 受体 (IGF 1R)、IGF2R、胰岛素样生长因子 (IGF)、间充质上皮转化因子受体 (c-met; 还称作肝细胞生长因子受体 (HGFR))、肝细胞生长因子 (HGF)、表皮生长因子受体 (EGFR)、表皮生长因子 (EGF)、神

经生长因子、成纤维细胞生长因子受体 (FGFR)、血小板衍生生长因子受体 (PDGFR)、血小板衍生生长因子 (PDGF)、血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、血管内皮生长因子 (VEGF)、肿瘤坏死因子受体 (TNFR)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、TNF- β 、叶酸受体 (FOLR)、叶酸转铁蛋白受体 (TfR)、间皮素、Fc 受体、c-kit 受体、c-kit、整联蛋白 (例如, $\alpha 4$ 整联蛋白或 $\beta 1$ 整联蛋白)、P-选择素、鞘氨醇-1-磷酸受体-1 (S1PR)、透明质酸受体、白细胞功能抗原-1 (LFA-1)、CD4、CD11、CD18、CD20、CD25、CD27、CD52、CD70、CD80、CD85、CD95 (Fas 受体)、CD106 (血管细胞粘附分子 1 (VCAM1)、CD166 (活化白细胞粘附分子 (ALCAM))、CD178 (Fas 配体)、CD253 (TNF 相关凋亡诱导配体 (TRAIL))、ICOS 配体、CCR2、CXCR3、CCR5、CXCL12 (基质细胞衍生因子 1 (SDF-1))、白细胞介素 1 (IL-1)、CTLA-4、MART1、gp100、MAGE-1、ephrin (Eph) 受体、黏膜地址素细胞黏附分子 1 (MAdCAM-1)、癌胚抗原 (CEA)、Lewis^x、MUC-1、上皮细胞粘附分子 (EpCAM)、癌抗原 125 (CA125)、前列腺特异性膜抗原 (PSMA)、TAG-72 抗原、以及它们的片段组成的组。在又一个实施方式中,第一或第二结合部分 (或者,如果存在的话,第三或另外结合部分) 的一个或多个是或特异性地结合于成红细胞白血病病毒 (erythroblastic leukemia viral) 致癌基因同源物 (ErbB) 受体 (例如, ErbB1 受体; ErbB2 受体; ErbB3 受体; 以及 ErbB4 受体)。在另一个实施方式中,第一或第二结合部分 (或者,如果存在的话,第三或另外结合部分) 的一个或多个是或特异性地结合于 α -甲胎蛋白 (AFP) 或干扰素、或它们的生物活性片段。在又一个实施方式中,第一或第二结合部分 (或者,如果存在的话,第三或另外结合部分) 的一个或多个是那他珠单抗、英夫利昔单抗、阿达木单抗、利妥昔单抗、阿仑单抗、贝伐单抗、达珠单抗、依法利珠单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗、曲妥珠单抗、阿巴他塞、依那西普、帕妥珠单抗、西妥昔单抗、帕尼单抗 (panitumumab)、或阿那白滞素。

[0015] 本发明的第一、第二、第三、第四、或第五方面的任何一方面,将 HSA 接头结合物连接于诊断剂、治疗剂、或两者。在一个实施方式中,诊断剂是可检测标记,如放射性标记、荧光标记、或重金属标记。在另一个实施方式中,治疗剂是细胞毒性剂、细胞生长抑制剂、或免疫调节剂。细胞毒性剂包括烷化剂、抗生素、抗肿瘤剂、抗增殖剂、抗代谢物、微管蛋白抑制剂、拓扑异构酶 I 或 II 抑制剂、激素激动剂或拮抗剂、免疫调节剂、DNA 小沟结合剂、以及放射剂、或能够结合于肿瘤细胞并杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞增殖的任何药剂。抗肿瘤剂包括环磷酰胺、喜树碱、高喜树碱、秋水仙碱、combrestatin、combrestatin、根霉素、多拉司他汀 (dolistatin)、安丝菌素 p3、类美登碱 (类美坦素, maytansinoid)、auristatin、卡奇霉素 (calechimicin)、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶 (5-FU)、多柔比星、紫杉醇、多西他赛、顺铂、卡铂、他莫昔芬、雷洛昔芬、来曲唑、表柔比星、贝伐单抗、帕妥珠单抗、曲妥珠单抗、以及它们的衍生物。

[0016] 本发明的第一、第二、第三、第四、或第五方面的任何一方面, HSA 接头结合物与药用载体、赋形剂、或稀释剂混合。在一个实施方式中,药剂具有 6 小时至 7 天的体内半衰期。在另一个实施方式中,药剂具有大于 8 小时的体内半衰期。

[0017] 第六方面,本发明的特征在于一种用于治疗患有疾病或障碍的哺乳动物的方法,该方法包括给予在本发明中描述的任何一种 HSA 接头结合物。在一个实施方式中,疾病或障碍与通过细胞表面受体的细胞信号传导有关。在另一个实施方式中,哺乳动物是人。在又一个实施方式中,疾病或障碍是增生性或自身免疫性疾病。增生性疾病包括这样的癌症,

例如黑色素瘤、透明细胞肉瘤、头部和颈部癌症、膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胃癌、胰腺癌、肾癌、前列腺癌、涎腺癌、肺癌、肝癌、皮肤癌、以及脑癌。自身免疫病包括多发性硬化、银屑病、重症肌无力、葡萄膜炎、系统性红斑狼疮、以及类风湿性关节炎。在一个实施方式中，连同一种或多种治疗剂，如抗肿瘤剂，给予 HSA 接头结合物。

[0018] 第七方面，本发明的特征在于一种用于制备 HSA 接头结合物的方法，该方法包括分别将至少第一结合部分结合于 HSA 接头的氨基末端并将第二结合部分结合于 HSA 接头的羧基末端，该 HSA 接头具有在 SEQ ID NO :1、3、或 6-15 中的任何一个列出的氨基酸序列、或相对于在 SEQ ID NO :1、3、或 6-15 中的任何一个列出的序列具有至少 90%、95%、97%、或 100% 序列同一性的序列。在一个实施方式中，第一或第二结合部分共价连接于 HSA 接头的氨基或羧基末端。在其它实施方式中，第三或另外的结合部分（例如，第四、第五、第六、第七、第八、第九、或第十结合部分）以与第一或第二结合部分串联的形式共价连接于 HSA 接头的氨基或羧基末端。在另一个实施方式中，第一或第二结合部分（或者，如果存在的话，第三或另外结合部分）的一个或多个是抗体、单链 Fv 分子、双特异性单链 Fv((scFv')₂) 分子、域抗体、双抗体、三抗体、激素、Fab 片段、F(ab')₂ 分子、串联 scFv(taFv) 片段、受体（例如，细胞表面受体）、配体、或适体。在另一个实施方式中，第一或第二结合部分（或者，如果存在的话，第三或另外结合部分）是人或人源化单链 Fv 分子。在又一个实施方式中，第一或第二结合部分（或者，如果存在的话，第三或另外结合部分）的一个或多个是或特异性地结合于胰岛素样生长因子 1 受体 (IGF1R)、IGF2R、胰岛素样生长因子 (IGF)、间充质上皮转化因子受体 (c-met ;还称作肝细胞生长因子受体 (HGFR))、肝细胞生长因子 (HGF)、表皮生长因子受体 (EGFR)、表皮生长因子 (EGF)、神经生长因子、成纤维细胞生长因子受体 (FGFR)、血小板衍生生长因子受体 (PDGFR)、血小板衍生生长因子 (PDGF)、血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、血管内皮生长因子 (VEGF)、肿瘤坏死因子受体 (TNFR)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、TNF- β 、叶酸受体 (FOLR)、叶酸转铁蛋白受体 (TfR)、间皮素、Fc 受体、c-kit 受体、c-kit、整联蛋白（例如， α 4 整联蛋白或 β -1 整联蛋白）、P- 选择素、鞘氨醇-1- 磷酸受体-1 (S1PR)、透明质酸受体、白细胞功能抗原-1 (LFA-1)、CD4、CD11、CD18、CD20、CD25、CD27、CD52、CD70、CD80、CD85、CD95 (Fas 受体)、CD106 (血管细胞粘附分子 1 (VCAM1)、CD166 (活化白细胞粘附分子 (ALCAM))、CD178 (Fas 配体)、CD253 (TNF 相关凋亡诱导配体 (TRAIL))、ICOS 配体、CCR2、CXCR3、CCR5、CXCL12 (基质细胞衍生因子 1 (SDF-1))、白细胞介素 1 (IL-1)、CTLA-4、MART-1、gp100、MAGE-1、ephrin (Eph) 受体、黏膜地址素细胞黏附分子 1 (MAdCAM-1)、癌胚抗原 (CEA)、Lewis^x、MUC-1、上皮细胞粘附分子 (EpCAM)、癌抗原 125 (CA125)、前列腺特异性膜抗原 (PSMA)、TAG-72 抗原、以及它们的片段。在又一个实施方式中，第一或第二结合部分（或者，如果存在的话，第三或另外结合部分）的一个或多个是或特异性地结合于成红细胞白血病病毒致癌基因同源物 (ErbB) 受体（例如，ErbB1 受体 ;ErbB2 受体 ;ErbB3 受体 ;以及 ErbB4 受体）。在另一个实施方式中，第一或第二结合部分（或者，如果存在的话，第三或另外结合部分）的一个或多个是或特异性地结合于 α - 甲胎蛋白 (AFP) 或干扰素、或它们的生物活性片段。在又一个实施方式中，第一或第二结合部分（或者，如果存在的话，第三或另外结合部分）的一个或多个是那他珠单抗、英夫利昔单抗、阿达木单抗、利妥昔单抗、阿仑单抗、贝伐单抗、达珠单抗、依法利珠单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗、曲妥珠单抗、阿巴他塞、依那西普、帕妥珠单抗、西妥昔单抗、

帕尼单抗 (panitumumab)、或阿那白滞素。在另一个实施方式中,药剂连接于诊断或治疗剂。在一个实施方式中,诊断剂是可检测标记,如放射性标记、生物发光标记、荧光标记、重金属标记、或表位标签。在另一个实施方式中,治疗剂是细胞毒性剂、细胞生长抑制剂、或免疫调节剂。细胞毒性剂包括烷化剂、抗生素、抗肿瘤剂、抗增殖剂、抗代谢物、微管蛋白抑制剂、拓扑异构酶 I 和 II 抑制剂、激素激动剂或拮抗剂、免疫调节剂、DNA 小沟结合剂、以及放射剂、或能够结合于肿瘤细胞并杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞增殖的任何药剂。抗肿瘤剂包括环磷酰胺、喜树碱、高喜树碱、秋水仙碱、combrestatin、combrestatin、根霉素、多拉司他汀 (dolistatin)、安丝菌素 p3、类美登碱 (类美坦素)、auristatin、卡奇霉素 (calechimicin)、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶 (5-FU)、多柔比星、紫杉醇、多西他赛、顺铂、卡铂、他莫昔芬、雷洛昔芬、来曲唑、表柔比星、贝伐单抗、帕妥珠单抗、曲妥珠单抗、以及它们的衍生物。在又一个实施方式中,药剂与药用载体、赋形剂、或稀释剂混合。

[0019] 第八方面,本发明的特征在于一种用于制备 HSA 接头的方法,该方法包括用能够化学修饰的取代氨基酸取代在 SEQ ID NO :1、3、以及 6-15 中的任何一个列出的氨基酸序列中的一个或多个表面暴露的氨基酸残基,其中上述化学修饰便于诊断或治疗剂的结合。在一个实施方式中,取代氨基酸是半胱氨酸而表面暴露的氨基酸残基是丝氨酸或苏氨酸。在另一个实施方式中,化学修饰导致取代氨基酸和诊断或治疗剂之间的共价结合。在又一个实施方式中,表面暴露的氨基酸残基是在位置 496 处的苏氨酸、在位置 58 处的丝氨酸、在位置 76 处的苏氨酸、在位置 79 处的苏氨酸、在位置 83 处的苏氨酸、在位置 125 处的苏氨酸、在位置 236 处的苏氨酸、在位置 270 处的丝氨酸、在位置 273 处的丝氨酸、在位置 304 的丝氨酸、在位置 435 处的丝氨酸、在位置 478 处的苏氨酸、在位置 506 处的苏氨酸、或在位置 508 处的苏氨酸。

[0020] 第九方面,本发明的特征在于一种用于制备 HSA 接头的方法,该方法包括用天冬酰胺、丝氨酸、或苏氨酸取代在 SEQ ID NO :1、3、以及 6-15 中的任何一个列出的氨基酸序列中的一个或多个残基,从而在 HSA 剂中包含糖基化位点。

[0021] 第十方面,本发明的特征在于一种用于制备 HSA 接头的方法,该方法包括用不同于天冬酰胺、丝氨酸、或苏氨酸的任何氨基酸取代在 SEQ ID NO :1、3、以及 6-15 中的任何一个列出的氨基酸序列中的一个或多个天冬酰胺、丝氨酸、或苏氨酸残基,从而从 HSA 剂除去糖基化位点。

[0022] 第十一方面,本发明的特征在于一种 HSA 接头,该 HSA 接头包含相对于在 SEQ ID NO :16-25 中列出的氨基酸序列之一具有至少 90% 序列同一性的序列。在一个实施方式中,上述 HSA 接头相对于在 SEQ ID NO :16-25 中列出的氨基酸序列之一具有至少 95% 序列同一性。在另一个实施方式中,上述 HSA 接头包含具有在 SEQ ID NO :16-25 中列出的氨基酸序列之一。在另一个实施方式中,该 HSA 接头具有在 SEQ ID NO :16-25 中列出的氨基酸序列之一。

[0023] 在又一个实施方式中,该 HSA 接头或 HSA 接头结合物连接于诊断或治疗剂。诊断剂包括可检测标记,如放射性标记、生物发光标记、荧光标记、或重金属标记、或表位标签。可以用作可检测标记的荧光分子包括绿色荧光蛋白 (GFP)、增强的 GFP (eGFP)、黄色荧光蛋白 (YFP)、青色荧光蛋白 (CFP)、红色荧光蛋白 (RFP)、以及 dsRed。在一个实施方式中,生物发光分子是荧光素酶。在另一个实施方式中,表位标签是 c-myc、血凝素、或组氨酸标签。

在又一个实施方式中,治疗剂是细胞毒性多肽如细胞色素 c、半胱天冬酶 1-10、颗粒酶 A 或 B、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、TNF- β 、Fas、Fas 配体、Fas 相关死亡域样 IL-1 β 转化酶 (FLICE)、TRAIL/APO2L、TWEAK/APO3L、Bax、Bid、Bik、Bad、Bak、RICK、血管凋亡诱导蛋白 1 和 2 (VAP1 和 VAP2)、pierisin、凋亡诱导蛋白 (AIP)、IL-1 α 前片段多肽 (IL-1 α propiece polypeptide)、凋亡蛋白、凋亡蛋白相关蛋白 1 (AAP-1)、内皮生长抑素、血管生长抑素、以及它们的生物活性片段。HSA 接头或 HSA 接头结合物可以合并于 (例如连接于或在药物组合物中与其混合) 一种或多种治疗剂如环磷酰胺、喜树碱、高喜树碱、秋水仙碱、combrestatin、combrestatin、根霉素、多拉司他汀 (dolistatin)、安丝菌素 p3、类美登碱 (类美坦素)、auristatin、卡奇霉素 (calechimicin)、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶 (5-FU)、多柔比星、紫杉醇、多西他赛、顺铂、卡铂、他莫昔芬、雷洛昔芬、来曲唑、表柔比星、贝伐单抗、帕妥珠单抗、曲妥珠单抗、以及它们的衍生物。

[0024] 在本文所述任何方面的一个实施方式中,第一和第二结合部分 (以及,如果存在的话,一个或多个第三或另外结合部分) 特异性地结合相同的靶分子。在任何方面的另一个实施方式中,第一和第二结合部分 (以及,如果存在的话,一个或多个第三或另外结合部分) 特异性地结合不同的靶分子。在任何方面的又一个实施方式中,第一和第二结合部分 (以及,如果存在的话,一个或多个第三或另外结合部分) 特异性地结合在相同靶分子上的不同表位。

[0025] 第十二方面,本发明的特征在于一种 HSA 接头,该 HSA 接头包含在 SEQ ID NO:1 中列出的氨基酸序列的氨基酸残基 25-44 和 494-513 中的一个或两个。在一个实施方式中,HSA 接头包含在 SEQ ID NO:1 中列出的氨基酸序列的氨基酸残基 25-70 和 450-513。在另一个实施方式中,HSA 接头包含在 SEQ ID NO:1 中列出的氨基酸序列的氨基酸残基 15-100 和 400-520。在又一个实施方式中,HSA 接头包含在 SEQ ID NO:1 中列出的氨基酸序列的氨基酸残基 10-200 和 300-575。在另一个实施方式中,HSA 接头包含在 SEQ ID NO:1 中列出的氨基酸序列的氨基酸残基 5-250 和 275-580。

[0026] 本发明的第十二方面,为了形成 HSA 接头结合物,使该 HSA 接头连接于至少第一结合部分。在一个实施方式中,HSA 接头结合物包括至少第一肽连接物,该连接物将第一结合部分结合于 HSA 接头的氨基或羧基末端。在另一个实施方式中,第一肽连接物将第一结合部分共价结合于 HSA 接头。在又一个实施方式中,HSA 接头包括第二结合部分。在一个实施方式中,HSA 接头包括第二肽连接物,该连接物将第二结合部分结合于 HSA 接头。在其它实施方式中,第二连接物使第二结合部分结合于 HSA 接头的氨基或羧基末端。在又一个实施方式中,第二连接物使第二结合部分共价结合于 HSA 接头。在其它实施方式中,HSA 接头包括第三、第四、第五、第六、第七、第八、第九、或第十结合部分。在其它实施方式中,这些另外的结合部分是以与第一或第二结合部分之一或两者串联的形式存在。在另一些实施方式中,肽连接物 (例如,AAS、AAQ、或 AAAL (SEQ ID NO:5)) 使一个或多个这些另外的结合部分彼此、与第一或第二结合部分、或与 HSA 接头分开。

[0027] 本发明的第十二方面,HSA 接头包括第一肽连接物和第二多肽连接物,该第一多肽连接物使第一结合部分共价结合于多肽接头的氨基末端,该第二肽连接物使第二结合部分共价结合于 HSA 接头的羧基末端。在一个实施方式中,第一连接物具有氨基酸序列 AAS 或 AAQ 以及第二连接物具有在 SEQ ID NO:5 中列出的氨基酸序列。

[0028] 本发明的第十二方面,第一或第二结合部分(或者,如果存在的话,第三或另外结合部分)的一个或多个是抗体、单链 Fv 分子、双特异性单链 Fv((scFv')₂) 分子、域抗体、双抗体、三抗体、激素、Fab 片段、F(ab')₂ 分子、串联 scFv(taFv) 片段、受体(例如,细胞表面受体)、配体、适体、或它们的生物活性片段。在一个实施方式中,第一或第二结合部分(或者,如果存在的话,第三或另外结合部分)的一个或多个是人或人源化单链 Fv 分子。

[0029] 本发明的第十二方面,第一或第二结合部分(或者,如果存在的话,第三或另外结合部分)的一个或多个是或特异性地结合于蛋白质,该蛋白质选自由胰岛素样生长因子 1 受体(IGF1R)、IGF2R、胰岛素样生长因子(IGF)、间充质上皮转化因子受体(c-met; 还称作肝细胞生长因子受体(HGFR))、肝细胞生长因子(HGF)、表皮生长因子受体(EGFR)、表皮生长因子(EGF)、神经生长因子、成纤维细胞生长因子受体(FGFR)、血小板衍生生长因子受体(PDGFR)、血小板衍生生长因子(PDGF)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子(VEGF)、肿瘤坏死因子受体(TNFR)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、TNF- β 、叶酸受体(FOLR)、叶酸转铁蛋白受体(TfR)、间皮素、Fc 受体、c-kit 受体、c-kit、整联蛋白(例如, α 4 整联蛋白或 β -1 整联蛋白)、P-选择素、鞘氨醇-1-磷酸受体-1(S1PR)、透明质酸受体、白细胞功能抗原-1(LFA-1)、CD4、CD11、CD18、CD20、CD25、CD27、CD52、CD70、CD80、CD85、CD95(Fas 受体)、CD106(血管细胞粘附分子 1(VCAM1)、CD166(活化白细胞粘附分子(ALCAM))、CD178(Fas 配体)、CD253(TNF 相关凋亡诱导配体(TRAIL))、ICOS 配体、CCR2、CXCR3、CCR5、CXCL12(基质细胞衍生因子 1(SDF-1))、白细胞介素 1(IL-1)、CTLA-4、MART1、gp100、MAGE-1、ephrin(Eph) 受体、黏膜地址素细胞黏附分子 1(MAdCAM-1)、癌胚抗原(CEA)、Lewis^x、MUC-1、上皮细胞粘附分子(EpCAM)、癌抗原 125(CA125)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、TAG-72 抗原、以及它们的片段组成的组。在又一个实施方式中,第一或第二结合部分是或特异性地结合于成红细胞白血病病毒致癌基因同源物(ErbB) 受体(例如, ErbB1 受体;ErbB2 受体;ErbB3 受体;以及 ErbB4 受体)。在另一个实施方式中,第一或第二结合部分(或者,如果存在的话,第三或另外结合部分)的一个或多个部分是或特异性地结合于 α -甲胎蛋白(AFP) 或干扰素、或它们的生物活性片段。在又一个实施方式中,第一或第二结合部分(或者,如果存在的话,第三或另外结合部分)的一个或多个部分是那他珠单抗、英夫利昔单抗、阿达木单抗、利妥昔单抗、阿仑单抗、贝伐单抗、达珠单抗、依法利珠单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗、曲妥珠单抗、阿巴他塞、依那西普、帕妥珠单抗、西妥昔单抗、帕尼单抗(panitumumab)、或阿那白滞素。

[0030] 本发明的第十二方面,HSA 接头连接于诊断剂、治疗剂、或两者。在一个实施方式中,诊断剂是可检测标记,如放射性标记、荧光标记、或重金属标记。在另一个实施方式中,治疗剂是细胞毒性剂、细胞生长抑制剂、或免疫调节剂。细胞毒性剂包括烷化剂、抗生素、抗肿瘤剂、抗增殖剂、抗代谢物、微管蛋白抑制剂、拓扑异构酶 I 或 II 抑制剂、激素激动剂或拮抗剂、免疫调节剂、DNA 小沟结合剂、以及放射剂、或能够结合于肿瘤细胞并杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞增殖的任何药剂。抗肿瘤剂包括环磷酰胺、喜树碱、高喜树碱、秋水仙碱、combrestatin、combrestatin、根霉素、多拉司他汀(dolistatin)、安丝菌素 p3、类美登碱(类美坦素)、auristatin、卡奇霉素(calechimicin)、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶(5-FU)、多柔比星、紫杉醇、多西他赛、顺铂、卡铂、他莫昔芬、雷洛昔芬、来曲唑、表柔比星、贝伐单抗、帕妥珠单抗、曲妥珠单抗、以及它们的衍生物。在一个实施方式中,结合的 HSA 接头与药用

载体、赋形剂、或稀释剂混合。在另一个实施方式中，HSA 接头具有 6 小时至 7 天的体内半衰期。在又一个实施方式中，HSA 接头具有大于 8 小时的体内半衰期。

[0031] 本发明的第十三方面的特征在于本发明的任何先前方面 (1 至 12) 的药剂，其中 HSA 接头被另一种多肽接头取代。例如，多肽接头序列可以是哺乳动物的非人血清白蛋白多肽序列，如，例如，牛、鼠、猫、以及犬血清白蛋白 (BSA) 多肽序列。在其它实施方式中，这种多肽接头序列的长度为 5 至 1,000 个氨基酸，例如，长度为 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、或 900 个氨基酸，或在上述范围内的任何数目的氨基酸。在其它实施方式中，多肽接头序列包括单氨基酸 (包括但不限于，例如，甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸、以及缬氨酸)、或氨基酸的组合。

[0032] 在另一个实施方式中，HSA 接头被 α -甲胎蛋白 (AFP) 的多肽取代，例如，哺乳动物 AFP 多肽，如人、鼠、牛、或犬 AFP 多肽。在一个实施方式中，AFP 接对应于全长人 AFP 多肽序列 (a. a. 1-609; SEQ ID NO: 58)、缺少氨基酸 1-18 的信号序列的成熟人 AFP 多肽序列 (a. a. , SEQ ID NO: 58 的 19-609)、或它们的片段。在其它实施方式中，AFP 多肽接头包含 SEQ ID NO: 58 的至少 5 至 8 个邻接氨基酸，优选至少 10、20、或 50 个邻接氨基酸，更优选至少 100 个邻接氨基酸，以及最优选至少 200、300、400、或更多邻接氨基酸，或相对于 SEQ ID NO: 58 的具有一个或多个这些长度的邻接多肽序列具有至少 90% 序列同一性 (例如，至少 95%、97%、99%、或更大序列同一性)。例如，相对于对应于 SEQ ID NO: 58 的氨基酸 446-479 的 34 聚体 (34-mer) 人 AFP 肽 (LSEDKLLACGEAADI I IGHLCIRHEMTPVNPGV; SEQ ID NO: 59) 具有 90% 序列同一性的 AFP 多肽接头序列可以包含多达 3 个改变自 SEQ ID NO: 58 的 446-479 节段的氨基酸。在生物活性人 AFP 片段中序列偏差的一个这样的实例参见，例如，美国专利号 5,707,963 (以引用方式结合于本文)，其披露了人 AFP (SEQ ID NO: 59) 的两个氨基酸残基 (SEQ ID NO: 59 的氨基酸 9 和 22) 处具有柔性的 34 氨基酸片段。AFP 多肽接头序列的其它实例包括，例如，SEQ ID NO: 58 的氨基酸 19-198 (人 AFP 域 I)、SEQ ID NO: 58 的氨基酸 217-408 (人 AFP 域 II)、SEQ ID NO: 58 的氨基酸 409-609 (人 AFP 域 III)、SEQ ID NO: 58 的氨基酸 19-408 (人 AFP 域 I+II)、SEQ ID NO: 58 的氨基酸 217-609 (人 AFP 域 II+III)、以及 SEQ ID NO: 58 的氨基酸 285-609 (人 AFP 片段 I)。在另一个实施方式中，人 AFP 多肽接头序列是 8 氨基酸序列，其包括 SEQ ID NO: 58 的氨基酸 489-496 (即，EMTPVNPG)。

[0033] 本发明的第十四方面的特征在于试剂盒，该试剂盒包括任何 HSA 接头、HSA 接头结合物、或在上文中所讨论的第一、第二、第三、第四、第五、第十一、第十二、以及第十三方面中所描述的任何其它药剂。试剂盒进一步包括用法说明以便于使用者 (例如，医生、护士、或患者) 给予组合物以及包含在其中的药剂。在一个实施方式中，试剂盒包括多个包装的单或多剂量药物组合物，该药物组合物包含有效量的药剂，例如，本文中所述的 HSA 接头结合物或 HSA 接头，其包括，例如，一个或多个结合部分 (例如，抗体或抗体片段 (例如，scFv))、诊断剂 (例如，放射性核素或螯合剂)、和 / 或治疗剂 (例如，细胞毒性剂或免疫调节剂)。可选地，为给予药物组合物所必要的仪器或装置可以包括在试剂盒中。例如，试剂盒可以提供一或多个预充满注射器，其包含有效量的 HSA 接头结合物或 HSA 接头、或与其结合的任何结合剂、诊断剂、和 / 或治疗剂。另外，试剂盒还可以包括附加成份如用法说明或给药时间表，以便患有疾病或病症 (例如，癌症、自身免疫病、或心血管疾病) 的患者使用药物组合物，该药物组合物包含，例如，HSA 接头结合物或 HSA 接头、或与其结合的任何结合

剂、诊断剂、和 / 或治疗剂。

[0034] 定义

[0035] 如在本文中可互换使用的,术语“抗体”包括整个抗体或免疫球蛋白以及其任何抗原结合片段或单链。如在本文中所使用的,抗体可以是哺乳动物(例如,人或小鼠)抗体、人源化抗体、嵌合抗体、重组抗体、合成产生抗体、或自然分离抗体。在大多数哺乳动物(包括人类)中,整个抗体具有由二硫键连接的至少两个重(H)链和两个轻(L)链。每个重链由重链可变区(本文缩写为 V_H)和重链恒定区构成。重链恒定区由三个域(C_{H1} 、 C_{H2} 、以及 C_{H3})和在 C_{H1} 和 C_{H2} 之间的铰链区构成。每个轻链由轻链可变区(本文缩写为 V_L)和轻链恒定区构成。轻链恒定区由一个域(C_L)构成。 V_H 和 V_L 区可以进一步细分为高度可变区,即所谓的互补决定区(CDR),与更加保守的区,即所谓的框架区(FR)交替存在。每个 V_H 和 V_L 由三个CDR和四个FR构成,并从氨基末端至羧基末端以以下次序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白结合于宿主组织或因子,包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)以及经典补系统的第一成分(C1q)。本发明的抗体包括所有已知形式的抗体以及具有抗体样性能的其它蛋白质骨架。例如,抗体可以是人抗体、人源化抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、或具有抗体样性能的蛋白质骨架,如纤连蛋白或锚蛋白重复序列。抗体还可以是Fab、Fab'2、scFv、SMIP、双抗体、纳米抗体、适体、或域抗体。抗体可以具有任何以下类型:IgG(例如,IgG1、IgG2、IgG3、以及IgG4)、IgM、IgA(例如,IgA1、IgA2、以及IgAsec)、IgD、或IgE。联合HSA接头一起可以用作结合部分的抗体,如本文中所定义的,包括但不限于那他珠单抗、英夫利昔单抗、阿达木单抗、利妥昔单抗、阿仑单抗、贝伐单抗、达珠单抗、依法利珠单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗、曲妥珠单抗、阿巴他塞、依那西普、帕妥珠单抗、西妥昔单抗、以及帕尼单抗(panitumumab)。

[0036] 如在本文中所使用的,术语“抗体片段”是指抗体的一种或多种片段,其保留特异性地结合于抗原(例如,ErbB2)的能力。可以通过全长抗体的片段来实施抗体的抗原结合功能。术语抗体的“抗原结合部分”所涵盖的结合片段的实例包括但不限于:(i)Fab片段,由 V_L 、 V_H 、 C_L 、以及 C_{H1} 域构成的单价片段;(ii) $F(ab')_2$ 片段,一种二价片段,其包含由铰链区中的二硫桥连接的两个Fab片段;(iii)Fd片段,由 V_H 和 C_{H1} 域构成;(iv)Fv片段,由抗体的单臂的 V_L 和 V_H 域构成;(v)dAb,包括 V_H 和 V_L 域;(vi)dAb片段(Ward et al., Nature 341:544-546(1989)),其由 V_H 域构成;(vii)dAb,其由 V_H 或 V_L 域构成;(viii)分离的互补决定区(CDR);以及(ix)两个或更多分离的CDR的组合,其中CDR可以可选地通过合成接头加以连接。另外,虽然Fv片段的两个域, V_L 和 V_H ,由不同的基因编码,但可以利用重组方法并通过合成接头来连接它们,其中合成接头使得它们可以被制成单蛋白链,其中 V_L 和 V_H 区配对以形成单价分子(称作单链Fv(scFv);参见例如,Bird et al., Science 242:423-426(1988)以及Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883(1988))。利用本领域技术人员已知的常规技术来获得这些抗体片段,并且对上述片段进行筛选以和完整抗体相同的方式来使用。可以通过重组DNA技术、或通过完整免疫球蛋白的酶促或化学切割来产生抗体片段。

[0037] “自身免疫病”是指一种疾病,其中相对于自体表位或抗原产生免疫系统反应。自身免疫病的实例包括但不限于局限性脱发、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、自身免疫性艾迪

生病、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、口炎性腹泻性皮炎、慢性疲劳免疫功能障碍综合征 (CFIDS)、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、丘-斯综合征、瘢痕性类天疱疮、CREST 综合征、冷凝集素病、克罗恩病、盘状狼疮、自发混合性冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、格雷夫斯病、吉-巴综合征、桥本甲状腺炎、甲状腺功能减退症、特发性肺纤维化、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、IgA 肾病、胰岛素依赖型糖尿病、幼年性关节炎、扁平苔藓、狼疮、美尼尔病、混合性结缔组织病、多发性硬化、寻常性天疱疮、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、多发性肌炎和皮炎、原发性无丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、雷诺现象、赖特综合征、风湿热、类风湿性关节炎、结节病、硬皮病、舍格伦综合征、斯蒂尔曼综合征、系统性红斑狼疮 (SLE)、高安动脉炎、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎 (例如, 鸟枪弹丸样视网膜脉络膜病变葡萄膜炎 (birdshot retinochoroidopathy uveitis) 和结节病葡萄膜炎)、血管炎、白斑、韦格纳氏肉芽肿病、以及重症肌无力。

[0038] “结合部分”是指任何分子, 该分子特异性地结合于靶抗原表位、抗原、配体、或受体。结合部分包括但不限于抗体 (例如, 单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、人源化抗体、以及嵌合抗体)、抗体片段 (例如, Fab 片段、Fab' 2、scFv 抗体、SMIP、域抗体、双抗体、小体、scFv-Fc、亲和体 (affibodies)、纳米抗体、以及域抗体)、受体、配体、适体、以及具有已知结合伴侣 (binding partner) 的其它分子。

[0039] “生物活性的”是指, 分子 (包括生物分子, 如核酸、肽、多肽、以及蛋白质) 对本身或其它分子发挥物理或化学活性。例如, “生物活性”分子可以具有, 例如, 酶活性、蛋白结合活性 (例如, 抗体相互作用)、或细胞毒性活性。

[0040] 术语“嵌合抗体”是指免疫球蛋白或抗体, 其可变区来自第一物种并且其恒定区来自第二物种。嵌合抗体可以, 例如, 通过基因工程, 构建自属于不同物种 (例如, 来自小鼠和人) 的免疫球蛋白基因片段。

[0041] “连接物”或“肽连接物”是指长度为 2 至 20 个残基的氨基酸序列, 其共价连接于 HSA 接头的一个或两个氨基或羧基末端, 或共价连接于 HSA 接头的一个或多个残基 (例如, 在氨基和羧基末端残基之间的残基)。在优选实施方式中, 连接于 HSA 接头的氨基末端的肽连接物具有氨基酸序列 AAS 或 AAQ 以及连接于羧基末端的连接物具有氨基酸序列 “AAAL” (SEQ ID NO :5)。

[0042] 术语“有效量”或“治疗有效量”是指药剂 (例如, 结合有一个或多个结合部分或诊断或治疗剂并且有或没有连接物序列的 HSA 接头) 的量, 其足以产生所期望的结果, 例如, 杀伤癌细胞、减少肿瘤细胞增殖、减少在患病组织或器官中的炎症、或标记在组织、器官、或生物 (例如, 人) 中的特定细胞群。

[0043] 如在本文中所使用的, 术语“人抗体”用来包括抗体、或其片段, 其具有可变区, 其中构架区和 CDR 区均来自如, 例如, 由 Kabat et al., (Sequences of proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 (1991)) 所描述的人种系免疫球蛋白序列。另外, 如果抗体包含恒定区, 则该恒定区也来自人种系免疫球蛋白序列。人抗体可以包括并不是由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基 (例如, 通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变所引入的突变)。然而, 如在本文中所使用的, 术语“人抗体”并不用来包

括这样的抗体,其中来自另一哺乳动物物种(如小鼠)种系的 CDR 序列已被移植到构架序列(即,人源化抗体或抗体片段)。

[0044] 术语“人源化抗体”是指包括至少一个免疫球蛋白域的任何抗体或抗体片段,上述域具有可变区,该可变区包括基本上来自人免疫球蛋白或抗体的可变框架区以及基本上来自非人免疫球蛋白或抗体的互补决定区(例如,至少一个 CDR)。

[0045] 如在本文中所使用的,“炎症信号抑制剂”或“ISI”是一种药剂,其降低促炎细胞因子(例如, TNF- α 、TNF- β 、或 IL-1)和它的受体(例如,分别为 TNF 受体 1 或 2、或 IL-1 受体)之间的结合;降低激活分子与促炎细胞表面信号分子(例如, CD20、CD25、CTLA-4、CD80/CD86、或 CD28)的结合;或降低细胞内信号分子的下游激活、或活性,其中上述细胞内信号分子在促炎细胞因子结合于它们的受体或激活分子结合于促炎细胞表面信号分子以后被激活(例如,一种药剂,其降低信号分子在 p38MAPK 信号通路中的激活、或活性)。ISI 介导的降低可以是促炎细胞因子和其受体之间结合的降低、激活分子与促炎细胞表面信号分子的结合的降低、或在促炎细胞因子结合于它们的受体或激活分子结合于促炎细胞表面信号分子以后发生的分子内信号的降低。优选地,这样的由 ISI 介导的降低是至少约 10%,优选至少 20%、30%、40%、或 50%,更优选至少 60%、70%、80%、或 90%(高达 100%)的降低。ISI 可以通过减少可自由获得的用来结合受体的促炎细胞因子(例如, TNF- α 、TNF- β 、或 IL-1)的量来发挥作用。例如,ISI 可以是可溶性促炎细胞因子受体蛋白(例如,可溶性 TNF 受体融合蛋白如依那西普(ENBREL®)或来那西普)、或可溶性促炎细胞表面信号分子(例如,可溶性 CTLA-4(阿巴他塞))、或导向促炎细胞因子或促炎细胞表面信号分子的抗体(例如,抗 TNF 抗体,如阿达木单抗、赛妥珠单抗、infliximab、或戈利木单抗;抗 CD20 抗体,如利妥昔单抗;或 TRU-015(Trubion Pharmaceuticals))。另外,ISI 可以通过破坏内源性野生型促炎细胞因子或促炎细胞表面信号分子结合于其受体(例如, TNF 受体 1 或 2、IL-1 受体如阿那白滞素、或 CD11a 如依法利珠单抗(RAPTIVA®, Genentech))的能力来发挥作用。显性失活(dominant-negative) TNF- α 变体的实例是 XENP345(TNF 变体 A145R/I97T 的聚乙二醇化形式)和 Xpro™1595、以及另外的在美国专利申请公开号 20030166559 和 20050265962(其以引用方式结合于本文)中披露的变体。显性失活 IL-1 变体的一个实例是阿那白滞素(KINERET®),其是 IL-1 的可溶形式,其中 IL-1 结合于 IL-1 受体而没有激活细胞内信号通路。可以用于本发明的炎症信号抑制剂也是小分子,其抑制或降低促炎细胞因子或促炎细胞表面信号分子(例如, DE 096)下游的信号通路。这种类型的 ISI 的实例包括 p38MAP 激酶的抑制剂,例如,5-氨基-2-羰基噻吩衍生物(5-amino-2-carbonylthiopene derivatives)(如在结合于本文的 W004/089929 中所描述的);ARRY-797;BIRB 796BS、(1-5-叔丁基-2-对甲苯基-2H-吡唑-3-基)-3-[4-2(吗啉-4-基-乙氧基)-萘-1-基]-脲;CHR-3620;CNI-1493;FR-167653(Fujisawa Pharmaceutical, Osaka, 日本);ISIS 101757(Isis Pharmaceuticals);ML3404;NPC31145;PD169316;PHZ1112;RJW67657、(4-(4-(4-氟苯基)-1-(3-苯基丙基)-5-(4-吡啶基)-1H-咪唑-2-基)-3-丁炔-1-醇;SCIO-469;SB202190;SB203580、(4-(4-氟苯基)-2-(4-甲基亚硫酸基苯基)-5-(4-吡啶基)-1H-咪唑);SB239063、反-1-(4-羟基环己基)-4-(4-氟苯基-甲氧基嘧啶-4-基)咪唑(trans-1-(4-hydroxycyclohexyl)-4-(4-fluorophenyl-methoxypyridimidin-4-yl)imidazole);

SB242235 ;SD-282 ;SKF-86002 ;TAK 715 ;VX702 ;以及 VX745。另外,ISI 可以干扰促炎细胞因子(例如,TNF- α 和 TNF- β)从它的膜结合形式加工成它的可溶形式。TACE 的抑制剂是这种类型的 ISI。TACE 的抑制剂的实例包括 BB-1101、BB-3103、BMS-561392、丁炔基羟苯基 β -磺吡啶氧膦酸盐(butynyloxyphenyl β -sulfone piperidine hydroxomates)、CH4474、DPC333、DPH-067517、GM6001、GW3333、Ro 32-7315、TAPI-1、TAPI-2、以及 TMI 005。ISI 的另外实例包括来自大肠杆菌热激蛋白的短肽,其设计成具有疾病特异性免疫调节活性(例如,dnaJP1)。

[0046] “整联蛋白拮抗剂”是指降低或抑制整联蛋白分子的生物活性的任何药剂(例如,相对于在没有整联蛋白拮抗剂的条件下的生物活性,降低或抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、或更大),如整联蛋白分子的 $\alpha 4$ 亚单位。上述药剂可以通过抑制 $\alpha 4$ 整联蛋白亚单位的活性或表达直接或间接作用于 $\alpha 4$ 整联蛋白亚单位(NCBI Accession No.P13612;Takada et al.,EMBO J. 8:1361-1368(1989)),或可以作用于包含 $\alpha 4$ 亚单位的完整整联蛋白所结合的靶。例如,结合于血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)并因此防止 $\alpha 4 \beta 1$ 整联蛋白结合于 VCAM-1 的抗体或封闭肽被认为是用于本发明的目的的整联蛋白拮抗剂。适用于本发明的非限制性的典型的整联蛋白拮抗剂可以包括蛋白质、封闭肽、抗体,如那他珠单抗(TYSABRI®),以及小分子抑制剂。 $\alpha 4$ 整联蛋白拮抗剂的实例包括但不限于那他珠单抗(Elan/Biogen Idec;参见,例如,美国专利号 5,840,299、6,033,665、6,602,503、5,168,062、5,385,839、以及 5,730,978,以引用方式结合于本文)、oMEPUPA-V(Biogen;美国专利号 6,495,525,以引用方式结合于本文)、alefacept、CDP-323(Celltech);firategrast(SB-68399;GlaxoSmithKline);TR-9109(Pfizer);ISIS-107248(Antisense Therapeutics);R-1295(Roche);以及 TBC-4746(Schering-Plough)。 $\alpha 4$ 整联蛋白拮抗剂的另外的非限制实例包括小分子,参见:美国专利号 5,821,231、5,869,448、5,936,065、6,265,572、6,288,267、6,365,619、6,423,728、6,426,348、6,458,844、6,479,666、6,482,849、6,596,752、6,667,331、6,668,527、6,685,617、6,903,128、以及 7,015,216(各自以引用方式结合于本文);美国专利申请公开号 2002/0049236、2003/0004196、2003/0018016、2003/0078249、2003/0083267、2003/0100585、2004/0039040、2004/0053907、2004/0087574、2004/0102496、2004/0132809、2004/0229858、2006/0014966、2006/0030553、2006/0166866、2006/0166961、2006/0241132、2007/0054909、以及 2007/0232601(各自以引用方式结合于本文);欧洲专利号 EP 0842943、EP 0842944、EP 0842945、EP 0903353、以及 EP 0918059;以及 PCT 公开号 WO 95/15973、WO 96/06108、WO 96/40781、WO 98/04247、WO 98/04913、WO98/42656、WO 98/53814、WO 98/53817、WO 98/53818、WO98/54207、WO 98/58902、WO 99/06390、WO 99/06431、WO99/06432、WO 99/06433、WO 99/06434、WO 99/06435、WO99/06436、WO 99/06437、WO 99/10312、WO 99/10313、WO99/20272、WO 99/23063、WO 99/24398、WO 99/25685、WO99/26615、WO 99/26921、WO 99/26922、WO 99/26923、WO99/35163、WO 99/36393、WO 99/37605、WO 99/37618、WO99/43642、WO 01/42215、以及 WO 02/28830,所有这些以引用方式结合于本文。 $\alpha 4$ 整联蛋白拮抗剂的另外的实例包括苯基丙氨酸衍生物,参见美国专利号 6,197,794、6,229,011、6,329,372、6,388,084、6,348,463、6,362,204、6,380,387、6,445,550、6,806,365、6,835,738、6,855,706、6,872,719、

6, 878, 718、6, 911, 451、6, 916, 933、7, 105, 520、7, 153, 963、7, 160, 874、7, 193, 108、7, 250, 516、以及 7, 291, 645(各自以引用方式结合于本文)。作为 α 4 整联蛋白拮抗剂的另外的氨基酸衍生物包括那些衍生物。其描述于,例如,美国专利申请公开号 2004/0229859 和 2006/0211630(以引用方式结合于本文),以及 PCT 公开号 WO 01/36376、WO 01/47868、以及 WO 01/70670,所有这些以引用方式结合于本文。 α 4 整联蛋白拮抗剂的其它实例包括肽、以及肽和半肽化合物,参见,例如, PCT 公开号 WO 94/15958、WO 95/15973、WO 96/00581、WO 96/06108、WO 96/22966 (Leu-Asp-Val 三肽 ;Biogen, Inc.)、WO 97/02289、WO 97/03094、以及 WO 97/49731。 α 4 整联蛋白拮抗剂的另外的实例是在美国专利申请公开号 2007/066533(以引用方式结合于本文)中描述的聚乙二醇化分子。作为 α 4 整联蛋白拮抗剂的抗体的实例包括在,例如, PCT 公开号 WO 93/13798、WO 93/15764、WO 94/16094、以及 WO95/19790 中描述的那些抗体。本文描述了 α 4 整联蛋白拮抗剂的另外的实例。

[0047] “干扰素”是指哺乳动物(例如,人)干扰素- α 、- β 、- γ 、或- τ 多肽、或它们的生物活性片段,例如, IFN- α (例如, IFN- α -1a, 参见美国专利申请号 20070274950, 其以引用方式结合于本文), IFN- α -1b, IFN- α -2a(参见 PCT 申请号 WO 07/044083, 其以引用方式结合于本文), 以及 IFN- α -2b), IFN- β (例如, 描述在美国专利号 7, 238, 344 中, 其以引用方式结合于本文; IFN-b-1a(**AVONEX®**和**REBIF®**), 如在美国专利号 6, 962, 978 中所描述的, 其以引用方式结合于本文, 以及 IFN- β -1b(**BETASERON®**, 如在美国专利号 4, 588, 585、4, 959, 314、4, 737, 462、以及 4, 450, 103 中所描述的, 它们以引用方式结合于本文), IFN- γ , 以及 IFN- τ (如在美国专利号 5, 738, 845 以及美国专利申请公开号 20040247565 和 20070243163 中所描述的, 它们以引用方式结合于本文)。

[0048] “HSA 接头结合物”是指人血清白蛋白(HSA)接头连同(优选共价结合于)一种或多种结合部分、肽连接物、诊断剂、或治疗剂。

[0049] 如在本文中所使用的, 术语“单克隆抗体”是指获自基本均一抗体的群体的抗体, 即, 包括群体的个体抗体是相同的, 不同之处在于可以少量存在的可能的自然发生的突变。单克隆抗体是高度特异的、导向单抗原位点。另外, 不同于常规(多克隆)抗体药剂, 其通常包括导向不同决定簇(抗原表位)的不同抗体, 每种单克隆抗体导向抗原上的单决定簇。可以利用任何技术领域认可的技术和在本文中的那些技术来制备单克隆抗体, 如, 例如, 杂交瘤方法, 如由 Kohler et al., Nature 256 :495(1975) 描述的, 转基因动物(例如, Lonberg et al., Nature 368(6474) :856-859(1994)), 重组 DNA 方法(例如, 美国专利号 4, 816, 567), 或使用噬菌体、酵母、或合成支架抗体文库并利用在, 例如, Clackson et al., Nature 352 :624-628(1991) 以及 Marks et al., J. Mol. Biol. 222 :581-597(1991) 中描述的技术。

[0050] “药用载体”是指一种载体, 该载体对于待治疗的哺乳动物来说是生理上可接受的, 同时保留与其一起给予的化合物的治疗性能。一种典型的药用载体是生理盐水。其它生理上可接受的载体和它们的配方是本领域技术人员已知的并且描述在, 例如, Remington's Pharmaceutical Sciences, (18th edition), ed. A. Gennaro, 1990, Mack Publishing Company, Easton, PA 中。

[0051] “增生性疾病”或“癌症”是指特征在于异常或未调节细胞生长的任何病症。增生性疾病的实例包括, 例如, 实体瘤如: 肉瘤(例如, 透明细胞肉瘤)、癌(例如, 肾细胞癌)、以及

淋巴瘤；以下组织、器官、或系统的肿瘤：胸、结肠、直肠、肺、口咽、咽下部、食管、胃、胰、肝、胆囊、胆管、小肠、泌尿系统（包括肾、膀胱、以及泌尿道的上皮）、女性生殖系统（包括宫颈、子宫、卵巢、绒膜瘤、以及妊娠滋养层）、男性生殖系统（包括前列腺、精囊、以及睾丸）、内分泌腺（包括甲状腺、肾上腺、以及垂体）、皮肤（包括血管瘤、黑色素瘤、来自骨或软组织有肉瘤、以及卡波西肉瘤）、脑和脑膜（包括星形细胞瘤、神经星形细胞瘤、成海绵细胞瘤、成视网膜细胞瘤、神经瘤、成神经细胞瘤、神经鞘瘤和成神经细胞瘤）、神经、眼、血细胞生成系统（包括绿色瘤性白血病、浆细胞瘤以及真皮 T 淋巴瘤 / 白血病）、以及免疫系统（包括淋巴瘤，例如，霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤）。非实体瘤增生性疾病的一个实例是白血病（例如，急性成淋巴细胞白血病）。

[0052] 术语“重组抗体”是指通过重组方式制备、表达、产生、或分离的抗体，如 (a) 分离自动物（例如，小鼠）的抗体，其对于免疫球蛋白基因（例如，人免疫球蛋白基因）或从其制备的杂交瘤来说是转基因的或转染色体的 (transchromosomal)，(b) 分离自被转化以表达抗体的宿主细胞，例如，分离自转染瘤的抗体，(c) 分离自重组、组合抗体文库（例如，包含人抗体序列）的抗体，其中利用噬菌体、酵母、或合成支架 (synthetic scaffold) 展示，以及 (d) 通过任何其它方式制备、表达、产生、或分离的抗体，其中上述任何其它方式涉及将免疫球蛋白基因序列（例如、人免疫球蛋白基因）剪接成其它 DNA 序列。

[0053] “特异性结合”是指结合部分（例如，本文中描述的药剂的抗体、抗体片段、受体、配体、或小分子部分）优先结合于靶分子（例如，分泌靶分子，如细胞因子、趋化因子、激素、受体、或配体）或优先结合于含有靶分子（例如，细胞表面抗原，如受体或配体）的细胞或组织并且不优先结合于缺少靶分子的非靶细胞或组织。普遍认为，在结合部分和非靶分子（单独或连同细胞或组织一起存在）之间可以发生一定程度的非特异性相互作用。然而，特异性结合可以称之为通过靶分子的特异性识别加以介导。与在结合部分和例如，缺少靶分子的细胞之间的结合相比，特异性结合导致在结合部分（例如，抗体）和例如，含有靶分子（例如，抗原）的细胞之间更强的结合。和缺少靶分子或标记的细胞或组织相比，特异性结合通常导致与例如，含有靶分子或标记的细胞或组织的结合的结合部分的量（每单位时间）增加大于 2 倍，优选大于 5 倍，更优选大于 10 倍以及最优选大于 100 倍。结合部分结合于靶分子或标记，其中解离常数为例如，小于 10^{-6}M 、更优选小于 10^{-7}M 、 10^{-8}M 、 10^{-9}M 、 10^{-10}M 、 10^{-11}M 、或 10^{-12}M ，以及最优选小于 10^{-13}M 、 10^{-14}M 、或 10^{-15}M 。在上述条件下与蛋白质的特异性结合需要这样的结合部分，对该结合部分的选择是根据其对特定蛋白质的特异性。各种测定格式适用于选择能够特异性地结合特定靶分子的结合部分（例如，抗体）。例如，固相 ELISA 免疫测定常规地用来选择与蛋白质具有特异性免疫活性的单克隆抗体。关于可以用来确定特异性免疫反应活性的免疫测定格式和条件的描述，参见 Harlow&Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York (1988)。

[0054] 术语“序列同一性”是指（当比较多核苷酸或多肽序列和参比序列时）当两个序列进行最佳比对时，多核苷酸或多肽序列与参比序列相同或有特定百分比的核苷酸或氨基酸残基与在参比序列中的相应位置相同。

[0055] “表面暴露的氨基酸残基”或“表面暴露的”是指存在于 HSA 多肽的折叠和构象正确三级结构的外表面上的氨基酸残基。上述残基可以被例如，其它化学活性的氨基酸（例如，半胱氨酸）取代，以便于诊断或治疗剂的位点特异性结合。另外，表面暴露的氨基酸残

基可以被取代以便于（例如，通过添加丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺残基、或糖基化基序）或防止（例如，通过除去丝氨酸、苏氨酸、或天冬酰胺残基、或糖基化基序）糖基化。表面暴露的氨基酸残基包括但不限于在位置 496 处的苏氨酸、在位置 58 处的丝氨酸、在位置 76 处的苏氨酸、在位置 79 处的苏氨酸、在位置 83 处的苏氨酸、在位置 125 处的苏氨酸、在位置 236 处的苏氨酸、在位置 270 处的丝氨酸、在位置 273 处的丝氨酸、在位置 304 处的丝氨酸、在位置 435 处的丝氨酸、在位置 478 处的苏氨酸、在位置 506 处的苏氨酸、以及在位置 508 处的苏氨酸（氨基酸编号是相对于例如，列出在 SEQ ID NO:1 中的 HSA 接头的序列）。利用 HSA 晶体结构，本领域技术人员可以鉴定其它表面暴露残基（Sugio et al., “Crystal structure of human serum albumin at 2.5Å resolution,” *Protein Eng.* 12:439-446(1999)）。“受治疗者”是指包含人肿瘤细胞的人类患者或裸鼠异种移植模型。

[0056] “靶分子”或“靶细胞”是指结合部分（例如，抗体）能够结合其的分子（例如，蛋白质、抗原表位、抗原、受体、或配体）或细胞、或 HSA 结合物（conjugate），其包含一个或多个结合部分（例如，结合于一个或多个抗体或抗体片段的 HSA 接头）。优选的靶分子暴露于靶细胞的外部（例如，细胞表面或分泌蛋白）但靶分子可以可替代地或也可存在于靶细胞的内部。

[0057] “治疗”优选地提供了在受治疗者中降低（例如，至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、或甚至 100%）人疾病或障碍（例如，自身免疫性或增生性疾病）的进展或严重性，或降低人疾病或障碍的一种或多种症状的进展、严重性、或频率。

附图说明

[0058] 图 1 是典型的 HSA 接头结合物的示意图。在氨基末端结合部分和 HSA 接头之间的连接物具有丙氨酸、丙氨酸以及丝氨酸的序列。在 HSA 接头和羧基末端结合部分之间的连接物具有丙氨酸、丙氨酸、丙氨酸、亮氨酸的序列（SEQ ID NO:5）。

[0059] 图 2 是曲线图，其示出在 ZR75-1 乳腺癌细胞中 B2B3 变体抑制 HRG 诱导的 pErbB3。

[0060] 图 3A-D 是曲线图，其示出在 BT474 乳腺癌细胞中，在用 B2B3HSA 接头结合物 B1D2-2 (A5-HSA-B1D2, 图 3A)、B1D2-1 (H3-HSA-B1D2, 图 3B)、B2B3-10 (H3-HSA-F5B6H2, 图 3C)、以及 B2B3-8 (F4-HSA-F5B6H2, 图 3D) 预处理 24 小时以后磷酸化 ErbB3 的抑制。下文中（例如表 6 中）列出了关于这些 HSA 接头结合物的进一步细节。

[0061] 图 4A-D 是曲线图，其示出在 BT474 乳腺癌细胞中在用 B2B3HSA 接头结合物 B1D2-2 (A5-HSA-B1D2, 图 4A)、B1D2-1 (H3-HSA-B1D2, 图 4B)、B2B3-10 (H3-HSA-F5B6H2, 图 4C)、以及 B2B3-8 (F4-HSA-F5B6H2, 图 4D) 预处理 24 小时以后磷酸化 AKT 的抑制。下文中（例如表 6 中）列出了关于这些 HSA 接头结合物的进一步细节。

[0062] 图 5A-D 是曲线图，其示出在 BT474 乳腺癌细胞中，在用 B2B3HSA 接头结合物 B1D2-2 (A5-HSA-B1D2, 图 5A)、B1D2-1

[0063] (H3-HSA-B1D2, 图 5B)、B2B3-10 (H3-HSA-F5B6H2, 图 5C)、以及 B2B3-8 (F4-HSA-F5B6H2, 图 5D) 预处理 24 小时以后磷酸化 ERK 的抑制。下文中（例如表 6 中）列出了关于这些 HSA 接头结合物的进一步细节。

[0064] 图 6 是曲线图，其示出，用 B2B3-1 变体对 BT474 乳腺癌细胞的处理会引起 G1 停止

以及减少在 S 期中细胞的数目。

[0065] 图 7 是流式细胞术柱形图,其示出,用 $1\ \mu\text{M}$ B2B3-1 预温育 BT-474-M3 细胞会显著阻断 HRG 的结合。

[0066] 图 8A-D 是曲线图,其示出,在 B-T474-M3 和 ZR75-30 细胞系中, B2B3-1 会抑制 ErbB3 和 AKT 磷酸化。用剂量滴定的 B2B3-1 预处理乳腺癌细胞系 BT-474-M3 (图 8A 和 8C) 和 ZR75-30 (图 8B 和 8D) 24 小时,然后用 5nM 的 HRG $1\ \beta$ EGF 域刺激 10 分钟。然后利用 ELISA 测定来检查 ErbB3 和 AKT 的磷酸化状态。

[0067] 图 9 是蛋白质印迹照片,其示出在 BT474 乳腺癌细胞中用浓度增加的 B2B3-1 处理对信号蛋白的影响。“p-”表示信号蛋白的酪氨酸磷酸化形式。 β 微管蛋白 (在本文中不是信号蛋白) 提供了负载对照。 β 微管蛋白 (在本文中不是信号蛋白) 提供了负载对照。

[0068] 图 10 是蛋白质印迹照片,其示出经 B2B3-1 处理的 BT474 乳腺癌细胞的免疫沉淀。 β 微管蛋白提供了对于输入到免疫沉淀反应中的细胞蛋白水平的对照。

[0069] 图 11A-C 示出, BT-474 细胞系的 B2B3-1 处理会引起 G1 停止以及在 S 期中细胞群体的减小 (图 11A), 以及和未处理细胞相比 (图 11B) 会抑制 BT-474 和 SKBr3 细胞中的集落形成。此外,在细胞阻抗测定中, B2B3-1 会抑制 BT-474-M3 细胞的增殖 (图 11C)。

[0070] 图 12 是曲线图,其示出了在 ZR75-1 细胞中 B2B3-1 并不刺激 ErbB3 磷酸化。

[0071] 图 13A-B 是曲线图,其示出 B2B3-1 特异性地结合于 ErbB3 (图 13A) 和 ErbB2 (图 13B)。

[0072] 图 14 是曲线图,其示出,与 ErbB2 唯一的结合变体 SK0-3, 以及 ErbB3 唯一的结合变体 SK0-2 相比, B2B3-1 与 MALME-3 细胞的亲和力结合导致表观结合亲和力的显著增加。

[0073] 图 15A-C 是曲线图,其示出 B2B3-1 在鼠、食蟹猴、以及人血清中的稳定性。在鼠 (图 15A)、食蟹猴 (图 15B)、或人 (图 15C) 血清中并在 37°C 下温育 100nM B2B3-1 达 120 小时。在 0、24、48、72、96 以及 120 小时除去样品,并通过 ELISA (RLU = 相对光单位) 来测量 B2B3-1 结合 ErbB2 和 ErbB3 的能力。

[0074] 图 16 是曲线图,其示出在 BT-474-M3 乳腺癌异种移植模型中的 B2B3-1 剂量反应。在 BT-474-M3 胸肿瘤系中并在指定剂量下评估的 B2B3-1 剂量与肿瘤反应的关系。以 52.5mg/kg 给予 HSA, 其是 90mg/kg B2B3-1 剂量的等摩尔剂量。

[0075] 图 17A-E 是曲线图,其示出,以 ErbB2 依赖性方式, B2B3-1 在多种异种移植模型中是有效的。示出 Calu-3 (人肺腺癌; 图 17A)、SKOV-3 (人卵巢腺癌; 图 17B)、NCI-N87 (人胃癌; 图 17C)、ACHN (人肾腺癌; 图 17D)、以及 MDA-MB-361 (人胸腺癌; 图 17E) 异种移植模型。每 3 天用 30mg/kg 的 B2B3-1 或用与 B2B3-1 等摩尔剂量的 HSA 对照, 来治疗小鼠。

[0076] 图 18A-B 是曲线图,其示出, ErbB2 的过度表达使 B2B3-1 非反应者 ADRr 乳腺癌异种移植模型转化成反应者。利用反转录病毒表达系统, ErbB2 过度表达在野生型 ADRr 异种移植植物中 (图 18A) 以及 ADRr-E2 异种移植植物中 (图 18B)。

[0077] 图 19A-B 表明, B2B3-1 活性与体外 (图 19A) 和体内 (图 19B) ErbB2 表达水平正相关。

[0078] 图 20A-B 表明, B2B3-1 治疗会改变肿瘤细胞周期。图 20A 包括荧光显微照片, 其表明, B2B3-1 处理 BT474-M3 胸肿瘤细胞 6 小时会导致细胞周期抑制剂 $p27^{\text{kip1}}$ 易位到细胞核。烟酸己可碱染色用来鉴定细胞核。图 20B 是用 B2B3-1 处理 72 小时的 BT-474-M3 细胞

的蛋白质印迹,其导致细胞周期调节剂细胞周期蛋白 D1 的水平降低。在此实验中,细胞骨架蛋白纽蛋白用作蛋白负荷对照。

[0079] 图 21A-B 是显微照片,其表明,B2B3-1 处理 BT474 胸肿瘤异种移植物导致 p27^{kip1} 易位到细胞核。每 3 天用剂量为 30mg/kg 的 B2B3-1 (图 21A) 或用等摩尔剂量的 HSA (图 21B) 处理 BT474 胸肿瘤异种移植物,总共为 4 次给药,然后对 p27^{kip1} 进行染色。

[0080] 图 22A-B 是荧光显微照片,其表明 B2B3-1 处理导致在 BT474-M3 乳腺癌异种移植物中增殖标记 Ki67 的减少。每 3 天用剂量为 30mg/kg 的 B2B3-1 (图 22A) 或用等摩尔剂量的 HSA (图 22B) 处理 BT474-M3 胸肿瘤异种移植物,总共为 4 次给药。

[0081] 图 23A-B 是荧光显微照片,其表明 B2B3-1 处理导致在 BT474-M3 乳腺癌异种移植肿瘤中血管密度的减小(如通过 CD31 着色的减少所确定的)。每 3 天用剂量为 30mg/kg 的 B2B3-1 (图 23A) 或用等摩尔剂量的 HSA (图 23B) 处理 BT474-M3 胸肿瘤异种移植物,总共为 4 次给药。

[0082] 图 24A-B 表明,B2B3-1 在体内抑制 ErbB3 的磷酸化。使来自单独的 BT-474-M3 异种移植肿瘤并经 B2B3-1 (M1-M5) 或对照 HSA (H1-H2) 处理的溶胞产物进行 SDS-PAGE 并利用蛋白质印迹分析检测 pErbB3 和 β 微管蛋白(图 24A)。平均 pErbB3 信号相对于平均 β 微管蛋白信号的归一化表明,经 B2B3-1 治疗的肿瘤比 HSA 肿瘤包含少得多的 pErbB3 (图 24B)。

[0083] 图 25A 和 B 是曲线图,其示出 B2B3-1 在 BT-474-M3shPTEN 和 sh 对照异种移植物中的体内活性。用对照载体(图 25A) 或用表达 shPTEN 的反转录病毒载体(图 25B) 转染培养的 BT-474-M3 肿瘤细胞,其敲除 PTEN 活性。由此将基因工程改造的敲除 PTEN 活性的 BT-474-M3 乳腺癌细胞注入小鼠右肋腹,同时将用对照载体转染的细胞注入相同小鼠的左肋腹。每 3 天用 30mg/kg B2B3-1 或每周用 10mg/kg 曲妥珠单抗治疗小鼠,并且注射相对于 B2B3-1 等摩尔剂量的 HSA 作为对照。B2B3-1 和曲妥珠单抗促进由对照 BT-474-M3 乳腺癌细胞形成的肿瘤尺寸的减小(图 25A),而仅 B2B3-1 (并且不是曲妥珠单抗) 促进由缺少 PTEN 表达的 BT-474-M3 乳腺癌细胞形成的肿瘤尺寸的减小(图 25B)。

[0084] 图 26A-B 表明,在具有降低的 PTEN 活性的 BT-474-M3 异种移植物中,B2B3-1 会抑制 AKT 的磷酸化。在完成处理(q3dx11) 以后,溶解肿瘤并通过蛋白质印迹分析测试 PTEN、pErbB3、以及 pAKT 表达水平(图 26A)。对 pAKT 的谱带强度(归一化到总 AKT 和总蛋白) 的密度测定结果表明,当曲妥珠单抗不能时,B2B3-1 能够抑制这种蛋白的磷酸化(图 26B)。

[0085] 图 27A-D 是曲线图,其示出在 nu/nu 小鼠中 B2B3-1 的 5 (图 27A)、15 (图 27B)、30 (图 27C)、以及 45 (图 27D)mg/kg 大丸剂剂量的单剂量药物动力学性能。通过 HSA 测定或 ErbB2/ErbB3 测定测得的 B2B3-1 血清浓度是相当的,这表明在循环中保留了 B2B3-1 的抗原结合活性。

[0086] 图 28 示出在裸鼠中 B2B3-1 的 5、15、30、以及 45mg/kg 大丸剂剂量的剂量暴露关系。剂量的增加导致对 B2B3-1 的总暴露的线性增加。

[0087] 图 29 示出在每 3 天给予剂量共 4 个剂量的食蟹猴中测得的 B2B3-1 血清浓度,其中剂量为 4mg/kg (n = 2)、20mg/kg (n = 2) 以及 200mg/kg (长达 336 小时, n = 4, 对于 384、552 以及 672 小时时间点, n = 2)。

[0088] 图 30 示出 B2B3-1 表达质粒 pMP10k4H3-mHSA-B1D2。

[0089] 图 31 示出新霉素抗性质粒 pSV2-neo。

[0090] 图 32 示出潮霉素抗性质粒 pTK-Hyg。

[0091] 图 33 示出了代表 q7d 给予 B2B3-1 的数据,等同于 q3d 给药的效力。

[0092] 图 34 示出了代表 B2B3-1 和曲妥珠单抗表现出不同的 ErbB3 抑制机制的蛋白质印记数据。

[0093] 图 35A-C 示出了实施例 43 中的详细实验结果,其中在作为人乳腺癌模型的各种人类乳腺癌细胞系的球状体细胞中研究了 B2B3-1 与曲妥珠单抗的 combination 治疗。图 35A 示出了利用 BT-474-M3 细胞获得的数据,图 35B 示出了利用 SKBR3 细胞获得的数据,且图 35C 示出了利用 MDA-MB-361 细胞获得的数据。单独的或组合的 B2B3-1 的摩尔浓度沿 X 轴给出。单独的或组合的曲妥珠单抗的摩尔浓度是每一所示的 B2B3-1 浓度的三分之一。

[0094] 图 36 示出了在实施例 44 中具体进行的体内肿瘤异种移植实验的结果。X 轴上的“天”表示肿瘤移植后的天数。每一个数据点的误差条代表对至少两种独立生物异种移植物的响应。

[0095] 图 37 示出了获自基本上如实施例 44 中描述的异种移植模型的数据,除所使用的肿瘤细胞是 N-87 胃肿瘤细胞,N-87 胃肿瘤细胞可获自美国国家癌症研究所 (US National Cancer Institute)。

[0096] 图 38 示出了图 36 中所示的亚组的数据。

具体实施方式

[0097] 本发明提供了人血清白蛋白 (HSA) 接头,以及包含 HSA 接头和一个或多个另外部分 (例如结合部分) 的 HSA 接头结合物 (例如,结合、诊断、或治疗剂)。这样的 HSA 接头结合物具有希望的性质,例如,增加的 6 小时至 7 天的体内半衰期,并且当体内给予哺乳动物 (例如,人) 时并不诱导显著的体液或细胞介导的免疫反应。一方面,本发明提供了突变 HSA 接头,该接头具有两个限定的氨基酸取代 (即,“C34S”和“N503Q”取代,如在 SEQ ID NO:1 中所列出的)。另一方面,本发明提供了结合于一种或多种结合部分 (例如,抗体、抗体片段、受体 / 配体、或小分子) 的 HSA 接头,用于在哺乳动物 (例如,人) 中的体内诊断或治疗用途,或体外连同哺乳动物细胞、组织、或器官一起使用。又一方面,HSA 接头可以连接于一种或多种免疫调节剂、细胞毒性或细胞生长抑制剂、可检测标记、或放射剂,用于哺乳动物 (或连同哺乳动物细胞、组织、或器官) 的诊断或治疗用途。包括 HSA 接头的 HSA 接头结合物可以可选地合并一种或多种药用载体或赋形剂,并且可以配制成以静脉内途径、肌内途径、口服、吸入途径、胃肠道外途径、腹腔内途径、动脉内途径、透皮途径、舌下途径、鼻腔途径、通过使用栓剂、经颊途径、脂质体途径、脂肪途径、眼途径、眼内途径、皮下途径、鞘内途径、局部途径、或局部途径给药。HSA 接头结合物能够,但不是必需合并一种或多种生物活性剂 (例如,生物或化学剂,如化疗剂和抗肿瘤剂) 或与它们一起给予。又一方面,本发明提供了带有用法说明的试剂盒,用于将结合部分 (例如,抗体、抗体片段、受体或配体)、免疫调节剂、细胞毒性或细胞生长抑制剂、可检测标记、或放射剂结合于 HSA 接头,以制备可用于诊断或治疗用途的 HSA 接头结合物。

[0098] 人血清白蛋白 (HSA) 接头

[0099] HSA 接头可以包含各种类型的 HSA 氨基酸序列,如 SEQ IDNO:3 中列出的。可替代地,该 HSA 接头可包含一种改变的、或突变的序列。一种突变的 HSA 接头包含相对于在 SEQ

ID NO :3 中列出的野生型 HSA 氨基酸序列在位置 34 和 503 处的两个氨基酸突变。在位置 34 处的半胱氨酸残基（即，C34）可以被突变成不同于半胱氨酸的任何氨基酸残基（例如，丝氨酸、苏氨酸、或丙氨酸）。同样，在位置 503 处的天冬酰胺残基（即，N503）可以被突变成不同于天冬酰胺的任何氨基酸残基（例如，谷氨酰胺、丝氨酸、组氨酸、或丙氨酸）。在一个实施方式中，HSA 接头具有分别列出在 SEQ ID NO :1 和 2 中的氨基酸和相应的核苷酸序列。这种突变 HSA 接头包含两个氨基酸取代（即，丝氨酸取代在氨基酸残基 34 处的半胱氨酸（“C34S”）以及谷氨酰胺取代在氨基酸残基 503 处的天冬酰胺（“N503Q”））。相对于在没有 HSA 接头存在的条件下这些药剂的药理性能，HSA 接头当结合于一种或多种结合部分（例如，抗体、抗体片段（例如，单链抗体）、或其它靶向或生物活性剂（例如，受体和配体））时，可以赋予那些结合物和连接的另外的诊断或治疗剂（例如，免疫调节剂、细胞毒性或细胞生长抑制剂、可检测标记、或放射剂）若干有利的药理性能。这些益处可以包括当给予哺乳动物（例如，人）时降低的免疫原性（例如，接头-抗体结合物的降低的宿主抗体中和）、HSA 接头结合物的增加的检测（例如，通过质谱法）以及增加的药理半衰期（例如，大于 6 小时、8 小时、12 小时、24 小时、36 小时、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、或 7 天的半衰期）。具体地说，丝氨酸取代在氨基酸残基 34 处的半胱氨酸导致 HSA 接头的降低的氧化和蛋白质异质性。在野生型 HSA 中，在氨基酸残基 503 处的天冬酰胺对脱氨作用是敏感的，同样导致降低的药理半衰期。谷氨酰胺取代在氨基酸残基 503 处的天冬酰胺可以导致 HSA 接头的延长的药理半衰期，因而，当给予哺乳动物（例如，人）或其细胞、组织、或器官时，相应地增加包括 HSA 接头的结合剂的药理半衰期。

[0100] 在其它实施方式中，突变 HSA 接头包括 HSA 的域 I (SEQ ID NO :53 ;SEQ ID NO :1 的残基 1-197)、HSA 的域 III (SEQ ID NO :55 ;SEQ ID NO :1 的残基 381-585)、HSA 的域 I 和 III 的组合、或 HSA 的域 I 或 III 与 HSA 的域 II 的组合 (SEQ ID NO :54 ;SEQ ID NO :1 的残基 189-385)。例如，HSA 接头可以包括域 I 和 II、I 和 III、或 II 和 III。此外，在域 I (SEQ ID NO :53) 的位置 34 处的半胱氨酸残基（即，C34）可以被突变成不同于半胱氨酸的任何氨基酸残基（例如，丝氨酸、苏氨酸、或丙氨酸）。同样，在域 III (SEQ ID NO :55) 的位置 503 处的天冬酰胺残基（即，N503）可以被突变成不同于天冬酰胺的任何氨基酸残基（例如，谷氨酰胺、丝氨酸、组氨酸、或丙氨酸）。可以将这些 HSA 接头加入 HSA 接头结合物，其包括一种或多种的肽连接物、结合部分、以及治疗或诊断剂，下文对每一种进行详细描述。

[0101] 肽连接物

[0102] 为了促进如本文中所定义的结合部分结合于 HSA 接头，可以将短（例如，长度为 2-20 个氨基酸）肽连接物（例如，共价（例如，肽键）、离子、或疏水结合、或经由高亲和力蛋白-蛋白结合相互作用（例如，生物素和抗生物素蛋白））结合于 HSA 接头的氨基或羧基末端。这些连接物提供了本文描述的任何结合部分可以与其连接的柔性链。肽连接物可以长度为 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或更多氨基酸。在一个实施方式中，连接物是例如，甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸、或缬氨酸残基的序列。虽然本文中未具体列举，但连接物可以仅是甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸、或缬氨酸残基，可以是这些残基的任何组合（长度达约 20 个氨基酸）。在一个优选的实施方式中，连接于 HSA 接头的氨基末端的连接物具有氨基酸序列 AAS 或 AAQ 以及连接于羧基末端的连接物具有氨基酸序列“AAAL”(SEQ ID NO :5)。连接物可以共价结合于 HSA 接头的

氨基或羰基末端残基、结合于 HSA 接头中的氨基酸残基,或可以包括在一个或多个结合部分(如果存在的话)之间。

[0103] HSA 接头制备

[0104] HSA 接头,其具有或没有一种或多种肽连接物、以下描述的一种或多种结合部分、基于多肽的可检测标记、以及基于其它多肽的治疗剂,可以重组产生。例如,编码 HSA 接头(以及一种或多种可选元件)的核苷酸序列可以表达(例如,在质粒、病毒载体中,或转基因地)在细菌(例如,大肠杆菌)、昆虫、酵母、或哺乳动物细胞(例如,CHO 细胞),或哺乳动物组织、器官、或生物中(例如,转基因啮齿动物、有蹄动物(例如,山羊)、或非人灵长类)。在宿主细胞、组织、或器官中表达 HSA 接头以后,利用标准蛋白质纯化方法(例如,FPLC 或亲和层析),本领域技术人员可以分离和纯化 HSA 接头。用于生产 HSA 接头连同两个结合部分的重组表达系统示于图 1 中。

[0105] 可替代地,具有或没有以上描述的一种或多种可选元件的 HSA 接头可以合成产生。例如,可以通过通常在肽合成领域建立的技术,如固相方式,来制备 HSA 接头或 HSA 接头结合物。固相合成涉及将氨基酸残基逐步加入连接于不溶性载体或基质(如聚苯乙烯)的生长的肽链。首先将肽的羧基末端残基锚定于商用载体,其中它的氨基基团受到 N-保护剂的保护,如叔丁氧基羰基基团(tBoc)或苄基甲氧基羰基(FMOC)基团。用适宜的去保护剂如在 tBOC 或哌啶(用于 FMOC)的情况下的 TFA 除去氨基保护基团,接着连同偶联剂如二环碳二亚胺(DCC)一起添加下一个氨基酸残基(以 N 保护形式)。在形成肽键以后,将试剂从载体洗去。在添加最后残基以后,用适宜的试剂,如三氟乙酸(TFA)或氟化氢(HF),从载体上切割药剂。如果需要的话,具有或没有以上描述的一种或多种可选的元件的 HSA 接头可以制备成一个、两个、三个、或更多节段,然后可以将其连接起来以形成整个 HSA 接头构建体。

[0106] 结合部分

[0107] HSA 接头结合物可包括一种或多种结合部分,如抗体、抗体片段(如本文中所定义的,例如,单链 Fv(scFv))或受体/配体(即,蛋白或糖蛋白配体或受体),其便于 HSA 接头结合物选择性地和特异性结合于靶细胞、组织、或器官。可以将结合部分结合于 HSA 接头(例如,经由共价(例如,肽键)、离子、或疏水键,或经由高亲和力蛋白-蛋白结合相互作用(例如,生物素和抗生物素蛋白))。

[0108] 可以将一种或多种结合部分结合于 HSA 接头。在一个实施方式中,可以将两种或更多种相同的结合部分(即,具有相同结构和结合亲和力的部分)结合于 HSA 接头,一种或多种(例如,串联)各自在氨基和羧基末端,从而 HSA 接头提供结合部分与它们的靶抗原的更强的亲和力。可替换地,可以将两种或更多种不同的结合部分(例如,抗体,如对于两种或更多种不同的靶分子具有结合亲和力的 scFv,或对于相同靶分子上的两种或更多种不同的抗原表位具有结合亲和力的 scFv)结合于 HSA 接头(例如,双特异性 HSA 接头结合物),以便于 HSA 接头结合物结合于多个靶抗原或抗原表位。在另一个实施方式中,还可以将不同物种的结合部分结合于 HSA 接头,以赋予接头结合物,例如,两种或更多种不同的结合特异性或激动/拮抗生物性能。用于制备双特异性 HSA 接头结合物的结合部分对的有利组合披露于,例如,国际专利申请出版物 W02006/091209 和 W0 2005/117973,其以引用方式结合于本文。在其它实施方式中,可以将两种以上的结合部分(例如,相同或不同的结合部分)

结合于 HSA 接头以形成 HSA 接头结合物。

[0109] 本发明的特征在于一种 HSA 接头结合物, 该 HSA 接头结合物具有至少第一和第二结合部分, 每一部分可以结合于 HSA 接头的氨基或羧基末端, 或结合于存在于任一末端或两个末端的肽连接物 (如本文中所定义的)。图 1 示出典型的突变 HSA 接头, 其中通过氨基末端肽连接物 AAS 和羧基末端肽连接物 AAAL (SEQ ID NO :5), 两个结合部分 (“臂 1” 和 “臂 2”) 结合于突变 HSA 接头。还可以, 例如, 共价地或离子地, 例如, 利用生物素 - 抗生物素蛋白相互作用, 将结合部分 (例如, 抗体或 scFv) 结合于其它位置 (例如, HSA 接头的内部氨基酸残基)。胺 (例如, 赖氨酸残基) 和巯基 (例如, 半胱氨酸残基) 氨基酸侧链的生物素化在本领域是已知的并且可以用来将结合部分连接于 HSA 接头。

[0110] 可以包括在 HSA 接头结合物中的结合部分包括抗体、抗体片段、受体、以及配体。结合于 HSA 接头的结合部分可以是重组的 (例如, 人、鼠、嵌合、或人源化的)、合成的、或天然的。典型的结合部分包括, 例如, 完全抗体、域抗体、双抗体、三抗体、双特异性抗体、抗体片段、Fab 片段、F(ab')₂ 分子、单链 Fv(scFv) 分子、双特异性单链 Fv((scFv')₂) 分子、串联 scFv 片段、抗体融合蛋白、激素、受体、配体、和适体, 以及它们的生物学活性片段。

[0111] 抗体

[0112] 抗体包括 IgG、IgA、IgM、IgD、以及 IgE 类型。如在本文中所使用的, 它们的抗体或抗体片段包含一个或多个互补决定区 (CDR) 或结合肽, 其结合于存在于靶细胞的外部或内部的靶蛋白、糖蛋白、或抗原表位。

[0113] 本文描述的许多抗体、或它们的片段可以在可变区和恒定区进行非关键氨基酸取代、添加或缺失而没有丧失结合特异性或效应子功能、或结合亲和力的过度减小 (例如, 低于约 10^{-7} M)。通常, 包含上述改变的抗体或抗体片段相对于它所源自的参比抗体或抗体片段具有明显的序列同一性。有时, 和所源自的参比抗体或抗体片段相比, 可以选择具有相同特异性和增加的亲和力的突变抗体或抗体片段。噬菌体展示技术提供了有力的技术来选择上述抗体。参见, 例如, Dower et al., WO 91/17271 McCafferty et al., WO92/01047; 以及 Huse, WO 92/06204, 其以引用方式结合于本文。

[0114] 还可以将 HSA 接头结合于抗体的一个或多个片段, 抗体的一个或多个片段保留特异性地结合于靶抗原的能力。抗体片段包括分离的重链可变区、轻链可变区、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、以及 scFv。可以通过完整免疫球蛋白的酶促或化学分离来产生片段。例如, 通过用胃蛋白酶在 pH3.0-3.5 下进行蛋白水解消化并利用标准方法如在 Harlow and Lane, Antibodies :A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Pubs., N.Y(1988) 中所描述的那些标准方法, F(ab')₂ 片段可以获自 IgG 分子。通过有限还原, Fab 片段可以获自 F(ab')₂ 片段, 或通过在有还原剂存在的条件下用木瓜蛋白酶进行消化, Fab 片段可以获自整个抗体。还可以通过重组 DNA 技术来产生片段。通过用限制性内切酶消化全长编码序列、或通过从头合成来产生编码所选片段的核酸的片段。经常以噬菌体外壳融合蛋白的形式来表达片段。这种表达方式有利于加强抗体的亲和力。

[0115] 人源化抗体

[0116] 人源化抗体可与 HSA 接头组合使用, 其中一个或多个抗体 CDR 来自非人抗体序列, 以及一个或多个, 但优选所有的, CDR 特异性地结合于抗原 (例如, 蛋白、糖蛋白、或其它适宜的抗原表位)。

[0117] 人源化抗体包含基本上来自人抗体的恒定框架区（所谓的受体抗体），以及，在一些情况下，大多数的可变区来自人抗体。一个或多个 CDR（所有或其部分，以及围绕一个或多个 CDR 的离散的氨基酸）提供自非人抗体，如小鼠抗体。抗体的恒定区可以或可以不存在。

[0118] 如果人可变域构架采用和 CDR 所源自的小鼠可变构架相同或类似的构象，则一个或多个小鼠 CDR 取代进入人可变域构架更可能导致它们保留正确的空间取向。这是通过从人抗体获得人可变域来实现的。其中人抗体的构架序列与 CDR 所源自的鼠可变构架域具有高度的序列和结构同一性。重链和轻链可变框架区可以来自相同或不同的人抗体序列。人抗体序列可以是自然发生的人抗体的序列、若干人抗体的共有序列，或可以是人种系可变域序列。参见，例如，Kettleborough et al., Protein Engineering 4:773(1991)；Kolbinger et al., Protein Engineering 6:971(1993)。

[0119] 通过小鼠可变区的氨基酸序列和已知人抗体的序列的序列对比来鉴定适宜的人抗体序列。分开地对重链和轻链进行比较，但原理是类似的。

[0120] 用于制备嵌合和人源化抗体以及抗体片段的方法描述于，例如，美国专利号 4,816,567、5,530,101、5,622,701、5,800,815、5,874,540、5,914,110、<http://patft.uspto.gov/netacgi/-h0http://patft.uspto.gov/netacgi/-h25>、928,904、6,210,670、6,677,436、以及 7,067,313，以及美国专利申请号 2002/0031508、2004/0265311、以及 2005/0226876。抗体或其片段的制备进一步描述在，例如，美国专利号 6,331,415、6,818,216、以及 7,067,313 中。

[0121] 受体和配体

[0122] 在某些 HSA 接头结合物中，蛋白或糖蛋白受体或配体结合于 HSA 接头。结合有受体或配体的 HSA 接头可以用来，例如，特异性地靶向分泌蛋白、细胞（例如，癌细胞）、组织、或器官。另外，靶受体或配体的 HSA 接头-受体或-配体结合物的特异性结合可以关联在细胞内或细胞间信号通路中引起激动或拮抗生物活性。正如本文描述的其它结合部分一样，可以将受体和配体、或它们的片段连接于 HSA 接头的氨基和 / 或羧基末端、或连接于连接于 HSA 接头的肽连接物或连接于 HSA 接头中的氨基酸残基。

[0123] 可以连接于 HSA 接头的典型的受体和配体包括但不限于胰岛素样生长因子 1 受体 (IGF1R)、IGF2R、胰岛素样生长因子 (IGF)、间充质上皮转化因子受体 (c-met；还称作肝细胞生长因子受体 (HGFR))、肝细胞生长因子 (HGF)、表皮生长因子受体 (EGFR)、表皮生长因子 (EGF)、神经生长因子、成纤维细胞生长因子受体 (FGFR)、血小板衍生生长因子受体 (PDGFR)、血小板衍生生长因子 (PDGF)、血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、血管内皮生长因子 (VEGF)、肿瘤坏死因子受体 (TNFR)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、TNF- β 、叶酸受体 (FOLR)、叶酸转铁蛋白受体 (TfR)、间皮素、Fc 受体、c-kit 受体、c-kit、 $\alpha 4$ 整联蛋白、P-选择素、鞘氨醇-1-磷酸受体-1 (S1PR)、透明质酸受体、白细胞功能抗原-1 (LFA-1)、CD4、CD 11、CD18、CD20、CD25、CD27、CD52、CD70、CD80、CD85、CD95 (Fas 受体)、CD106 (血管细胞粘附分子 1 (VCAM1))、CD 166 (活化白细胞粘附分子 (ALCAM))、CD178 (Fas 配体)、CD253 (TNF-相关凋亡诱导配体 (TRAIL))、ICOS 配体、CCR2、CXCR3、CCR5、CXCL12 (基质细胞衍生因子 1 (SDF-1))、白细胞介素 1 (IL-1)、CTLA-4、受体 α 和 β 、MART-1、gp100、MAGE-1、ephrin (Eph) 受体、黏膜地址素细胞黏附分子 1 (MAdCAM-1)、癌胚抗原 (CEA)、Lewis^x、MUC-1、

上皮细胞粘附分子 (EpCAM)、癌抗原 125 (CA125)、前列腺特异性膜抗原 (PSMA)、TAG-72 抗原、以及它们的生物活性片段。

[0124] 利用上文描述的任何方法,受体和配体可以被表达、分离、或连接于 HSA 接头。

[0125] 诊断剂

[0126] 可以将 HSA 接头、或与其结合的任何结合部分(例如,抗体、抗体片段、受体、或配体)连接于螯合剂或连接于可检测标记以形成诊断剂。还设想 HSA 接头结合物,其包括可检测标记(如本文中描述的)、以及本文描述的一种或多种治疗剂或结合部分。

[0127] 可通过使 HSA 接头(或 HSA 接头结合物)的苏氨酸残基的游离氨基基团和螯合剂的适当的官能团,如羧基基团或激活酯反应来结合 HSA 接头(或 HSA 接头结合物)和螯合剂成分。例如,当用乙烯链上的羧基取代基官能化时,可以通过加入配位化学领域常见的螯合剂乙二胺四乙酸(EDTA)来实现这样的结合。这种类型的 EDTA 衍生物的合成报道于 Arya et al. (Bioconjugate Chemistry 2:323(1991)),其描述了用叔丁基基团阻断四个配位羧基基团的每一个,同时在乙烯链上的羧基取代基可以自由和药剂的肽部分的氨基基团反应。

[0128] HSA 接头或 HSA 接头结合物可以结合金属螯合剂成分,金属螯合剂成分是肽,即与固相肽合成相容。在这种情况下,可以以和上述 EDTA 相同的方式结合螯合剂,或更方便地,可以合成螯合剂和 HSA 接头或 HSA 接头结合物:完全开始于 HSA 接头或 HSA 接头结合物的羧基末端残基,并结束于螯合剂的氨基末端残基。

[0129] HSA 接头或 HSA 接头结合物可以进一步结合连接基团成分,其用来将 HSA 接头连接于螯合剂,同时并不有害地影响 HSA 接头的生物性能、HSA 接头结合物的结合部分的靶向功能、或螯合剂的金属结合功能。适宜的连接基团包括用活性基团官能化的氨基酸链和烷基链,以便偶合于 HSA 接头或 HSA 接头结合物并偶合于螯合剂。当螯合剂是肽时,氨基酸链是优选的连接基团,以便可以完全通过固相技术来合成 HSA 接头或 HSA 接头结合物。通过反应 HSA 接头的肽部分的苏氨酸残基的氨基基团和在烷基链上的第一官能团,如羧基基团或激活酯,可以将烷基链-连接基团加入 HSA 接头或 HSA 接头结合物。随后,通过反应在烷基链上的第二官能团和螯合剂上的适当基团,将螯合剂连接于烷基链以完成 HSA 接头或 HSA 接头结合物的形成。在烷基链上的第二官能团选自这样的取代基,其对于螯合剂上的官能团具有反应性,但对于突变 HSA 接头的苏氨酸残基则没有反应性。例如,当螯合剂结合官能团如羧基基团或激活酯时,烷基链-连接基团的第二官能团可以是氨基基团。应当明了,HSA 接头或 HSA 接头结合物的形成可能需要存在的官能团的保护和去保护,以避免形成不期望的产物。利用有机合成领域常见的保护基团、试剂、以及方法,来完成保护和去保护。尤其是,可以使用以上描述的用于固相肽合成的保护和去保护技术。

[0130] 一种可替换的用于烷基链的化学连接基团是聚乙二醇(PEG),其以和上述烷基链相同的方式被官能化,以加入 HSA 接头或 HSA 接头结合物。应当明了,可以可替换地将连接基团首先结合于螯合剂,然后结合于 HSA 接头或 HSA 接头结合物。

[0131] 一方面,HSA 接头或 HSA 接头结合物被结合于诊断上有用的能够形成复合物的金属。适宜的金属包括,例如,放射性核素,如以它们的不同形式存在的锝和铼(例如, $^{99m}\text{TcO}^{3+}$ 、 $^{99m}\text{TcO}_2^+$ 、 ReO^{3+} 、以及 ReO_2^+)。可以通过在配位化学领域中常见的各种方法将金属加入 HSA 接头或 HSA 接头结合物。当金属是锝-99m 时,以下一般程序可以用来形成锝复合物。通过将 HSA 接头或 HSA 接头结合物溶解在含水醇如乙醇中最初形成 HSA 接头-螯合剂结合物溶液。

然后对溶液进行脱气以除去氧,接着用适宜的试剂,例如,用氢氧化钠,除去硫羟保护基团,然后用有机酸,如乙酸 (pH6.0-6.5) 进行中和。在标记步骤中,将获自钼发生器的化学计算过量的高锝酸钠加入结合物的溶液,其中还原剂如氯化亚锡的量足以还原锝,并加热。通过层析法,例如,借助于 C-18Sep Pak 柱体,可以将标记 HSA 接头或 HSA 接头结合物分离自污染物 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 和胶态 $^{99m}\text{TcO}_2$ 。

[0132] 在一个可替换方法中,可以通过跨整合反应 (transchelation reaction) 来标记 HSA 接头。锝源是复合于不稳定配体的锝的溶液,以促进配体与所选整合剂的交换。用于跨整合的适宜配体包括酒石酸盐、柠檬酸盐、以及庚葡萄糖酸盐 (heptagluconate)。在这种情况下,优选的还原剂是连二硫酸钠 (sodium dithionite)。应当明了,可以利用以上描述的技术来标记 HSA 接头或 HSA 接头结合物,或可替换地,可以标记整合剂本身,然后连接于 HSA 接头,以形成 HSA 接头-整合剂结合物;一种称作“预标记配体”方法的过程。

[0133] 用于标记 HSA 接头、或与其结合的任何药剂的另一种方式涉及通过在金属螯合作用下被切割的连接将 HSA 接头-整合剂结合物免疫固定在固相载体上。当通过一个络合原子,整合剂连接于载体的官能团时,就可以实现。优选地,将络合硫原子连接于载体,该载体用硫保护基团如马来酰亚胺加以官能化。

[0134] 当标记有诊断上有用的金属时,通过在诊断成像领域建立的程序,包括 HSA 接头-整合剂结合物的药剂可以用来检测这样的组织,其具有发展以下疾病的风险:癌症(例如,肺癌、乳腺癌、结肠癌、以及前列腺癌)、年龄相关疾病(例如,心血管疾病、脑血管疾病、或阿尔茨海默病)、烟草相关疾病(例如,气肿、主动脉瘤、食管癌、或头部和颈部的鳞状细胞癌)。可以通过静脉内注射并用药用溶液,如等渗盐水,或通过本文描述的其它方法,将结合有用放射性核素金属,如锝-99m 标记的 HSA 接头的药剂给予哺乳动物(例如,人)。适合于给予的标记药剂的量取决于所选 HSA 接头或 HSA 接头结合物的分布特性,这意味着:和结合有较慢清除的 HSA 接头或 HSA 接头结合物的药剂相比,结合有较快清除的 HSA 接头或 HSA 接头结合物的药剂可以以更高剂量给予。对于 70kg 个体,可接受的用于成像组织的单位剂量为约 5-40mCi。在给予以后的适当时间,通常在 30 分钟和 180 分钟之间并且长达约 5 天(其取决于相对于在非靶组织处的清除率,在靶部位的积聚速率),可以通过本文描述的标准技术来示踪结合有标记 HSA 接头或 HSA 接头结合物的药剂的体内分布和局部化。

[0135] 还可以修饰或标记 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分,以方便诊断或治疗应用。可以将可检测标记如放射性标记、荧光标记、重金属标记、或其它分子标记结合于任何药剂。药剂的单、双、或多重标记可以是有利的。例如,借助于一个或多个残基的放射性碘化作用的双标记连同另外的例如, ^{90}Y 经由整合基团结合于含胺侧或活性基团,将便于组合标记。这可以有利于特定的诊断需要如鉴定广泛分布的小瘤细胞质量。

[0136] 还可以修饰 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分,例如,通过卤化肽成分的酪氨酸残基。卤素包括氟、氯、溴、碘、以及砹。可以可检测地标记上述卤化剂,例如,如果卤素是放射性同位素,如,例如, ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{77}Br 、 ^{122}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、或 ^{211}At 。卤化剂包含卤素,该卤素共价结合于至少一个氨基酸,并且优选结合于在每个药剂分子中的 D-Tyr 残基。其它适宜的可检测修饰包括将其它化合物(例如,荧光色素如荧光素)结合于药剂的赖氨酸残基、或类似物,尤其是具有包括赖氨酸的接头的药剂或类似物。

[0137] 用于放射性标记 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分的放射性同位素包括任

何放射性同位素,其可以共价结合于药剂或其类似物的肽成分的残基。放射性同位素还可以选自发射 β 或 γ 辐射的放射性同位素,或可替换地,可以修饰任何药剂以包含螯合基团,该螯合基团,例如,可以共价结合于 HSA 接头或与其结合的任何肽剂的赖氨酸残基。然后可以修饰螯合基团以包含任何各种放射性同位素,如镓、铟、镱、铕、铽、或铈(例如, ^{125}I 、 ^{67}Ga 、 ^{111}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{169}Yb 、 ^{186}Re)。

[0138] 可以通过附着放射性同位素来修饰 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分。优选的放射性同位素是那些放射性同位素,其放射性半衰期对应于、或长于所用 HSA 结合物的生物半衰期。更优选地,放射性同位素是卤素原子的放射性同位素(例如,氟、氯、溴、碘、以及碲的放射性同位素),甚至更优选 ^{75}Br 、 ^{77}Br 、 ^{76}Br 、 ^{122}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、或 ^{211}At 。

[0139] 可以将结合有 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分的药剂连接于放射性金属并用于射线照相成像或放射疗法。优选的放射性同位素还包括 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{140}La 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{156}Ho 、 ^{165}Dy 、 ^{64}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、以及 ^{214}Bi 。金属的选择取决于所期望的治疗或诊断用途。

[0140] 可以将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分连接于金属成分,以产生诊断或治疗剂。可检测标记可以是来自重元素的金属离子或稀土离子,如 Gd^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{3+} 、或 Cr^{2+} 。结合有具有与其连接的顺磁或超顺磁金属的 HSA 接头的药剂可以在 MRI 成像应用中用作诊断剂。顺磁金属包括但不限于铬(III)、锰(II)、铁(II)、铁(III)、钴(II)、镍(II)、铜(II)、镓(III)、钆(III)、钐(III)、钆(III)、铽(III)、镱(III)、铕(III)、以及铕(III)。

[0141] 螯合基团可以用来将可检测标记或其它分子间接连接于 HSA 接头或与其结合的药剂。螯合基团可以连接药剂和放射性标记,如双官能稳定的螯合剂,或可以被连接于一个或多个末端或内部氨基酸活性基团。可以经由异硫氰酸盐 β -Ala 或适当的非 α -氨基酸接头(其防止埃德孟降解)来连接 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分。本领域已知的螯合剂的实例包括,例如,亚氨基羧酸(ininocarboxylic acid)和聚氨基聚羧酸(polyaminopolycarboxylic)活性基团、亚氨基羧酸和聚氨基聚羧酸活性基团、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、以及 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)。

[0142] HSA 接头,当重组表达时,可以连接于肽可检测标记或诊断剂。可以用作 HSA 接头的可检测标记的肽和蛋白包括但不限于荧光蛋白、生物发光蛋白、以及表位标签,下文详细讨论它们的每一种。还可以将一种或多种的这些可检测标记加入 HSA 接头结合物,其还包括治疗剂、细胞毒性剂、或细胞生长抑制剂。

[0143] 荧光蛋白或荧光色素,如绿色荧光蛋白(GFP;SEQ ID NO:47)、增强的 GFP(eGFP)、黄色荧光蛋白(SEQ ID NO:48;YFP)、青色荧光蛋白(SEQ ID NO:49;CFP)、以及红色荧光蛋白(SEQ ID NO:50;RFP 或 DsRed)可以用作连接于 HSA 接头的可检测标记。在用编码荧光蛋白的核苷酸序列的表达性载体转染或转导细胞以后,可以将荧光蛋白重组表达在细胞(例如,血细胞,如淋巴细胞)中。在荧光蛋白暴露于光的刺激频率以后,荧光蛋白将以低、中、或高强度发射光,其可以通过在显微镜下用眼或通过光学成像装置观测到。适合用作药剂的诊断序列的典型的荧光蛋白描述于,例如,美国专利号 7,417,131 和 7,413,874,其各自以引用方式结合于本文。

[0144] 生物发光蛋白还可以用作加入 HSA 接头的可检测标记。生物发光蛋白,如荧光素

酶（例如，萤火虫（SEQ ID NO :51）、Renilla（SEQ ID NO :52）、以及 Omphalotus 荧光素酶）和水母素，作为与物质（例如，荧光素和 coelenterazine）的化学反应的一部分发射光。在一个实施方式中，编码荧光素酶基因的载体提供了细胞（例如，血细胞，如淋巴细胞）的体内、体外、或在活体外检测，其中上述细胞已根据如本文中描述的那些标准方法加以转导或转染。适合用作诊断序列的典型生物发光蛋白以及它们的使用方法描述于，例如，美国专利号 5, 292, 658、5, 670, 356、6, 171, 809、以及 7, 183, 092，其各自以引用方式结合于本文。

[0145] 表位标签是短氨基酸序列，例如，长度为 5-20 个氨基酸残基，其可以作为可检测标记加入 HSA 接头结合物，以方便表达在细胞中、分泌自细胞、或结合于靶细胞以后的检测。可以通过与相对于表位标签具有特异性的抗体、抗体片段、或其它结合分子的相互作用来检测结合有表位标签作为诊断序列的药剂。可以通过克隆天然基因的适当部分或通过合成编码表位标签的多核苷酸来产生编码表位标签的核苷酸序列。结合表位标签的抗体、抗体片段、或其它结合分子可以直接结合可检测标记（例如，荧光色素、放射性标记、重金属、或酶如辣根过氧化物酶）或本身作为结合有上述标记的二抗、抗体片段、或其它结合分子的靶。可以用作诊断序列的典型的表位标签包括 c-myc（SEQ ID NO :33）、血凝素（HA ;SEQ ID NO :34）、以及组氨酸标签（His₆ ;SEQ ID NO :35）。另外，荧光（例如，GFP）和生物发光蛋白也可以用作表位标签，因为商业上可获得抗体、抗体片段、以及其它结合分子来检测这些蛋白。

[0146] 可以利用显微镜、流式细胞器、光度计、或其它现有技术的光学成像装置，如 IVIS[®] Imaging System（Caliper LifeSciences, Hopkinton, MA），在体内、体外、或在活体外检测、成像、或示踪 HSA 接头结合物，HSA 接头结合物结合有诊断序列（例如，荧光蛋白、生物发光蛋白、或表位标签）或表达 HSA 接头结合物或与其结合的任何细胞。

[0147] 连接于 HSA 接头的治疗剂或细胞毒性剂

[0148] 可以将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分连接于任何已知的细胞毒性或治疗部分以形成药剂（HSA 接头结合物），可以给予该药剂以治疗、抑制、减少、或改善疾病（例如，癌症、自身免疫病、或心血管疾病）或疾病的一种或多种症状。实例包括但不限于抗肿瘤剂如：阿西维辛；阿柔比星；盐酸阿考达唑；阿克罗宁；阿多来新；多柔比星；阿地白介素；六甲蜜胺；安波霉素；醋酸阿美萸醌；氨鲁米特；安吡啶；阿那曲唑；安曲霉素；天冬酰氨酶；曲林菌素；阿扎胞苷；阿扎替派；阿佐霉素；巴马司他；苯佐替派；比卡鲁胺；盐酸比生群；甲磺酸双奈法德；比折来新；硫酸博来霉素；布喹那钠；溴匹立明；白消安；放线菌素 c；卡普唑酮；喜树碱；卡醋酸；卡贝替姆；卡铂；卡莫司汀；盐酸卡柔比星；卡折来新；西地芬戈；苯丁酸氮芥；西罗霉素；顺铂；克拉屈滨；考布他汀 a-4（combretastatin a-4）；甲磺酸克立那托；环磷酰胺；阿糖胞苷；达卡巴嗪；daca（n-[2-（二甲基氨基）乙基]吡啶-4-咪唑羧酰胺）；放线霉素 d；盐酸柔红霉素；道诺霉素；地西他滨；右奥马铂；地扎呱宁；甲磺酸地扎呱宁；地吡醌；多西他赛；多拉司他汀（dolasatins）；多柔比星；盐酸多柔比星；屈洛昔芬；柠檬酸屈洛昔芬；丙酸屈他雄酮；达佐霉素；依达曲沙；盐酸依氟鸟氨酸；椭圆玫瑰树碱；依沙芦星；恩洛铂；恩普氨酯；依匹哌啶；盐酸表柔比星；厄布洛唑；盐酸依索比星；雌莫司汀；雌莫司汀硫酸酯钠；依他硝唑；乙碘油 i 131；依托泊苷；磷酸依托泊苷；氯苯乙嘧啶；盐酸法屈唑；法扎拉滨；芬维 a 胺；氟尿苷；磷酸氟达拉滨；氟尿嘧啶；5-fdump；氟西他滨；磷喹酮；福司曲星钠；吉西他滨；盐酸吉西他滨；金 au 198；高喜树碱；

羟基脲;盐酸伊达比星;异环磷酰胺;伊莫福新;干扰素 α -2a;干扰素 α -2b;扰素 α -n1;干扰素 α -n3;干扰素 β -ia;干扰素 γ -ib;异丙铂;盐酸依立替康;醋酸兰瑞肽;来曲唑;乙酸亮丙立德;盐酸利阿唑;洛美曲索钠;洛莫司汀;盐酸洛索蒽醌;马索罗酚;美坦生;盐酸氮芥;醋酸甲地孕酮;醋酸美仑孕酮;美法仑;美诺立尔;巯嘌呤;甲氨蝶呤;甲氨蝶呤钠;氯苯氨啉;美妥替哌;米丁度胺;米托卡星;丝裂红素;米托洁林;米托马星;丝裂霉素;米托司培;米托坦;盐酸米托蒽醌;麦考酚酸;诺考达唑;诺拉霉素;奥马铂;奥昔舒仑;紫杉醇;培门冬酶;培利霉素;奈莫司汀;硫酸培洛霉素;培磷酰胺;哌泊溴烷;哌泊舒凡;盐酸吡罗蒽醌;普卡霉素;普洛美坦;吡吩姆钠;泊非霉素;泼尼莫司汀;盐酸丙卡巴肼;嘌罗霉素;盐酸嘌罗霉素;吡唑呋林;根霉素;根霉素 d;利波腺苷;罗谷亚胺;沙芬戈;盐酸沙芬戈;司莫司汀;辛曲秦;磷乙酰天冬氨酸钠;司帕霉素;盐酸锗螺胺;螺莫司汀;螺铂;链黑霉素;链佐星;氯化锶 sr89;磺氯苯脲;他利霉素;紫杉烷;taxoid;替可加兰钠;替加氟;盐酸替洛蒽醌;替莫泊芬;替尼泊苷;替罗昔隆;鞣内酯;thiamiprine;硫鸟嘌呤;塞替派;thymitaq;噻唑呋林;替拉扎明;拓优得;top53;盐酸托泊替康;枸橼酸托瑞米芬;醋酸曲托龙;磷酸曲西立滨;三甲曲沙;葡糖醛酸三甲曲沙;曲普瑞林;盐酸妥布氯唑;乌拉莫司汀;乌瑞替派;伐普肽;维替泊芬;长春碱;硫酸长春碱;长春新碱;硫酸长春新碱;长春地辛;硫酸长春地辛;硫酸长春匹定;硫酸长春甘酯;硫酸长春罗辛;酒石酸长春瑞滨;硫酸长春罗定;硫酸长春利定;伏氯唑;折尼铂;净司他丁;盐酸佐柔比星;2'-氯脱氧腺苷;2'-脱氧间型霉素;9-氨基喜树碱;雷替曲塞;N-炔丙基-5,8-二脱氮杂叶酸(N-propargyl-5,8-dideazafolic acid);2-氯-2'-阿拉伯-氟-2'-脱氧腺苷(2chloro-2'-arabino-fluoro-2'-deoxyadenosine);2-氯-2'-脱氧腺苷;茴香霉素;曲古抑霉素 A;hPRL-G129R;CEP-751;利诺胺;硫芥子气;氮芥;环磷酰胺;美法仑;苯丁酸氮芥;异环磷酰胺;白消安;N-甲基-N-亚硝基脲(MNU);N,N'-二(2-氯乙基)-N-亚硝基脲(BCNU);N-(2-氯乙基)-N'-环己基-N-亚硝基脲(CCNU);N-(2-氯乙基)-N'-(反-4-甲基环己基)-N-亚硝基脲(MeCCNU);N-(2-氯乙基)-N'-(二乙基)乙膦酸酯-N-亚硝基脲(福莫司汀);链佐星(streptozotocin);diacarbazine(DTIC);米托唑胺;替莫唑胺;塞替派;丝裂霉素 C;AZQ;阿多来新;顺铂;卡铂;奥马铂;奥沙利铂;C1-973;DWA 2114R;JM216;JM335;二(铂);拓优得;阿扎胞苷;阿糖胞苷;吉西他滨;6-巯基嘌呤;6-硫鸟嘌呤;次黄嘌呤;替尼泊苷;9-氨基喜树碱;托泊替康;CPT-11;多柔比星;道诺霉素;表柔比星;darubicin;米托蒽醌;洛索蒽醌;放线霉素 D;安吡啶;吡唑吡啶(pyrazoloacridine);全反式视黄醇;14-羟基-逆-视黄醇;全反式视黄酸;N-(4-羟基苯基)视黄酰胺(N-(4-Hydroxyphenyl)retinamide);13-顺式视黄酸;3-甲基 TTNEB;9-顺式视黄酸;氟达拉滨(2-F-ara-AMP);或 2-氯脱氧腺苷(2-Cda)。

[0149] 其它治疗性化合物包括但不限于 20-pi-1,25 二羟基维生素 D3;5-乙炔基尿嘧啶;阿比特龙;阿柔比星;酰基富烯;adecypenol;阿多来新;阿地白介素;ALL-TK 拮抗剂;六甲蜜胺;氨莫司汀;amidox;氨磷汀;5-氨基酮戊酸;氨柔比星;安吡啶;阿那格雷;阿那曲唑;穿心莲内酯;血管生成抑制剂;拮抗剂 D;拮抗剂 G;antarelix;抗背侧化形态发生蛋白-1(anti-dorsalizing morphogenetic protein-1);抗雄激素药,前列腺癌;抗雌激素药;抗癌酮;反义寡核苷酸;氨基乙酸阿非迪霉素;细胞凋亡基因调节剂;细胞凋亡调节剂;无嘌呤酸;ara-CDP-DL-PTBA;精氨酸脱氨酶;asulacrine;阿他美坦;阿莫司汀;

axinastatin 1; axinastatin 2; axinastatin 3; 阿扎司琼; 阿扎毒素; azatyrosine; 浆果赤霉素 III 衍生物; balanol; 巴马司他; BCR/ABL 拮抗剂; 苯并二氢卟吩; 苯甲酰星孢素; β 内酰胺衍生物; β -alethine; betaclamycin B; 白桦脂酸; bFGF 抑制剂; 比卡鲁胺; 比生群; 双吡丙啶基精胺; 双奈法德; bistratene A; 比折来新; breflate; 博来霉素 A2; 博来霉素 B2; 溴匹立明; 布度钛; buthionine sulfoximine; 卡泊三醇; calphostin C; 喜树碱衍生物 (例如, 10-羟基-喜树碱); 金丝雀痘 IL-2; 卡培他滨; 咪唑羧酰胺-氨基-三唑; 羧基酰氨基三唑; CaRest M3; CARN 700; 源自软骨的抑制剂; 卡折来新; 酪蛋白激酶抑制剂 (ICOS); 粟精胺; 杀菌肽 B; 西曲瑞克; 二氢卟吩; 氯喹噁啉磺酰胺 (chloroquinoline sulfonamide); 西卡前列素; 顺式卟啉; 克拉屈滨; 氯米芬类似物; 克霉唑; collismycin A; collismycin B; 考布他汀 A4; 考布他汀类似物; conagenin; crambescidin 816; 克立那托; cryptophycin 8; cryptophycin A 衍生物; curacin A; 环戊蒽酮 (cyclopentantraquinones); cycloplatam; cypemycin; cytarabine ocfosfate; 溶细胞因子; 细胞生长抑制素 (cytostatin); 达昔单抗; 地西他滨; dehydridemnin B; 2' 脱氧助间型霉素 (DCF); 地洛瑞林; dexifosfamide; 右雷佐生; 右维拉帕米; 地吡醌; didemnin B; didox; diethylnorspermine; 二氢-5-氮杂胞苷; 二氢 taxol, 9-; dioxamycin; 二苯螺莫司汀; discodermolide; 二十二烷醇; 多拉司琼; 去氧氟尿苷; 屈洛昔芬; 屈大麻酚; duocarmycin SA; 依布硒啉; 依考莫司汀; 依地福新; 依决可单抗; 依氟鸟氨酸; 榄香烯; 乙噻替氟; 表柔比星; epothilones (A, R = H; B, R = Me); epithilones; 依立雄胺; 雌莫司汀类似物; 雌激素激动剂; 雌激素拮抗剂; 依他硝唑; 依托泊苷; 依托泊苷 4' - 磷酸 (凡毕复); 依西美坦; 法倔唑; 法扎拉滨; 芬维 A 胺; 非格司亭; 非那雄胺; flavopiridol; 氟卓斯汀; fluasterone; 氟达拉滨; fluorodaunorubicin hydrochloride; 福酚美克; 福美坦; 福司曲星钠; 福莫司汀; 钆 texaphyrin; 硝酸镓; 加洛他滨; 加尼瑞克; 明胶酶抑制剂; 吉西他滨; 谷胱甘肽抑制剂; hepsulfam; 神经生长因子; 亚己基二乙酰胺; 高三尖杉酯碱 (HHT); 金丝桃素; 伊班膦酸; 伊达比星; 艾多昔芬; 伊决孟酮; 伊莫福新; 伊洛马司他; 咪唑并吡啶酮; 咪唑莫特; 免疫刺激肽; 胰岛素样生长因子-1 受体抑制剂; 干扰素激动剂; 干扰素; 白细胞介素; 碘苄胍; 碘多柔比星; 依波米醇, 4-; 伊立替康; 伊罗普拉; 伊索拉定; isobengazole; isohomohalicondrin B; 伊他司琼; jasplakinolide; kahalalide F; lamellarin-N 三醋酸; 兰瑞肽; leinamycin; 来格司亭; 硫酸香菇多糖; leptolstatin; 来曲唑; 白血病抑制因子; 白细胞 α 干扰素; 亮丙立德 + 雌激素 + 黄体酮; 亮丙瑞林; 左旋咪唑; 利阿唑; 线性多胺类似物; 亲脂性二糖肽; 亲脂性铂化合物; lissoclinamide 7; 洛铂; lombricine; 洛美曲索; 氯尼达明; 洛索蒽醌; 洛伐他汀; 洛索立宾; 勒托替康; 镱 texaphyrin; lysofylline; 裂解肽; 美坦生; mannostatin A; 马立马司他; 马索罗酚; maspin; matrilysin 抑制剂; 间质金属蛋白酶抑制剂; 美诺立尔; rnerbarone; 美替瑞林; 蛋氨酸酶; 甲氧氯普胺; MIF 抑制剂; ifepristone; 米替福新; 米立司亭; 错配双链 RNA; 光辉霉素; 米托胍脞; 二溴卫矛醇; 丝裂霉素类似物; 米托蒽胺; mitotoxin 成纤维细胞生长因子-saporin; 米托蒽醌; 莫法罗汀; 莫拉司亭; 单克隆抗体、人绒毛促性素; 单磷酸脂质 A+myobacterium 细胞壁 sk; 莫哌达醇; 抗多药基因抑制剂; 基于多肿瘤抑制剂 1 的疗法; 芥子抗癌剂; mycaperoxide B; 分支杆菌细胞壁提取物; myriaporone; N-乙酰基地那林; N-取代的苯甲酰胺; 那法瑞林; 那瑞替喷; 纳洛酮 + 喷他佐辛; napavin; naphterpin; 那

托司亭;奈达铂;奈莫柔比星;奈立膦酸;中性肽链风切酶;尼鲁米特;nisamycin;氧化氮调节剂;nitroxide 抗氧化剂;nitrullyn;06- 苄基鸟嘌呤;奥曲肽;okicenone;寡核苷酸;奥那司酮;昂丹司琼;昂丹司琼;oracin;口服细胞因子诱导剂;奥马铂;奥沙特隆;奥沙利铂;oxaunomycin;紫杉醇类似物;紫杉醇衍生物;palauamine;棕榈酰根霉素;帕米膦酸;人参三醇;帕诺米芬;parabactin;帕折普汀;培门冬酶;培得星;戊聚硫钠;喷司他丁;pentrozole;全氟溴烷;培磷酰胺;紫苏子醇;phenazinomycin;乙酸苯酯;磷酸酯酶抑制剂;溶血性链球菌药剂;盐酸毛果芸香碱;吡柔比星;吡曲克辛;placetin A;placetin B;纤溶酶原激活抑制剂;铂复合物;铂化合物;铂-三胺复合物;鬼白毒素;吡吩姆钠;泊非霉素;丙基二吡啶酮;前列腺素 J2;蛋白酶体抑制剂;基于 A 蛋白的免疫调节剂;蛋白激酶 C 抑制剂;蛋白激酶 C 抑制剂, microalgal;蛋白酪氨酸磷酸酯酶抑制剂;嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂;红紫素;吡唑吡啶;吡多醛化血红蛋白聚氧乙烯结合物;raf 拮抗剂;雷替曲塞;雷莫司琼;ras 法呢酰基蛋白转移酶抑制剂;ras 抑制剂;ras-GAP 抑制剂;脱甲基的瑞替普汀;依替膦酸铈 Re 186;根霉素;核酶;RII 视黄酰胺;罗谷亚胺;rohitukine;罗莫肽;罗喹美克;rubiginone B 1;ruboxyl;沙芬戈;saintopin;SarCNU;sarcophytol A;沙格司亭;Sdi 1 模拟物;司莫司汀;源自衰老的抑制剂 1;有义寡核苷酸;信号转导抑制剂;信号转导调节剂;单链抗原结合蛋白;西佐喃;索布佐生;硼卡钠;苯乙酸钠;solverol;生长调节素结合蛋白;索纳明;膦门冬酸;穗霉素 D;螺莫司汀;splenopentin;spongistatin1;角鲨胺;干细胞抑制剂;干细胞分裂抑制剂;stipiamide;基质溶素抑制剂;sulfinosine;超活性血管活性肠肽拮抗剂;suradista;苏拉明;八氢吡嗪三醇;合成糖胺多糖;他莫司汀;他莫昔芬甲碘化物;牛磺莫司汀;他扎罗汀;替可加兰钠;替加氟;tellurapyrylium;端粒酶抑制剂;替莫泊芬;替莫唑胺;替尼泊苷;四氯癸氧化物;tetrazomine;thaliblastine;沙利度胺;噻可拉林;血小板生成素;血小板生成素模拟物;胸腺法新;胸腺素受体激动剂;胸腺曲南;促甲状腺激素;本紫红素乙酯锡;替拉扎明;二氯化二茂钛;托泊替康;topsentin;托瑞米芬;全能干细胞因子;翻译抑制剂;维甲酸;三乙酰尿苷;曲西立滨;三甲曲沙;曲普瑞林;托烷司琼;妥罗雄脲;酪氨酸激酶抑制剂;tyrphostins;UBC 抑制剂;乌苯美司;源自尿殖窦的生长抑制因子;尿激酶受体拮抗剂;伐普肽;变曲霉素 B;载体系统,红细胞基因疗法;维拉雷琐;veramine;verdins;维替泊芬;长春瑞滨;vinxaltine;vitaxin;伏氯唑;扎诺特隆;折尼铂;亚苄维 C;以及净司他丁斯酯。

[0150] HSA 接头结合物还可以包括位点特异性结合的分子和部分。位点特异性结合便于受控化学计量连接于细胞毒性剂、免疫调节剂、或细胞生长抑制剂的 HSA 接头中的特定残基,上述细胞毒性剂、免疫调节剂、或细胞生长抑制剂包括,例如,抗微管蛋白剂、DNA 小沟结合剂、DNA 复制抑制剂、烷化剂、蒽环霉素、抗生素、抗叶酸剂、抗代谢物、化疗或辐射敏化剂、duocarmycins、依托泊苷、氟化嘧啶、离子载体、lexitropsins、亚硝基脲、必克雷、嘌呤抗代谢物、嘌呤霉素、类固醇、紫杉烷、拓扑异构酶抑制剂、以及长春花生物碱或本文描述的任何其它分子或部分。

[0151] 用于将治疗剂结合于蛋白质、尤其结合于抗体的技术是众所周知的(例如, Arnon et al.,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy,”in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy (Reisfeld et al.,eds., Alan R.Liss, Inc.,1985);Hellstrom et al.,“Antibodies For Drug Delivery,”in

Controlled Drug Delivery (Robinson et al., eds., Marcel Dekker, Inc., 2nd ed. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in Monoclonal Antibodies' 84: Biological And Clinical Applications (Pinchera et al., eds., 1985); "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy (Baldwin et al., eds., Academic Press, 1985); Thorpe et al., Immunol. Rev. 62:119-58 (1982); 以及 Doronina et al., "Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy," Nature Biotech. 21: (7) 778-784 (2003)). 还参见, 例如, PCT 出版物 WO 89/12624。

[0152] 还可以将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分连接于裂解肽。上述裂解肽诱导细胞死亡并且包括但不限于链球菌溶血素 O; stochactis 毒素; 鹅膏肽素; 葡萄球菌 α 毒素; 海参素 A; 毛地黄皂苷; 蜂毒肽; 溶血卵磷脂; 心脏毒素; 以及 cerebratulus A 毒素 (Kem et al., J. Biol. Chem. 253(16): 5752-5757, 1978)。可将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分 (例如, 抗体或抗体片段结合物) 结合于合成肽来形成本发明的药剂, 上述合成肽和任何自然发生的肽细胞溶素共有一定的序列同源性或化学特性; 上述特性包括但不限于线性、正电荷、两亲性、以及在疏水环境中形成 α -螺旋结构 (Leuschner et al., Biology of Reproduction 73: 860-865, 2005)。还可以将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分连接于诱导补体介导的细胞溶胞的药剂如, 例如, 免疫球蛋白 Fc 亚单位。还可以将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分连接于磷脂酶家族的任何成员 (包括磷脂酶 A、磷脂酶 B、磷脂酶 C、或磷脂酶 D) 或连接于它们的催化活性亚单位。

[0153] 还可以将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分连接于放射剂以形成可以用于检测或治疗用途的药剂。可以使用的放射剂包括但不限于碘纤维蛋白原 ^{125}I ; 氟脱氧葡萄糖 ^{18}F ; 氟多巴 ^{18}F ; 胰岛素 ^{125}I ; 胰岛素 ^{131}I ; 碘苄胍 ^{123}I ; 胆影钠 ^{131}I ; 碘安替比林 ^{131}I ; 碘胆甾醇 ^{131}I ; 碘马尿酸钠 ^{123}I ; 碘马尿酸钠 ^{125}I ; 碘马尿酸钠 ^{131}I ; 碘奥酮 ^{125}I ; 碘奥酮 ^{131}I ; 盐酸碘非他胺 ^{123}I ; 碘美丁 ^{125}I ; 碘美丁 ^{131}I ; 碘拉他酸钠 ^{125}I ; 碘拉他酸钠 ^{131}I ; 酪氨酸 ^{131}I ; 碘塞罗宁 ^{125}I ; 碘塞罗宁 ^{131}I ; 乙酸汞丙醇 ^{197}Hg ; 乙酸汞丙醇 ^{203}Hg ; 汞丙醇 ^{197}Hg ; 硒蛋氨酸 ^{75}Se ; 三硫化铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 胶体; 比西酸铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 地索苯宁铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 依替膦酸铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 依美沙肟铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 呋膦; 葡庚糖酸铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 利多苯宁铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 甲溴苯宁铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 亚甲膦酸铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 亚甲膦酸二钠; 铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 巯替肽; 奥昔膦酸铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 喷替酸铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 喷替酸钙钠; 司他比铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 西硼肟铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 二巯丁二酸铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 硫胶体; 替肟铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 替曲膦铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$; 铽 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Tiatide; 甲状腺素 ^{125}I ; 甲状腺素 ^{131}I ; 碘托泊酮 ^{131}I ; 三油酸甘油酯碘 ^{125}I ; 或三油酸甘油酯碘 ^{131}I 。

[0154] 另外, 可以将放射性同位素位点特异性地连接于 HSA 接头或 HSA 接头结合物。可获得的活性基团可以用来结合位点特异性双官能螯合剂, 用于标记放射性同位素, 包括 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{121}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{77}As 、 ^{72}As 、 ^{86}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{211}At 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、或 ^{225}Ac 。

[0155] 加入或连接于 HSA 接头或 HSA 接头结合物的治疗或细胞毒性剂可以进一步包括, 例如, 抗癌辅助强化剂, 其包括但不限于: 三环类抑郁药 (例如, 丙米嗪、地昔帕明、阿米替林、氯米帕明、曲米帕明、多塞平、去甲替林、普罗替林、阿莫沙平、以及马普替林); 非三环

类抑郁药（例如，舍曲林、曲唑酮、以及西酞普兰）； Ca^{2+} 拮抗剂（例如，维拉帕米、硝苯地平、尼群地平、以及卡维地尔）；钙调素抑制剂（例如，普尼拉明、三氟培拉嗪、以及氯米帕明）；两性霉素 B；曲帕拉醇类似物（例如，他莫昔芬）；抗心律失常药（例如，奎尼丁）；抗高血压药（例如，利舍平）；巯基排空剂（Thiol depleters）（例如，buthionine 和 sulfoximine）；以及抗多药性还原剂如聚氧乙烯蓖麻油。

[0156] 还可以将包括 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分的药剂连接于一种或多种细胞因子或连同一种或多种细胞因子（例如，粒细胞集落刺激因子、干扰素- α 、以及肿瘤坏死因子- α ）一起给予。还可以将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分连接于抗代谢剂。抗代谢剂包括但不限于以下化合物以及它们的衍生物：硫唑嘌呤、克拉屈滨、阿糖胞苷、达卡巴嗪、磷酸氟达拉滨、氟尿嘧啶、gencitabine chlorhydrate、巯嘌呤、甲氨蝶呤、二溴甘露醇、米托坦、盐酸氯胍、乙胺嘧啶、雷替曲塞、葡糖醛酸三甲曲沙、尿烷、硫酸长春碱、硫酸长春新碱等。更优选地，可以将 HSA 接头或结合物连接于叶酸型抗代谢物，一类药剂，其包括，例如，甲氨蝶呤、盐酸氯胍、乙胺嘧啶、甲氧苄啶、或葡糖醛酸三甲曲沙、或这些化合物的衍生物。

[0157] 还可以将 HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分连接于瘤形成剂的蒽环霉素家族的成员，其包括但不限于盐酸阿柔比星、盐酸柔红霉素、盐酸多柔比星、盐酸表柔比星、盐酸伊达比星、吡柔比星、或盐酸佐柔比星；喜树碱、或它的衍生物或相关化合物，如 10, 11-亚甲二氧基喜树碱；或类美登碱（类美坦素）化合物家族的成员，其包括各种结构相关化合物，例如，安丝菌素 P3、美坦生、2'-N-脱甲基美坦布亭、以及 maytanbicyclinol。

[0158] HSA 接头、或与其结合的任何分子或部分可以利用已知的化学方法直接连接于细胞毒性剂或治疗剂，或经由间接连接间接连接于细胞毒性剂或治疗剂。例如，可以将 HSA 接头连接于螯合基团，该螯合基团连接于细胞毒性剂或治疗剂。螯合基团包括但不限于亚氨基酸和聚氨基聚羧酸活性基团、二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA)、以及 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)。关于一般方法，参见，例如，Liu et al., Bioconjugate Chem. 12(4):653, 2001; Cheng et al., WO 89/12631; Kieffer et al., WO 93/12112; Albert et al., U. S. P. N. 5,753,627; 以及 WO 91/01144（其各自以引用方式结合于本文）。

[0159] HSA 接头结合物包括，例如，HSA 接头、一个或多个结合部分（有或没有间隔肽连接物，如本文中所定义的）、以及治疗或细胞毒性剂，可以通过结合部分（例如，抗体、抗体片段、或受体/配体）特异性地靶向细胞或组织，从而便于选择地破坏结合部分所导向的靶细胞或组织。例如，当 HSA 接头结合物包括特异性地结合于器官中的癌细胞的结合部分时，HSA 接头结合物可以用来靶向和破坏肺、胸、前列腺、以及结肠的癌细胞，以预防、稳定、抑制源自上述器官的癌症的进展，或治疗癌症。此外，例如，通过靶向，在例如自身免疫病的情况下，自身反应 T 细胞（例如，通过结合于并激动在自身反应 T 细胞上存在的肿瘤坏死因子受体 2 (TNFR2)），HSA 接头结合物可以用来靶向和破坏脉管系统、脑、肝、肾、心脏、肺、前列腺、结肠、鼻咽、口咽、喉、支气管、以及皮肤的细胞，以预防、稳定、抑制年龄相关、烟草相关、或自身免疫病或与这些器官有关的病症的进展，或对它们进行治疗。

[0160] HSA 接头，当重组表达时，可以连接于细胞毒性多肽。细胞毒性多肽，当接触靶细胞（例如，癌细胞）时，对细胞施加细胞毒性或细胞抑制效应。例如，细胞毒性多肽，当连接于 HSA 接头，在结合靶细胞以后，可以在靶细胞中诱导，其导致细胞死亡（通过，例如，凋亡、坏

死、或衰老)。可替换地,连接于 HSA 接头的细胞毒性多肽可以干扰或抑制正常的细胞生物活性,如分裂、代谢、以及生长,或异常的细胞生物活性,如转移。

[0161] 例如,连接于半胱天冬酶 3 的 HSA 接头将结合靶细胞(例如,癌细胞)并被胞吞。在被靶细胞内化以后,HSA 接头结合物的半胱天冬酶部分可以启动促凋亡半胱天冬酶级联反应,最终导致靶细胞的凋亡。

[0162] 在一个优选的实施方式中,HSA 接头结合物包括能够杀伤癌细胞的细胞毒性多肽。在另一个实施方式中,细胞毒性多肽抑制癌细胞的生长或转移。连接于 HSA 接头的细胞毒性多肽还可以用来杀伤或抑制对于癌生长有关的、必要的、或有利的细胞生长,如形成遍布实体瘤的血管的内皮细胞。

[0163] 在一个实施方式中,HSA 接头结合物可以包括两种或更多种细胞毒性多肽,以调节(例如,增加)对靶细胞(例如,癌细胞)的细胞毒性或细胞抑制作用的特异性、强度、或持续时间。

[0164] 在另一个实施方式中,HSA 接头连接于细胞毒性多肽的可激活形式(例如,生物无活性前药,在被酶或药物切割以后其能够被激活)。在这种实施方式中,细胞毒性多肽前药暴露(例如,体内)于能够剪切细胞毒性多肽的酶或药物会使细胞毒性多肽变成生物活性的(例如,细胞毒性或细胞抑止)。供 HSA 接头使用的可以转化成生物活性形式的生物无活性细胞毒性多肽的一个实例是前半胱天冬酶(例如,前半胱天冬酶 8 或 3)。例如,在靶细胞(例如,癌细胞)的内化作用以后,可以通过 TRAIL 或 FasL 来切割 HSA 接头的前半胱天冬酶 8 域。在切割以后,生物活性的半胱天冬酶 8 可以促进靶细胞的凋亡。

[0165] 在一个实施方式中,连接于 HSA 接头的细胞毒性多肽可以包括全长肽、多肽、或蛋白、或它们的生物活性片段(例如,“死亡域”),已知其具有细胞毒性或细胞抑制性能。可以改变(例如,通过进行氨基酸取代、突变、截短、或添加)具有细胞毒性或细胞抑制性能的肽、多肽、或蛋白,以促进细胞毒性序列加入本文所述的药剂。所期望的改变包括,例如,变化成这样的氨基酸序列,其可以促进蛋白表达、延长寿命、细胞分泌、以及靶细胞毒性。

[0166] 本发明还提供了编码细胞毒性多肽的核酸分子作为与 HSA 接头的融合蛋白,可选地包括结合部分和肽连接物。可以将核酸分子加入载体(例如,表达性载体),以致,在用载体转染或转导的细胞中表达 HSA 接头以后,可以操作上连接(例如,融合、相邻连接、或限定在一起)细胞毒性多肽、HSA 接头、以及结合部分(如果存在的话)。可以用作本发明的细胞毒性多肽的肽、多肽、以及蛋白的实例包括但不限于凋亡诱导蛋白如细胞色素 c(SEQ ID NO:39);半胱天冬酶(例如,半胱天冬酶 3(SEQ ID NO:36)和半胱天冬酶 8(SEQ ID NO:37));前半胱天冬酶,颗粒酶(例如,颗粒酶 A 和 B(SEQ ID NO:38));肿瘤坏死因子(TNF)和 TNF 受体家族成员,包括 TNF- α (TNF α ;SEQ ID NO:40)、TNF- β 、Fas(SEQ ID NO:41)以及 Fas 配体;Fas 相关死亡域样 IL-1 β 转化酶(FLICE);TRAIL/APO2L(SEQ ID NO:45)和 TWEAK/APO3L(参见,例如,美国专利申请公开号 2005/0187177,以引用方式结合于本文);Bcl-2 家族的促凋亡成员,包括 Bax(SEQ ID NO:46)、Bid、Bik、Bad(SEQ ID NO:42)、Bak、以及 RICK(参见,例如,美国专利申请公开号 2004/0224389,以引用方式结合于本文);血管凋亡诱导蛋白 1 和 2(VAP1 和 VAP2;Masuda et al.,Biochem. Biophys. Res. Commun. 278:197-204(2000));pierisin(SEQ ID NO:44;Watanabe et al.,Biochemistry 96:10608-10613(1999));凋亡诱导蛋白(SEQ ID NO:43;AIP;Murawaka et

al., Nature 8:298-307(2001)); IL-1 α 前片多肽(参见,例如,美国专利 6,191,269,以引用方式结合于本文);凋亡蛋白和凋亡蛋白相关蛋白如 AAP-1(参见,例如,欧洲专利申请公开号 EP 1083224,以引用方式结合于本文);抗血管形成因子如内皮生长抑素和血管生长抑素;以及其它凋亡诱导蛋白,包括在以下国际和美国专利申请出版物(各自以引用方式结合于本文)中描述的那些凋亡诱导蛋白:U. S. 2003/0054994、U. S. 2003/0086919、U. S. 2007/0031423、WO 2004/078112、WO2007/012430、以及 WO 2006/0125001(δ 1 和有缺口 1 的细胞内域)。

[0167] 野生型 HSA 接头结合物

[0168] 在形成结合、诊断、或治疗剂时,本发明还包括天然发生的野生型 HSA 接头,其氨基酸和核苷酸序列分别提供在 SEQ ID NO:3 和 4 中。在利用具有列在 SEQ ID NO:3 中的氨基酸序列的 HSA 接头的实施方式中,将一个或多个肽连接物(如上所述)共价连接于 HSA 接头的氨基和/或羧基末端,或共价连接于 HSA 接头序列中的氨基酸残基,以促进一个或多个结合部分的结合。

[0169] 截短

[0170] 本发明还提供了利用截短的野生型 HSA 多肽形成的 HSA 接头结合物,其可选地结合于一种或多种肽连接物或结合部分。可能将缺少全长野生型 HSA 氨基酸序列(即,SEQ ID NO:3)的 1、2、3、4、5、10、15、20、50、100、200 或更多氨基酸的野生型 HSA 多肽连接于本文描述的任何结合部分或诊断或治疗剂。截短可以发生在 HSA 接头的一端或两端,或可以包括内部残基的缺失。一个以上氨基酸残基的截短无需是线性的(即,连续的)。野生型 HSA 接头的实例包括那些野生型 HSA 接头,连同一种或多种的肽连接物或结合部分,其具有一种或多种的域 I(SEQ ID NO:56;SEQ ID NO:3 的残基 1-197)、域 II(SEQ ID NO:54;SEQ ID NO:3 的残基 189-385)、或域 III(SEQ ID NO:57;SEQ ID NO:3 的残基 381-585)、或它们的组合,例如,域 I 和 II、I 和 III、以及 II 和 III。

[0171] 通过测试包含截短的野生型 HSA 接头的结合物(如上所述),可以优化结合物(例如,双特异性 HSA-药物或包含放射性同位素的药剂)的血清清除率。

[0172] 另外的 HSA 接头修饰

[0173] 可通过在 HSA 接头中氨基酸残基的位点特异性化学修饰来修饰 HSA 接头,但不是必需的。HSA 的正确折叠三级结构在蛋白的外面呈现某些氨基酸残基。化学活性氨基酸残基(例如,半胱氨酸)可以取代这些表面暴露残基以允许诊断或治疗剂的位点特异性结合。

[0174] 可替代地或另外,可以通过从 HSA 接头序列添加或除去天冬酰胺、丝氨酸、或苏氨酸残基,以改变这些氨基酸残基的糖基化从而可选地修饰 HSA 接头。加入 HSA 接头的糖基化位点优选是表面暴露的(如本文所讨论的)。可以将引入 HSA 接头的糖基或其它碳水化合物部分直接结合于诊断、治疗、或细胞毒性剂。

[0175] 半胱氨酸(硫羟)结合物

[0176] HSA 接头的表面暴露的氨基酸残基可被半胱氨酸残基取代,以便于诊断、治疗、或细胞毒性剂的化学结合。暴露在 HSA 接头的表面上的半胱氨酸残基(当折叠成它的天然三级结构时)便于诊断、治疗、或细胞毒性剂特异性结合于硫羟活性基团如马来酰亚胺或卤代乙酰基。半胱氨酸残基的硫羟官能团与马来酰亚胺基团的亲核反应性高于蛋白中的任何其它氨基酸官能团(如赖氨酸残基的氨基基团或氨基末端氨基基团)约 1000 倍。在碘乙

酰基和马来酰亚胺试剂中的硫羟特异性官能团可以和胺基团反应,但需要更高 pH (> 9.0) 和更长反应时间 (Garman, 1997, *Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach*, Academic Press, London)。可以利用标准埃尔曼测定来估计蛋白质中自由巯基的量。在一些情况下,需要用试剂如二硫苏糖醇 (DTT) 或硒醇来还原二硫键 (Singh et al., *Anal. Biochem.* 304:147-156 (2002)) 以产生反应性自由巯基。

[0177] 可以通过分析 HSA 接头的表面可及性 (例如,在以下实施例 1 中描述的适用于取代的丝氨酸和苏氨酸残基的鉴定) 来鉴定用于半胱氨酸取代的位点。表面可及性可以表示为可以由溶剂分子例如水接触的表面积 (例如,平方埃)。水占据的空间大约是半径为 1.4 埃的球体。用于计算蛋白质的每个氨基酸的表面可及性的软件是自由可获得的或是特许的。例如,晶体学程序的 CCP4Suite,其中晶体学程序采用算法来计算具有已知的源自 X 射线晶体学的坐标的蛋白质的每个氨基酸的表面可及性 (“The CCP4Suite: Programs for Protein Crystallography” *Acta. Cryst. D* 50:760-763 (1994); www.ccp4.ac.uk/dist/html/INDEX.html)。还可以利用下载自 Swiss Institute of Bioinformatics 的免费软件 DeepView Swiss PDB Viewer 来评估溶剂可及性。在表面暴露位点半胱氨酸的取代便于将反应性半胱氨酸结合于连接到诊断或治疗剂的硫羟活性基团。

[0178] 糖基化

[0179] 此外,可以通过在 HSA 接头中设计糖基化位点来改变血清清除率。在某些实施方式中, HSA 接头被糖基化。多肽的糖基化通常是 N- 连接或 O- 连接的。N- 连接是指碳水化合物部分附着于天冬酰胺残基的侧链。三肽序列天冬酰胺-X- 丝氨酸和天冬酰胺-X- 苏氨酸,其中 X 表示除脯氨酸以外的任何氨基酸,是识别序列,用于将碳水化合物部分酶促附着于天冬酰胺侧链。因此,在多肽中这些三肽序列的任何一种的存在会产生潜在的糖基化位点。O- 连接糖基化是指 N- 乙酰基半乳糖胺、半乳糖、或木糖之一附着于羟基氨基酸,最常见丝氨酸或苏氨酸,虽然也可以使用 5- 羟基脯氨酸或 5- 羟基赖氨酸。

[0180] 通过改变氨基酸序列来方便地完成 HSA 接头的糖基化位点的添加或缺失,以致产生一种或多种上述三肽序列 (用于 N- 连接糖基化位点)。还可以通过对最初 HSA 接头 (用于 O- 连接糖基化位点) 的序列进行一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基的添加、缺失、或取代来进行上述改变。获得的在 HSA 上的碳水化合物结构还可以用于如上所述的细胞毒性、免疫调节剂或细胞生长抑制剂的位点特异性结合。

[0181] 与其他治疗剂联合的 HSA 接头结合物

[0182] 本文描述的 HSA 接头结合物可以与本文描述的一种或多种的治疗剂、细胞毒性剂、或细胞生长抑制剂联合给予。例如,可以给予乳腺癌患者包含 ErbB2 的 HSA 接头,并且可以联合,例如,多柔比星、环磷酰胺、以及紫杉醇一起共同给予 ErbB3scFv (例如, B2B3-1), 一种用于治疗乳腺癌的常见化疗方案。对于这种应用而言的一种优选治疗剂是曲妥珠单抗。以下的实施例 42-44 中列出了关于这种组合的数据。本文中列出了可用于治疗癌症的另外的生物和化学剂,例如在附录 2 中。

[0183] - 与放射疗法或手术联合的 HSA 接头结合物

[0184] HSA 接头结合物可在放射疗法或手术以前、期间、或以后给予。例如,在癌性组织部位进行靶向放射疗法或手术介入 (例如,局部病灶切除术或乳房切除术) 的同时,患有增生性疾病 (例如,乳腺癌) 的患者可以单独接受 HSA 接头结合物或一起接受如本文描述的其

它治疗剂、细胞毒性剂、或细胞毒性剂和 HSA 接头结合物。适合于联合 HSA 接头结合物一起使用的放射疗法包括近程疗法和靶向术中放射疗法 (TARGIT)。

[0185] 药物组合物

[0186] 本文提供的药物组合物包含治疗或诊断有效量的 HSA 接头结合物,其包括一种或多种的结合部分(例如,抗体或抗体片段)、诊断剂(例如,放射性核素或螯合剂)、或治疗剂(例如,细胞毒性剂或免疫调节剂)。活性组分, HSA 接头结合物(制备有一种或多种的结合部分、诊断剂、或治疗剂)可以配制用于各种药物递送系统。一种或多种生理上可接受的赋形剂或载体还可以包括在组合物中以便进行适当配制。用于本发明的适宜剂型参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985)。关于药物递送方法的简要综述,参见 Langer Science 249:1527-1533 (1990)。药物组合物用于胃肠道外给予、鼻内给予、局部给予、口服、或局部给予,如通过透皮方式,用于进行预防性和/或治疗性治疗。通常,胃肠道外(例如,通过静脉内、肌内、或皮下注射)、或通过口服法、或通过局部施加,来给予药物组合物。因此,用于胃肠道外给予的组合物可包括 HSA 接头,有或没有与其结合的一种或多种结合、诊断、和/或治疗剂,并溶解或悬浮在可接受的载体中,优选含水载体,例如,水、缓冲水、盐水、PBS 等。组合物可以包含为接近生理条件所需要的药用辅助物质,如 pH 调节和缓冲剂、渗透性调节剂、润湿剂、去污剂等。本发明还提供了用于口服的组合物,该组合物可以包含惰性组分如用于配制片剂、胶囊剂等的粘合剂或填充剂。另外,本发明提供了用于局部给予的组合物,该组合物可以包含惰性组分如用于配制乳膏剂、软膏剂等的溶剂或乳化剂。

[0187] 可以通过常规灭菌技术对这些组合物进行灭菌,或可以对这些组合物进行滤过除菌。获得的水溶液可以原样被包装以供使用,或被冷冻干燥,在给予以前,冷冻干燥药剂合并于无菌含水载体。药剂的 pH 通常为 3 至 11,更优选 5 至 9 或 6 至 8,以及最优选 7 至 8,如 7 至 7.5。可以将获得的固体形式的组合物包装在多个单剂量单位中,每个包含在例如片剂或胶囊剂的密封包装中的固定量的 HSA 接头结合物(制备有一种或多种的结合剂、诊断剂、和/或治疗剂)。还可以将固体形式的组合物包装在具有可变量的容器中,如包装在设计用于可局部施加乳膏剂或软膏剂的可挤压管中。可以将包含有效量的 HSA 接头结合物(制备有一种或多种的结合、诊断、和/或治疗剂)的组合物给予哺乳动物(例如,人),用于预防性和/或治疗性治疗。预防性应用中,将包含 HSA 接头结合物(制备有一种或多种的结合、诊断、和/或治疗剂)的组合物给予易患或具有发展疾病或病症(例如,癌症、自身免疫病、或心血管疾病)的患者。上述量被定义为“预防有效剂量”。在这种应用中,精确量再次取决于患者的健康状况,但通常为每次给药约 0.5mg 至约 400mg 的 HSA 接头结合物(制备有一种或多种的结合、诊断、和/或治疗剂)(例如,10mg、50mg、100mg、200mg、300mg、或 400mg 或更多/剂量)以及每次给药约 0.1 μ g 至约 300mg 的一种或多种免疫调节剂(例如,10 μ g、30 μ g、50 μ g、0.1mg、10mg、50mg、100mg、或 200mg/剂量)。可以每小时、天、周、月、或年一次或多次(例如,2、4、5、6、7、8、9、10、11、或 12 次/小时、天、周、月、或年)预防性地给予患者 HSA 接头结合物(制备有一种或多种的结合、诊断、和/或治疗剂)的剂量。更通常地,每周给予单剂量的 HSA 接头结合物(制备有一种或多种的结合、诊断、和/或治疗剂)。

[0188] 在治疗用途中,将一定剂量的 HSA 接头结合物(制备有一种或多种的结合、诊断、

和 / 或治疗剂) 给予已经患有疾病或病症 (例如, 癌症、自身免疫病、或心血管疾病) 的哺乳动物 (例如, 人), 其中给予量足以治愈或至少部分阻止或缓和疾病或病症的一种或多种症状以及其合并症。适合于实现上述目的的量被定义为“治疗有效剂量”。有效用于上述用途的量可以取决于疾病或病症的严重性和患者的一般状况, 但通常为每次给药约 0.5mg 至约 400mg 的 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) (例如, 10mg、50mg、100mg、200mg、300mg、或 400mg 或更多 / 剂量)。可以将一定剂量的 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 治疗性地每小时、天、周、月、或年给予患者一次或多次 (例如, 2、4、5、6、7、8、9、10、11、或 12 次 / 小时、天、周、月、或年)。更通常地, 每周给予单剂量的 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂)。

[0189] 在若干实施方式中, 患者可以接受约 0.5 至约 400mg/ 剂量的 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 每周一次或多次 (例如, 2、3、4、5、6、或 7 或更多次 / 周), 优选每周一次或多次, 每次给药约 5mg 至约 300mg, 以及甚至更优选每周一次或多次, 每次给药约 5mg 至约 200mg。患者还可以接受每两周剂量的 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) (约 50mg 至约 800mg) 或每月剂量的 HSA 接头、或与其结合的任何结合、诊断、或和 / 或治疗剂 (约 50mg 至约 1, 200mg)。

[0190] 在其它实施方式中, 可以将典型剂量范围中的 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 给予患者: 约 0.5mg/ 周至约 2000mg/ 周、约 1.0mg/ 周至约 1000mg/ 周、约 5mg/ 周至约 500mg/ 周、约 10mg/ 周至约 100mg/ 周、约 20mg/ 周至约 80mg/ 周、约 100mg/ 周至约 300mg/ 周、或约 100mg/ 周至约 200mg/ 周。另一方面, 向 70kg 的患者给予的本文所述的 HSA 接头结合物的剂量范围可以为, 例如, 约 1 μ g 至约 5000mg、约 2 μ g 至约 4500mg、约 3 μ g 至约 4000mg、约 4 μ g 至约 3, 500mg、约 5 μ g 至约 3000mg、约 6 μ g 至约 2500mg、约 7 μ g 至约 2000mg、约 μ g 至约 1900mg、约 9 μ g 至约 1, 800mg、约 10 μ g 至约 1, 700mg、约 15 μ g 至约 1, 600mg、约 20 μ g 至约 1, 575mg、约 30 μ g 至约 1, 550mg、约 40 μ g 至约 1, 500mg、约 50 μ g 至约 1, 475mg、约 100 μ g 至约 1, 450mg、约 200 μ g 至约 1, 425mg、约 300 μ g 至约 1, 000mg、约 400 μ g 至约 975mg、约 500 μ g 至约 650mg、约 0.5mg 至约 625mg、约 1mg 至约 600mg、约 1.25mg 至约 575mg、约 1.5mg 至约 550mg、约 2.0mg 至约 525mg、约 2.5mg 至约 500mg、约 3.0mg 至约 475mg、约 3.5mg 至约 450mg、约 4.0mg 至约 425mg、约 4.5mg 至约 400mg、约 5mg 至约 375mg、约 10mg 至约 350mg、约 20mg 至约 325mg、约 30mg 至约 300mg、约 40mg 至约 275mg、约 50mg 至约 250mg、约 100mg 至约 225mg、约 90mg 至约 200mg、约 80mg 至约 175mg、约 70mg 至约 150mg、或约 60mg 至约 125mg。可调节剂量方案以提供最佳的治疗反应。另一方面, 可以给予 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 每隔一天约 0.5mg 至每隔一天约 500mg, 优选每隔一天约 5mg 至每隔一天约 75mg, 更优选每隔一天约 10mg 至每隔一天约 50mg, 以及甚至更优选每隔一天 20mg 至每隔一天约 40mg。还可以给予 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 约 0.5mg 每周三次至约 100mg 每周三次, 优选约 5mg 每周三次至约 75mg 每周三次, 更优选约 10mg 每周三次至约 50mg 每周三次, 以及甚至更优选约 20mg 每周三次至约 40mg 每周三次。

[0191] 在本发明的方法的非限制性实施方式中, 可以将 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 给予哺乳动物 (例如, 人) 连续 1、2、3、或 4 小时; 一天 1、2、3、或 4 次; 每隔一天或每个第三、第四、第五、或第六天; 一周 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或

10 次 ; 每两周 ; 一月 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、或 30 次 ; 每两个月 ; 每六个月 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 次 ; 一年 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或 20 次 ; 或每两年。在治疗方案期间, 可以以不同频率给予 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂)。在另外的实施方式中, 可以以相同频率或以不同频率将 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 给予患者。

[0192] 为达到所期望的治疗效应所需要的一种或多种诊断或治疗剂以及 HSA 接头、或与其结合的任何药剂的量取决于若干因素, 如所选择的特定诊断或治疗剂、给予方式、以及受者的临床条件。技术人员将能够确定适当剂量的一种或多种诊断或治疗剂和 HSA 接头、或与其结合的任何药剂, 以达到所期望的结果。

[0193] 可以单次或多次给予包含有效量的 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 的组合物, 其中剂量水平和模式由治疗医师选择。基于在哺乳动物 (例如, 人) 中疾病或病症的严重性, 可以确定和调节剂量和给药时间表, 在治疗的过程中按照通常实施的方法, 临床医师或本文描述的那些人可以监测上述严重性。

[0194] 可以直接或连同本领域已知的任何药用载体或盐, 将 HSA 接头结合物 (制备有一种或多种的结合、诊断、和 / 或治疗剂) 给予哺乳动物主体, 如人。药用盐可以包括通常用于制药业的非毒性酸加成盐或金属复合物。酸加成盐的实例包括有机酸如乙酸、乳酸、双羟萘酸、马来酸、柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸、丁二酸、苯甲酸、棕榈酸、辛二酸、水杨酸、酒石酸、甲磺酸、甲苯磺酸、或三氟乙酸等 ; 高分子酸如鞣酸、羧甲基纤维素等 ; 以及无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸等。金属复合物包括锌、铁等。一种典型的药用载体是生理盐水。其它生理上可接受的载体以及它们的剂型是本领域技术人员已知的并且例如描述在 Remington's Pharmaceutical Sciences, (18th edition), ed. A. Gennaro, 1990, Mack Publishing Company, Easton, PA 中。

[0195] 诊断和治疗应用

[0196] HSA 接头结合物可以用于人的诊断和治疗应用, 包括, 例如, 诊断或治疗增生性疾病 (例如, 癌症, 如黑色素瘤、透明细胞肉瘤、以及肾癌) 和自身免疫病 (例如, 多发性硬化、类风湿性关节炎、以及葡萄膜炎)。以下人增生性和自身免疫病的讨论是用来向技术人员提供 HSA 接头结合物如何可以应用于诊断和治疗应用的一般理解, 而不是用来限制本发明的范围。

[0197] 增生性疾病 (癌症)

[0198] HSA 接头结合物可以用来诊断、治疗、预防、或消除增生性疾病如但不限于乳腺癌、黑色素瘤、透明细胞肉瘤、肾癌 (例如, 肾细胞癌)、前列腺癌、肺癌、胃癌、以及卵巢癌。待连接于 HSA 接头并用于诊断或治疗怀疑患有或患有增生性疾病的患者的结合部分的选择可以基于它们特异性地结合、激动、激活、拮抗、或抑制与增生性疾病有关的靶分子 (例如, 细胞表面受体如酪氨酸激酶受体) 的能力。可以将结合部分连接于 HSA 接头以诊断或治疗增生性疾病, 其中上述结合部分靶向, 例如, 胰岛素样生长因子受体 (IGFR, 例如, IGF 1R 和 IGF2R)、成纤维细胞生长因子受体 (FGFR)、血小板衍生生长因子受体 (PDGFR)、血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、肿瘤坏死因子受体 (TNFR)、表皮生长因子受体 (EGFR, 例如, ErbB2 (HER2/neu))、Fc 受体、c-kit 受体、或间充质上皮转化因子受体 (c-met ; 还称作肝细

胞生长因子受体 (HGFR))。HSA 接头结合物与癌细胞的特异性结合可以便于检测 (例如,连接于可检测标记的 HSA 接头,如本文中所定义的)或破坏 (例如,连接于细胞毒性剂的 HSA 接头)所结合的癌细胞。下文描述 HSA 接头结合物在治疗胸和肾癌方面的具体应用。

[0199] 乳腺癌

[0200] 乳腺癌的通常形式包括侵袭性导管癌、在胸导管中的恶性癌症、以及浸润性小叶癌、在胸小叶中的恶性癌症。已知一些类型的乳腺癌细胞会表达高水平的表皮生长因子受体,尤其是 ErbB2 (即,HER2/neu)。EGFR 的异常信号或未调节的激活已与许多癌症 (包括乳腺癌)的发展和进展有关。可以在各种上皮起源的实体瘤中发现经由功能异常的 EGFR 途径介导的不受控制的细胞增殖,并且数据表明肿瘤 EGFR 表达、过度表达、以及调节异常与进展的疾病、转移性表型、对化疗的抗性、以及总的不良预后有关。

[0201] 连接于对于 EGFR 具有特异性的一种或多种结合部分 (例如,抗 ErbB2 ;曲妥珠单抗)的 HSA 接头可以连同诊断剂 (例如,可检测标记)或细胞毒性剂、细胞生长抑制剂、或治疗剂 (如本文描述的)一起使用,以诊断或治疗乳腺癌。可替换地,包含对于 ErbB2 和 ErbB3 具有特异性的结合部分的双特异性 HSA 接头结合物,如“B2B3-1”(下文进一步描述),可以用来诊断或治疗癌症,例如,胸、肾、卵巢、以及肺癌。

[0202] 如上所述,可以在放射疗法或手术介入以前 (例如,新辅助化疗)、同时、或以后 (例如,辅助性化疗)给予用来治疗乳腺癌的 HSA 接头结合物。还可以连同可用于治疗乳腺癌的其它化合物 (例如,抗肿瘤剂,如生物或化学治疗剂)一起联合给予 HSA 接头结合物。例如,列在表 1 中的抗肿瘤剂,其包括有丝分裂抑制剂 (例如,紫杉烷)、拓扑异构酶抑制剂、烷化剂 (包括,例如,基于铂的药剂)、选择性雌激素调节剂 (SERM)、芳香酶抑制剂、抗代谢物、抗肿瘤抗生素 (例如,蒽环霉素抗生素)、抗 VEGF 剂、抗 ErbB2 (HER2/neu) 剂、以及抗 ErbB3 剂,已知特别有利于乳腺癌的治疗。临床医师可以联合任何化合物一起给予 HSA 接头结合物,其中上述化合物包括列在附录 2 中的化合物,列在附录 2 中的化合物已知或认为其有益于乳腺癌的治疗。

[0203] 表 1 :连同 HSA 接头结合物一起用于治疗乳腺癌的典型的抗肿瘤剂。

[0204]

治疗剂类型	典型的药剂 (总称/商品名)	典型剂量
有丝分裂抑制剂	紫杉醇 (TAXOL®; ABRAXANE®)	175 mg/m ²
	多西他赛 (TAXOTERE®)	60-100 mg/m ²
拓扑异构酶抑制剂	喜树碱	
	盐酸托泊替康 (HYCAMTIN®)	
	依托泊苷 (EPOSIN®)	
烷化剂	环磷酰胺 (CYTOXAN®)	600 mg/m ²

[0205]

基于铂的药剂	顺铂	20-100 mg/m ²
	卡铂 (PARAPLATIN®)	300 mg/m ²
	奈达铂 (AQUPLA®)	
	奥沙利铂 (ELOXATIN®)	65-85 mg/m ²
	沙铂 (SPERA®)	
	四硝酸三铂	
选择性雌激素调节剂 (SERM)	他莫昔芬 (NOLVADEX®)	20-40 mg/天
	雷洛昔芬 (EVISTA®)	60 mg/天
	托瑞米芬 (FARESTON®)	
抗代谢物	甲氨蝶呤	40 mg/m ²
	氟尿嘧啶 (5-FU)	500 mg/m ²
	雷替曲塞	
抗肿瘤抗生物物质	多柔比星 (ADRIAMYCIN®)	40-75 mg/m ²
	表柔比星 (ELLENCE®)	60-120 mg/m ²
芳香酶抑制剂	氨鲁米特 (CYTADREN®)	250-2000 mg/天
	阿那曲唑 (ARIMIDEX®)	1 mg/天
	来曲唑 (FEMARA®)	2.5 mg/天
	伏氯唑	
	依西美坦 (AROMASIN®)	25-50 mg/天
	睾内酯	
	法倔唑 (AFEMA®)	
抗 VEGF 剂	贝伐单抗 (AVASTIN®)	10 mg/kg
抗 ErbB2 (HER2/neu) 剂	赫赛汀 (赫赛汀®)	2-8 mg/kg
	帕妥珠单抗 (OMNITARG®)	
抗 ErbB3 (HER3) 剂	U3-1287 (AMG 888)	

[0206] 肾癌

[0207] 肾癌, 如肾细胞癌, 对于传统的放射和化学疗法, 特别具有抗性。因此, 连同 HSA 接头一起使用生物治疗剂, 对于患有这些癌症的患者, 是一种很好的选择。例如, 连接于结合部分 (其激动 I 型干扰素或白细胞介素 2 受体) 的 HSA 接头可以用来治疗肾癌。作为实体瘤, 靶向和抑制肿瘤血管化的结合部分 (例如, 抗血管内皮生长因子 (VEGF) 抗体如贝伐单抗) 也可以用于治疗效应。

[0208] 自身免疫病

[0209] HSA 接头结合物可以用来诊断、治疗、预防、或稳定例如病人的自身免疫病和病症, 如, 例如, 多发性硬化 (MS)、胰岛素依赖型糖尿病 (IDDM)、类风湿性关节炎 (RA)、葡萄膜炎、舍格伦综合征、格雷夫斯病、银屑病、以及重症肌无力。自身免疫病和病症是由免疫系统的自反应性成分 (例如, T 细胞、B 细胞、以及自反应性抗体) 引起。因此, 抑制、阻断、拮抗、或排除自反应性免疫细胞和抗体的结合部分 (例如, 抗淋巴细胞或抗胸腺细胞球蛋白; 巴利

昔单抗、达珠单抗、或莫罗单抗-CD3 单克隆抗体)可以连接于 HSA 接头,用于治疗用途。作为炎性信号抑制剂 (ISI) (如本文中所定义的) 的结合部分可以连接于 HSA 接头,用于治疗自身免疫。此外,抑制或拮抗整联蛋白功能的结合部分 (例如,整联蛋白拮抗剂,如本文中所定义的) 可以改善或停止疾病进展。

[0210] 在其它实施方式中,结合部分是可溶性 TNF 受体,如依那西普或来那西普;导向促炎细胞因子或促炎细胞表面信号分子的抗体,如阿达木单抗、赛妥珠单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗、以及 rituxan;显性失活促炎细胞因子变体,如 XENP345、XPROTM1595、阿那白滞素、以及在美国专利申请公开号 20030166559 和 20050265962 中所披露的变体;促炎细胞因子或促炎细胞表面信号分子下游的信号通路的抑制剂,如 DE 096、5-氨基-2-羰基噻吩衍生物 (如在 W02004089929 中所描述的)、ARRY-797、BIRB 796BS、(1-5-叔丁基-2-对甲苯基-2H-吡唑-3-基)-3-[4-2(吗啉-4-基-乙氧基)-萘-1-基]-脲、CHR-3620、CNI-1493、FR-167653 (Fujisawa Pharmaceutical, Osaka, 日本)、ISIS 101757 (Isis Pharmaceuticals)、ML3404、NPC31145、PD169316、PHZ1112、RJW67657、4-(4-(4-氟苯基)-1-(3-苯基丙基)-5-(4-吡啶基)-1H-咪唑-2-基)-3-丁炔-1-醇、SCIO-469、SB202190、SB203580、(4-(4-氟苯基)-2-(4-甲基亚硫酸基苯基)-5-(4-吡啶基)-1H-咪唑)、SB239063、反-1-(4-羟基环己基)-4-(4-氟苯基-甲氧基嘧啶-4-基)咪唑、SB242235、SD-282、SKF-86002、TAK 715、VX702、以及 VX745;或 TNF- α 转化酶 (TACE) 的抑制剂,如 BB-1101、BB-3103、BMS-561392、丁炔基羟苯基 β -酮哌啶 hydroxomates、CH4474、DPC333、DPH-067517、GM6001、GW3333、Ro 32-7315、TAPI-1、TAPI-2、以及 TMI 005);或抗独特型剂,如单克隆抗体、LJP 394 (阿贝莫司,RIQUENT®, La Jolla Pharmaceuticals)。

[0211] 在其它实施方式中,结合部分是干扰素 (如本文描述的)。可以连接于 HSA 接头的结合部分包括,例如,干扰素- β (REBIF® (IFN- β -1a)、AVONEX® (IFN- β -1a)、以及 BETASERON® (IFN- β -1b))、干扰素-t (TAUFERONTM)、干扰素- α (例如,ROFERON- α ® (IFN- α -2a)、INTRON- α ® (IFN- α -2b)、REBETRON® (IFN- α -2b)、ALFERON-N® (IFN- α -n3)、PEG-INTRON® (IFN- α -2b,共价结合于单甲氧基聚乙二醇)、INFERGEN® (非自然发生的 I 型干扰素,相对于 IFN- α -2b 具有 88% 的同源性)、或 PEGASYS® (聚乙二醇化 IFN- α -1a))、以及 ACTIMMUNE® (IFN-g-1b)。

[0212] 本发明进一步提供了具有结合部分的 HSA 接头结合物,其中上述结合部分拮抗这些促炎分子或它们的特异性受体以治疗自身免疫。以下描述 HSA 接头结合物在诊断和治疗 MS 和 RA 方面的具体应用。

[0213] 多发性硬化

[0214] 多发性硬化 (MS) 是一种神经性疾病,其特征在于中枢神经系统 (CNS) 的神经的不可逆变性。虽然基础原因不清楚,但 MS 中的神经变性是脱髓鞘、或髓磷脂剥落的直接结果,上述髓磷脂是一种蛋白质,其通常位于外层并使神经绝缘。在 MS 的发展中 T 细胞具有关键作用。发炎的 MS 病变,不是正常的蛋白质,可以具有浸润性 CD4⁺T 细胞,其响应由 MHC 类 II-连接分子如人 HLA-DR2 呈递的自体抗原。浸润性 CD4T 细胞 (T_H1 细胞) 产生促炎细胞因子 IL-2、IFN- γ 、以及 TNF- α ,其激活抗原呈递细胞 (APC) 如巨噬细胞以产生另外的促炎细胞因子 (例如,IL-1 β 、IL-6、IL-8、以及 IL-12)。IL-12 会进一步诱导 IFN- γ 合成。结果是神经元髓鞘的逐渐脱髓鞘,从而导致人疾病。

[0215] HSA 接头结合物可以用来帮助诊断 MS。包括结合部分的诊断 HSA 接头结合物会特异性地靶向一种或多种（例如，双特异性 HSA 接头结合物）免疫细胞激活标记（例如，CD69、CD28、HLA-DR、以及 CD45）。可以通过使用连接于诊断剂（例如，放射性同位素或荧光色素）的 HSA 接头结合物来测量一种或多种这些促炎或免疫细胞激活介质相对于其它因子或细胞的失衡。

[0216] HSA 接头结合物可以用来治疗具有发展成 MS 的风险或患有 MS 的人，或用来预防、改善、或治愈上述疾病的症状。例如，结合部分，其特异性地靶向和拮抗 $\alpha 4$ 整联蛋白（例如，那他珠单抗）、CD52（例如，阿仑单抗）、CD80、P-选择素、鞘氨醇-1-磷酸受体-1（S1PR1）、透明质酸受体、白细胞功能抗原-1（LFA-1）、CD11（例如，依法利珠单抗）、CD18、CD20（例如，利妥昔单抗）、CD85、ICOS 配体、CCR2、CXCR3、或 CCR5，当连接于 HSA 接头时可以用于治疗 MS 患者。类似地，中和 I 型干扰素（例如，干扰素- α 和- β ）或拮抗 I 型干扰素受体（例如，IFN α R1）的结合部分也可以连接于 HSA 接头，用于治疗用途。

[0217] 类风湿性关节炎

[0218] 类风湿性关节炎（RA）是一种慢性炎性自身免疫病，其引起免疫系统攻击关节。它是一种致残疾和疼痛的炎性病症，由于疼痛和关节破坏，其可以导致移动性的基本丧失。RA 是一种系统性疾病，经常影响整个身体的关节外组织，包括皮肤、血管、心脏、肺、以及肌肉。

[0219] RA 患者经常具有 HLA-DR4/DR1 簇的增加的细胞表达。对于这些细胞表面分子的一种或两种具有特异性的 HSA 接头结合物可用于 RA 的诊断。

[0220] HSA 接头结合物可以用来治疗具有发展成 RA 的风险或患有 RA 的人，以预防、改善、或治愈上述疾病的症状。例如，结合部分（如本文中所定义的），其特异性地靶向和拮抗 TNF- α （例如，依那西普、英夫利昔单抗、以及阿达木单抗）、IL-1（例如，阿那白滞素）、或 CTLA-4（例如，阿巴他塞）。还可以将特异性地靶向和排除 B 细胞的结合部分（例如，抗 CD20 抗体，如利妥昔单抗）连接于本文中描述的 HSA 接头以治疗或预防 RA。

[0221] 葡萄膜炎

[0222] 葡萄膜炎特指眼中层的炎症，但可以指涉及眼内部的任何炎性过程。葡萄膜炎在起源上可以是自身免疫的或特发的。

[0223] HSA 接头结合物可以用来治疗具有发展成自身免疫性葡萄膜炎的风险或患有自身免疫性葡萄膜炎的人，以预防、改善、或治愈上述疾病的症状。例如，可以将 α -甲胎蛋白（例如，人 AFP；NCBI Accession No. NM 001134）、或其生物活性片段连接于 HSA 接头，以减轻或消除与自身免疫性或特发性葡萄膜炎有关的炎症。

[0224] 试剂盒

[0225] 本发明还提供了试剂盒，该试剂盒包括药物组合物，其包含 HSA 接头、以及一种或多种结合部分（例如，抗体或抗体片段），诊断剂（例如，放射性核素或螯合剂），以及治疗剂（例如，细胞毒性剂或免疫调节剂），以及可以用来将它们结合于 HSA 接头的试剂，必要时，包括药用载体，并具有治疗疾病或病症的治疗有效量（例如，癌症、自身免疫病、或心血管疾病）。试剂盒包括用法说明以便于使用者（例如，医生、护士、或患者）给予其中包含的组合物。

[0226] 优选地，试剂盒包括多个包装的单剂量药物组合物，其包含有效量的 HSA 接头、或其任何结合（例如，抗体或抗体片段（例如，scFv））、诊断（例如，放射性核素或螯合剂）、

和 / 或治疗 (例如, 细胞毒性剂或免疫调节剂) 结合物。可选地, 为给予药物组合物所必要的仪器或装置可以包括在试剂盒中。例如, 试剂盒可以提供一个或多个预充满注射器, 该注射器包含有效量的 HSA 接头、或与其结合的任何结合、诊断、和 / 或治疗剂。另外, 试剂盒还可以包括附加组成部份如用法说明或给药时间表, 以便疾病或病症 (例如, 癌症、自身免疫病、或心血管疾病) 患者使用药物组合物, 该组合物包含 HSA 接头、或与其结合的任何结合、诊断、和 / 或治疗剂。

[0227] 对于本领域技术人员来说, 显而易见的是, 可以对本发明的组合物、方法、以及试剂盒进行各种改进和变化, 而不偏离本发明的精神或范围。因此, 本发明涵盖本发明的改进和变化, 只要它们在所附权利要求以及它们的等同范围内。

[0228] 实施例

[0229] 以下实施例是说明性的而不是限制性的。本领域技术人员将容易地理解, 可以变化或改进各种非关键参数以产生基本上相同或类似的结果。

[0230] 实施例 1 : 用来鉴定在 HSA 接头中用于位点特异性结合细胞毒性或细胞抑制药物的残基的方法。

[0231] 为了鉴定药物特异性结合于 HSA 的位点, 研究了晶体结构并鉴定了表面暴露的丝氨酸和苏氨酸残基。然后将这些特定的表面暴露氨基酸突变成半胱氨酸, 以便于药物结合于取代的半胱氨酸, 其中使用硫羟特异性结合剂如马来酰亚胺。在药物结合以前可能需要轻度还原。所结合的药物数目是由引入 HSA 中的表面暴露半胱氨酸残基数目来控制。丝氨酸和苏氨酸被选为用于突变的最适宜的残基, 因为它们和半胱氨酸共有最大的结构同一性, 然而, 还可以将其它表面暴露残基突变成半胱氨酸并成功地结合于细胞抑制或细胞毒性药物。

[0232] HSA 的晶体结构存储于 RSCB Protein Data Bank(1bm0-Sugio et al., “Crystal structure of human serum albumin at 2.5Å resolution,” Protein Eng. 12 : 439-446(1999))。利用下载自 Swiss Institute of Bioinformatics 的 DeepView Swiss PDB Viewer 分析了上述结构。具有 50%、40%、以及 30% 表面暴露的丝氨酸和苏氨酸残基被鉴定为最适合突变成半胱氨酸 (表 2)。可以利用标准分子生物学程序来引入突变。可以利用标准蛋白化学技术来测试硫羟反应性药物或螯合剂与引入的半胱氨酸的结合。

[0233] 表 2

[0234]

表面暴露 %	残基
50	T496
40	S58
30	T76、T79、T83、T125、T236、S270、S273
	S304、S435、T478、T506、T508

[0235]

[0236] 实施例 2 : 用来鉴定在 HSA 接头中用于引入天冬酰胺 - 连接糖基化位点的残基的

方法。

[0237] 为了鉴定在 HSA 中用于引入天冬酰胺 - 连接糖基化位点的区,研究了晶体结构以鉴定可以适用于突变的表面暴露 (> 30%) 天冬酰胺、丝氨酸以及苏氨酸残基。当存在共有序列天冬酰胺 -x- 丝氨酸 / 苏氨酸时,其中 x 不能是脯氨酸,在天冬酰胺残基上发生糖基化。表 2 列出在 HSA 中用于引入天冬酰胺 - 连接糖基化的可能的突变位点。

[0238] 表 3

[0239]

残基	提议的突变
Gln32	Asn
Val46	Ser/Thr
Asp56	Asn
Asp63	Ser/Thr*
Glu231	Asn
Asp237	Asn
Gln268	Asn
Asp269	Ser/Thr
Glu285	Asn
Ala320	Ser/Thr*
Asp340	Asn
Glu354	Asn
Gln437	Asn
Glu425	Asn
Glu465	Asn
Asp494	Asn*

[0240] * 还已报道这些突变很少发生在 HSA 中 (Carlson et al., "Alloalbuminemia in Sweden: Structural study and phenotypic distribution of nine albumin variants," Proc. Nat. Acad. Sci. USA 89:8225-8229(1992); Madison et al., "Genetic variants of human serum albumin in Italy: point mutants and a carboxyl-terminal variant," Proc. Nat. Acad. Sci. USA 91:6476-6480(1994); Hutchinson et al.,

“The N-terminal sequence of albumin Redhill, a variant of human serum albumin,” FEBS Lett. 193:211-212(1985); Brennan et al., “Albumin Redhill (-1Arg, 320Ala-Thr): a glycoprotein variant of human serum albumin whose precursor has an aberrant signal peptidase cleavage site,” Proc. Nat. Acad. Sci. USA 87: 26-30(1990); Minchiotti et al., “Structural characterization of four genetic variants of human serum albumin associated with alloalbuminemia in Italy,” Eur. J. Biochem. 247:476-482(1997); Peach et al., “Structural characterization of a glycoprotein variant of human serum albumin: albumin Casebrook (494Asp-Asn),” Biochim. Biophys. Acta 1097:49-54(1991))。

[0241] 实施例 3

[0242] B2B3-1 是一种双特异性 scFv 抗体融合分子, 包括 B1D2, 一种人抗 ErbB2scFv 抗体 (SEQ ID NO:27), 以及 H3, 一种人抗 ErbB3scFv (SEQ ID NO:26)。通过修饰人血清白蛋白 (HSA) 接头来连接上述两种 scFv。将抗 ErbB3scFv, H3 重组融合于结合有短连接物多肽的 HSA 接头的氨基末端, 并将抗 ErbB2scFv, B1D2 重组融合于结合有另外的短连接物多肽的修饰 HSA 接头的羧基末端。每种连接物多肽的选择是基于蛋白酶抗性性能。修饰 HSA 接头包含两个氨基酸取代。在天然 HSA 的位置 34 处的半胱氨酸残基被突变成丝氨酸, 以降低潜在的蛋白异质性 (由于在此位点处的氧化)。在天然 HSA 的氨基酸 503 处的天冬酰胺残基, 其在天然 HSA 中可能会对导致药理半衰期减小的脱酰胺敏感, 被突变成谷氨酰胺。人们认为借助于高亲和力抗 ErbB2scFv 结合部分, B2B3-1 选择性地结合过度表达肿瘤的 ErbB2, 其具有 10.0nM 至 0.01nM 的 kD, 并且更优选约 0.3nM 的 kD。随后抗 ErbB3scFv 与 ErbB3 的结合, 其具有 50 至 1nM 的 kD 并且更优选约 16nM, 会抑制 HRG 诱导的 ErbB3 的磷酸化。修饰 HSA 接头赋予双特异性分子延长的循环半衰期。B2B3-1 具有 119.6kDa 的分子量并且优选未被糖基化。

[0243] B2B3-1 抑制配体诱导的具有亚纳摩尔效力的 ErbB3 的磷酸化; 这种活性被认为至少部分是由于其二聚化伴侣 ErbB2 的高丰度表达, 这促进了表达两种受体的癌细胞的特异性靶向。

[0244] 实施例 4

[0245] 如图 2 所示, B2B3-1 变体在 ZR75-1 乳腺癌细胞中抑制 HRG 诱导的 pErbB3。用一定剂量范围的 B2B3-1 变体处理 ZR75-1 乳腺癌细胞 24 小时, 接着 HRG 刺激。通过 ELISA 测量在细胞溶胞产物中的 pErbB3 水平并连同抑制百分比一起计算 IC₅₀ 值。示出的是平均 IC₅₀ 值 (Y 轴), 其中误差条表示重复的实验。抑制百分比值示在相应条的上方。

[0246] ELISA 测定

[0247] 除了所指出的以外, 用于总 ELISA 和磷 -ErbB3ELISA 的 ELISA 试剂均以 DUOSET 试剂盒的形式购自 R&D Systems。用 50 μl 的抗体涂覆 96-孔 NUNC MAXISORB 板并在室温下温育过夜。次日早晨, 在 BIOTEK 板清洗机中用 1000 μl/孔的添加有 Tween 洗涤剂 (PBST) (0.05% Tween-20) 的无钙或镁的杜伯科磷酸缓冲盐 (PBS) 清洗板 3 次。接着在室温下用 PBS 中的 2% BSA 封闭板约 1 小时。在 BIOTEK 板清洗机中用 1000 μl/孔的 PBST 清洗板 3 次。细胞在 37°C 和 5% 二氧化碳下生长, 用冷的 PBS 清洗细胞, 然后用哺乳动物蛋白质提取物 (MPER) 裂解缓冲液 (Pierce, 78505) 富集细胞, 其中添加有 150mM NaCl、5mM 焦磷酸钠、

10 μ M bpV(phen)、50 μ M 苯酚、1 mM 原钒酸钠、以及蛋白酶抑制剂混合物 (Sigma, P2714)。在 50% 裂解缓冲液和 1% BSA 中稀释的 50 μ L 细胞溶解物和标准物以双份实施以用于进一步处理。样品在板振荡器上在 4°C 温育 2 小时并如前所述进行清洗。在 2% BSA 中稀释约 50 μ L 的检测抗体, 加入 PBST 并在室温下温育约 1-2 小时。对于磷 -ErbB3, 检测抗体直接结合于辣根过氧化物酶 (HRP), 而对于总 ErbB3 和生物素化的鼠抗人 ErbB3, 使用第二检测抗体。如前所述清洗板。对于总 ErbB3, 加入约 50 μ L 的抗生蛋白链菌素 -HRP 并温育 30 分钟, 并如前所述清洗板。加入约 50 μ L 的 SUPERSIGNAL ELISA Pico (Thermo Scientific) 底物, 然后利用 FUSION 读板器进行读板。取双份样品的平均值, 并且所示出的误差条代表两份样品之间的标准差。

[0248] 实施例 5

[0249] 在用 B2B3-1 变体 A5-HSA-B1D2 (图 3-5 的图片 A)、H3-HSA-B1D2 (图 3-5 的图片 B)、H3-HSA-F5B6H2 (图 3-5 的图片 C)、以及 F4-HSA-F5B6H2 (图 3-5 的图片 D) 预处理 24 小时以后, 测量磷酸化 ErbB3 (图 3A-D)、AKT (图 4A-D)、以及 ERK (图 5A-D) 的抑制。用一定剂量范围的 B2B3-1 变体处理 BT474 乳腺癌细胞 24 小时, 接着 HRG 刺激。通过 ELISA 测量在细胞溶胞产物中的 pErbB3、pAKT、以及 pERK 水平, 并且连同抑制百分比一起计算 IC_{50} 值。这些结果表明, 在 10^{-8} 或更高的摩尔浓度下, B1B2-1 是仅有的在所测试的能够对 AKT、ERK 和 ErbB3 的 HRG- 诱导的磷酸化提供大于 50% 抑制的 HSA 接头连接物。

[0250] 实施例 6

[0251] 如图 6 所示, 用 B2B3-1 变体处理 BT474 胸肿瘤细胞会引起 G1 细胞周期阻滞和 S 期细胞群体的减少。用 1 μ M 的 B2B3-1 变体和对照处理 BT474 细胞 72 小时。在处理结束以后, 胰蛋白酶消化细胞, 温和再悬浮在包含碘化丙啶的低渗溶液中, 然后通过流式细胞术分析单细胞。利用设计用于细胞周期分析的曲线拟合算法 (FlowJo 软件细胞周期平台) 测量了在 G1 和 S 期中的细胞周期分布。

[0252] 实施例 7

[0253] 利用其二聚伴侣, ErbB2 的高丰度表达, B2B3-1 (SEQ ID NO:16) 可以抑制 ErbB3 激活, 从而靶向肿瘤细胞。高亲和力抗 ErbB2scFv 抗体, B1D2, 促进 B2B3-1 靶向过度表达 ErbB2 的肿瘤细胞。通过修饰 HSA 接头将 B1D2 连接于低亲和力抗 ErbB3scFv 抗体 H3, 其阻断 ErbB3 的配体 HRG 的结合。认为由 B2B3-1 介导的 ErbB3 磷酸化和下游 AKT 信号的抑制是由于这种阻断造成的。结合 scFv 的 ErbB2, B1D2, 源自亲代 scFv C6.5, 其对于 ErbB2 既不具有激动活性也不具有拮抗活性。因此, B1D2 同样仅作为靶向剂。ErbB3 结合 scFv 的低亲和力结合被认为可以防止 B2B3-1 与正常、非癌性组织 (其表达 ErbB3 但很少或不表达 ErbB2) 的强结合, 从而减少非特异性毒性的效力。在表达 ErbB2 和 ErbB3 的肿瘤细胞中, 存在的结合于两种受体的双特异性 B2B3-1 的亲亲和效应会克服 ErbB3scFv 的低亲和力, 从而允许 HRG 与 ErbB3 受体复合物的相互作用的强抑制。

[0254] 利用流式细胞术 (FACS), 研究了 B2B3-1 抑制 HRG 结合于 ErbB3 的能力。用 1 μ M B2B3-1 预处理人乳腺癌细胞系 (BT-474 的变体, 其过度表达 ErbB2) 的细胞, 然后用 10 nM 生物素化 HRG 1 β EGF 域温育。在充分洗涤以后, 利用链抗生物素蛋白 -AlexaFluor 647 结合物评估了结合。在 4°C 下进行所有温育。图 7 表明, B2B3-1 能够阻断 HRG 与 ErbB3 的结合, 并且在 1 μ M 的浓度下提供 100% 的阻断。

[0255] 实施例 8

[0256] 在表明了 B2B3-1 阻断 HRG 结合于 ErbB3 的能力以后,研究了体外对表达 ErbB3 和过度表达 ErbB2 的两种细胞系 B2B3-1 对 ErbB3 信号的影响。人乳腺癌细胞系 BT-474-M3 (在例如 Drummond et al. (2005) Clin. Cancer Res. 11:3392; Park et al. (2002) Clin. Cancer Res. 8:1172; Kirpotin et al. (2006) Cancer Res. 66:6732 中描述的) 和 ZR7530 (可获自 US NIH Lawrence Berkeley National Laboratory 乳腺癌细胞采集物) 被血清饥饿过夜,用剂量滴定的 B2B3-1 预处理 24 小时,然后用 5nM 的 HRG 1 β EGF 域刺激 10 分钟。然后利用 ELISA 测定,检查了 ErbB3 和 AKT 的磷酸化状态,ELISA 测定基本上如前文所述。结果表明,在两种细胞系中, B2B3-1 以剂量依赖性方式抑制 HRG 诱导的 ErbB3 和 AKT 磷酸化的激活,并具有有效的 IC₅₀ (图 8A-D)。

[0257] 实施例 9

[0258] 图 9 示出在 BT474 乳腺癌细胞中 B2B3-1 处理对信号蛋白的影响。用一定剂量范围的 B2B3-1 处理细胞 24 小时,接着神经生长因子刺激。通过蛋白质印迹分析,确定了细胞溶胞产物的 pErbB2、pErbB3、pErk 以及 pAKT 水平,以及它们相应的总蛋白水平。结果表明,通过 B2B3-1 处理,至少 pErbB2 和 pErbB3 的水平以剂量依赖的方式降低。

[0259] 实施例 10

[0260] 图 10 示出 B2B3-1 处理的 BT474 乳腺癌细胞的免疫沉淀-蛋白质印迹分析。用一定剂量范围的 B2B3-1 处理细胞 24 小时,接着神经生长因子刺激。利用抗 ErbB2 抗体,从细胞溶胞产物分离 ErbB2 结合复合物,接着蛋白质印迹分析,以检测 pErbB2 和 pErbB3 以及相应的总蛋白水平。结果表明, B2B3-1 使 ErbB2 与 ErbB3 交联,以使得实质上更多的 ErbB3 和磷-ErbB3 可通过抗-ErbB2 抗体被沉淀。

[0261] 实施例 11

[0262] 利用若干测定,体外研究了 B2B3-1 的抗肿瘤活性。在第一测定中,检查了 B2B3-1 对 G1 期的 BT-474 或 SKBR3 细胞的积聚以及伴随的对细胞周期的 S 期的细胞的减少的影响。简单地说,用 1 μ M B2B3-1 或 PBS 载体处理细胞 72 小时。在处理结束以后,胰蛋白酶消化细胞,温和再悬浮在包含碘化丙啶的低渗溶液中,然后通过流式细胞术来分析单细胞。利用设计用于细胞周期分析的曲线拟合算法 (FlowJo 软件细胞周期平台, Tree Star, Inc.) 测量了在 G1 和 S 期中的细胞周期分布。研究发现, B2B3-1 温和降低 S 期细胞的百分比并且增加 G1 期细胞的群体 (图 11A)。在第二实验中,研究了在用 B2B3-1 处理以后形成的细胞集落的数目。在有 1 μ M B2B3-1 存在的条件下,平板接种 BT-474 和 SKBR3 乳腺癌细胞,并比较仅平板接种在介质中的细胞。每 3 天仅补充介质或补充包括处理的介质。在 14 天以后,计数集落的数目并和未处理细胞比较。图 11B 表明,与对照细胞相比,当用 B2B3-1 处理细胞时,所形成的集落数目减少 40-45%。最后,用细胞阻抗测定并利用实时细胞电子传感系统 (RT-CES; ACEA Biosciences) 评估了 B2B3-1 抑制细胞增殖的能力。将 BT-474 细胞接种在结合有微电子传感器阵列的平板上,然后用剂量滴定的 B2B3-1 或仅介质处理 72 小时。每小时收集反映细胞-电极阻抗反应发生的数据,时间为 72 小时,然后在处理后 68 小时计算 IC₅₀ 值。图 11C 表明, B2B3-1 能够抑制 BT-474 细胞的阻抗并且 IC₅₀ 为 33nM。

[0263] 实施例 12

[0264] 我们还基于同时结合和交联 ErbB2 和 ErbB3 受体的能力研究了 B2B3-1 是否具有

激动活性。用 1 μ M B2B3-1 或 PBS 载体温育血清饥饿的 ZR75-1 乳腺癌细胞 24 小时。还用 B2B3-1 或 PBS 载体处理细胞 24 小时,接着用 5nM HRG 1 β EGF 域刺激 10 分钟。溶解细胞并通过基本上如上文所述的 ELISA 评估溶胞产物的 pErbB3 含量。图 12 表明,仅用 B2B3-1 处理的细胞包含的磷酸化 ErbB3 的水平与未处理细胞中的水平相当,这表明 B2B3-1 并不是作为促进 ErbB3 磷酸化的激动剂起作用。

[0265] 实施例 13

[0266] 通过 ELISA,研究了 B2B3-1 特异性地结合于 ErbB2 和 ErbB3 且不结合于相关 ErbB 家族成员 EGFR 和 ErbB4 的能力。平板涂布有 ErbB2 或 ErbB3 的重组胞外域。在有 EGFR、ErbB2、ErbB3 或 ErbB4 的系列稀释的竞争性重组胞外域存在的条件下,用半最大结合浓度的 B2B3-1 阻断和温育平板。结果表明,仅可溶性 ErbB2 胞外域阻断 B2B3-1 结合于 ErbB2 涂布的平板(图 13A)。同样,仅可溶性 ErbB3 胞外域阻断 B2B3-1 结合于 ErbB3 涂布的平板(图 13B)。这些结果被认为证明了抗 ErbB2 臂 B1D2 对 ErbB2 的特异性,以及抗 ErbB3 臂 H3 对 ErbB3 的特异性。当在 ErbB3 涂布的平板上用 B2B3-1 温育可溶性 ErbB2 胞外域时观测到的增加的信号被认为是由于在平板上 ErbB2、ErbB3、B2B3-1 复合物的形成。

[0267] 实施例 14

[0268] 利用 B3B3-1 的单特异性变体研究了 B2B3-1 结合于表达 ErbB2 和 ErbB3 的肿瘤细胞的能力。SKO-2 (SEQ ID NO :67) 和 SKO-3 (SEQ ID NO :68) 是 B2B3-1 的变体,其分别缺少与 ErbB2 或 ErbB3 相互作用的能力。

[0269] SKO-2 和 SKO-3 是利用 QUIKCHANGE Site Directed Mutagenesis 试剂盒 (STRATAGENE) 构建的,其使用各自互补于模板载体的相反链的寡核苷酸引物对。在产生含有交错切口的突变质粒的温度循环过程中延伸这些引物。在温度循环后,用 DpnI 处理产物,其被用于消化亲本 DNA 模板。然后将含有期望突变的带切口的载体 DNA 转运到 XL1-BLUE 超感受态细胞 (STRATAGENE) 中以扩增质粒 DNA。

[0270] 为了制备 SKO-2,抗 -ErbB2scFv, B1D2 的 VH CDR3 环中的 5 个核苷酸发生突变以产生以下的氨基酸取代;H95A、W100hA、和 E100jA。在这些位置处的突变已被证明敲除了 B1D2 亲本 scFv, C6.5 与 ErbB2 的结合 (Schier et al,1996JMB)。以分步的方式将突变引入到 B2B3-1 质粒 pMP9043 (SEQ ID NO :60) 中。首先,利用引物 5' -GTA CTT TTG TGC CCG GGC CGA TGT GGG CTA CTG C-3' (SEQ ID NO :61) 和 5' -GCA GTA GCC CAC ATC GGC CCG GGC ACA AAA GTA C-3' (SEQ ID NO :62) 和在 95°C 持续 1 分钟,接着 95°C 持续 1 分钟循环 30 次,55°C 持续 1 分钟,并且在 65°C 持续 17.2 分钟的温度循环下产生突变 c295g 和 a296c。通过质粒 DNA 的 DNA 测序来确认突变。为了在 t334g、g335c、和 a341c 处引入突变,利用引物 5' -GAC ATG TGC CAA GGC CCC CGC GTG GCT GGG AGT G-3' (SEQ ID NO :63) 和 5' -CAC TCC CAG CCA CGC GGG GGC CTT GGC ACA TGT C-3' (SEQ ID NO :64) 和在 95°C 持续 30 秒并在 95°C 持续 30 秒循环 18 次,55°C 持续 1 分钟并在 68°C 持续 17.2 分钟的温度循环下,在具有已确认序列的突变的质粒上的 c295g 和 a296c 处实施第二轮定点诱变。通过所得的质粒 DNA 的 DNA 测序来确认突变。

[0271] 为了产生 SKO-3,将突变的 B1D2scFv 亚克隆到原来的 B2B3-1 质粒中以代替抗 -ErbB3scFv, H3。将引物与 SKO-2 退火,使用 5' ACAGTGGCGGCCGCCACCATGGGCTGGTCTCTGAT CCTGCTGTTCCTGGTGGCCGTGGCCACGCGTGTGCTGTCCCAGGTGCAGCTCGTCCAGAGCGGCGC (SEQ ID NO :

65) 和 5' GGAGGCGGCGCCAGGACTGTCAGCTTGGTGCCACCGCCG (SEQ ID NO :66) 从 SK0-2 分离突变的 B1D2scFv 并将用于亚克隆的 Kas I 和 Not I 限制性位点引入到 Kas I/Not I 限制性消化的 B2B3-1 质粒中。如下实施 PCR :94℃持续 1 分钟接着 94℃持续 30 秒循环 30 次,58℃持续 1 分钟,72℃持续 1 分钟,接着 72℃持续 5 分钟循环一次以扩增突变体 B1D2。通过 DNA 测序来监测连续克隆。在摇瓶或 10L WAVE 袋中由 CHO-K1 稳定表达 SK0-2 和 SK0-3 质粒并利用 Blue SEPHAROSE 和阳离子交换色谱由条件培养基进行纯化。

[0272] 在有饱和浓度的山羊抗 HSA Alexafluor-647 结合抗体存在的条件下,用系列稀释的 B2B3-1、SK0-2、或 SK0-3 温育 MALME-3M 黑色素瘤细胞,其表达大约相等数目的 ErbB2 和 ErbB3 受体。通过流式细胞术评估了细胞结合并确定了每种分子的表现结合亲和力。仅用二抗温育对照细胞。没有观测到 SK0-2 可测量的细胞结合,SK0-2 仅保留由 H3 介导的与 ErbB3 的低亲和结合并且缺少与 ErbB2 的结合活性。SK0-3,其保留功能性、高亲和 ErbB2 结合 B1D2scFv 但缺少结合 ErbB3 的能力,具有 6.7nM 的 K_D 。B2B3-1 结合细胞, K_D 为 0.2nM,这表明了由这种分子的双特异性设计介导的结合增加(图 14)。

[0273] 实施例 15

[0274] 通过在 37℃下在人、食蟹猴、或小鼠血清中温育 100nMB2B3-1 达 120 小时,评估了在生理条件下 B2B3-1 的稳定性。在 0、24、48、72、96 以及 120 小时取样品并通过 ELISA 测量 B2B3-1 结合 ErbB2 和 ErbB3 的能力。上述 ELISA 涉及用重组 ErbB2 胞外域涂布 96 孔平板过夜,接着是阻断步骤,然后用系列稀释的 B2B3-1 进行温育。然后用 Fc-ErbB3 胞外域融合蛋白接着用山羊抗人 Fc-HRP 结合物温育平板。通过添加超信号化学发光底物来显影平板。图 15A-C 表明,在生理条件下在来自所有三种物种的血清中 B2B3-1 仍然是稳定的,并在测量的所有时间点保留相当的结合 ErbB2 和 ErbB3 的能力。

[0275] 实施例 16 :在 BT-474-M3 人乳腺癌体内异种移植模型中 B2B3-1 剂量反应。

[0276] 利用携带人 BT-474-M3 异种移植物的裸鼠评估了 B2B3-1 的体内效力。每组 10 只小鼠,每 3 天以 0.3、1、3、10、30 或 90mg/kg 的量 12 次给予 B2B3-1。以相对于 90mg/kg B2B3-1 剂量的等摩尔剂量给予对照组 PBS 载体或 HSA。所有剂量是腹膜内 (i. p.) 给予。每周两次测量肿瘤大小并计算相应的肿瘤容积。结果表明,和对照组相比, B2B3-1 治疗导致 BT-474-M3 肿瘤体积的显著减小(图 16)。除用最低剂量的 B2B3-1 (0.1mg/kg) 治疗的小鼠以外,在每个 B2B3-1 治疗组中均观测到完全消退。

[0277] 实施例 17

[0278] 如图 17A-E 所示,B2B3-1 在多种异种移植模型中以 ErbB2 依赖性方式使肿瘤尺寸减小。在表达 ErbB2 $> 1 \times 10^5$ 受体/细胞的 Calu-3(图 17A)、SKOV-3(图 17B)、NCI-N87(图 17C)、以及 MDA-MB-361(图 17E) 异种移植模型中 B2B3-1 是有效的,但在表达 4.5×10^4 ErbB2 受体/细胞的 ACHN(图 17D) 异种移植模型中则作用较小。每 3 天用 30mg/kg 的 B2B3-1 治疗小鼠。

[0279] 实施例 18

[0280] ErbB2 的过度表达将 B2B3-1 非反应者 ADRr 乳腺癌异种移植模型转化成对 B2B3-1 的反应者(图 18A 和 18B)。利用反转录病毒表达系统,在 ADRr 乳腺癌细胞中过度表达 ErbB2。利用 FACS 来选择表达高水平 ErbB2 的转染细胞 (ADRr-E2),随后对裸鼠进行皮下注射以建立异种移植肿瘤。每 3 天用 30mg/kg 的 B2B3-1 治疗小鼠。虽然在野生型 ADRr 异

种移植物（图 18A）中没有观测到对 B2B3-1 的反应，但 ADRr-E2 异种移植物（图 18B）对 B2B3-1 有反应。

[0281] 实施例 19

[0282] 如图 19A-B 所示，B2B3-1 活性与体外（图 19A）和体内（图 19B）的 ErbB2 表达水平正相关。利用 ELISA 测定，在 ErbB2 的表达水平为 5×10^4 受体 / 细胞至 2.4×10^6 受体 / 细胞的 9 种肿瘤细胞系中确定了 ErbB3 磷酸化的 B2B3-1 抑制。研究发现，相对于基本水平（pErbB3 抑制 %），B2B3-1 抑制 ErbB3 磷酸化的能力的程度正相关于 ErbB2 表达水平。类似地，在表达低至高水平 ErbB2 的 10 种肿瘤异种移植模型中评估了 B2B3-1 活性。异种移植反应也正相关于 ErbB2 表达水平。

[0283] 实施例 20

[0284] BT474-M3 胸肿瘤细胞的 B2B3-1 处理导致 p27^{kip1} 易位到细胞核（图 20A）。用 $1 \mu\text{M}$ 的 B2B3-1 处理 BT474-M3 细胞 6 小时。利用免疫荧光技术评估了 p27^{kip1} 的亚细胞位置。在经 B2B3-1 处理的细胞中，p27^{kip1} 易位到细胞核，已表明其导致细胞增殖的抑制。p27^{kip1} 仍然在未处理细胞的细胞质中。

[0285] 为了进一步研究 B2B3-1 对细胞周期的影响，利用蛋白质印迹分析，检查了经 B2B3-1 处理 72 小时的 BT-474-M3 细胞的细胞周期调节子细胞周期蛋白 D1（图 20B）。在此实验中细胞骨架蛋白纽蛋白用作蛋白负荷对照。和未处理细胞相比，B2B3-1 处理导致细胞周期蛋白 D1 水平的降低。

[0286] 实施例 21

[0287] 如图 21A-B 所示，BT474-M3 胸肿瘤异种移植物的 B2B3-1 处理导致 p27^{kip1} 易位到细胞核。每 3 天用剂量为 30mg/kg 的 B2B3-1（图 21A）或用等摩尔剂量的 HSA（图 21B）处理 BT474 胸肿瘤异种移植物，总共给药 4 次。与 HSA 对照肿瘤相比，在 B2B3-1 治疗的肿瘤中观测到 p27^{kip1} 的增加的核染色，表明了 B2B3-1 体内的抗增殖效应。

[0288] 实施例 22

[0289] B2B3-1 治疗导致在 BT474 乳腺癌异种移植肿瘤中增殖标记 Ki67 的减少。每 3 天用剂量为 30mg/kg 的 B2B3-1（图 22A）或用等摩尔剂量的 HSA（图 22B）处理 BT474-M3 胸肿瘤异种移植物，总共给药 4 次。随后肿瘤切片的 Ki67 染色表明，与 HSA 处理的肿瘤相比，B2B3-1 处理的肿瘤具有降低的表达模式。

[0290] 实施例 23

[0291] B2B3-1 治疗导致在 BT474-M3 乳腺癌异种移植肿瘤中血管密度的减小，如通过测定 CD31 表达所确定的（图 23A-B）。每 3 天用剂量为 30mg/kg 的 B2B3-1（图 23A）或用等摩尔剂量的 HSA（图 23B）处理 BT474 胸肿瘤异种移植物，总共给药 4 次。肿瘤染色以检查血管标记 CD31 的存在。与用 HSA 处理的对照肿瘤相比，用 B2B3-1 处理的肿瘤显示显著降低的血管密度。

[0292] 实施例 24 :B2B3-1 体内抑制 ErbB3 的磷酸化。

[0293] 每 3 天用 30mg/kg 的 B2B3-1 或 17.5mg/kg 的 HSA 治疗 BT-474-M3 异种移植肿瘤，总共给药 4 次，并在最后给药后的 24 小时收集肿瘤。使肿瘤溶解并进行 SDS-PAGE 接着进行蛋白质分析，以评估 B2B3-1 的靶 ErbB3 的磷酸化的相对水平。在每个泳道中加载等量的蛋白质并通过检查 β 微管蛋白来控制总蛋白水平。利用对于磷酸化 ErbB3 具有特异性的

抗体进行的蛋白质印迹分析表明,与 HSA 治疗的肿瘤相比, B2B3-1 治疗的肿瘤包含更少的 pErbB3(图 24A)。蛋白质印迹分析的密度测定法和接着平均 pErbB3 积分谱带强度归一化到平均 β 微管蛋白积分谱带强度说明了,和对照 HSA 治疗的肿瘤相比, B2B3-1 治疗的肿瘤包含显著更少的 pErbB3(图 24B)。这些数据证实了, B2B3-1 体内抑制其靶 ErbB3 的磷酸化。

[0294] 实施例 25:在具有降低的 PTEN 活性的 BT-474-M3 异种移植物中 B2B3-1 的体内活性。

[0295] ShRNA 技术用来在 BT-474-M3 乳腺癌细胞中敲除肿瘤抑制性基因磷酸酶和张力蛋白同系物 (PTEN) 的活性。简单地说,借助于反转录病毒转染,用 shPTEN 或 shControl RNA 转染培养的 BT-474-M3 细胞。利用 FACS 来选择具有降低的 PTEN 的转染细胞,随后皮下注射到裸鼠的右肋腹,以建立异种移植肿瘤。将用对照载体转染的细胞注入相同小鼠的左肋腹。每 3 天用 30mg/kg 的 B2B3-1 或每周用 10mg/kg 曲妥珠单抗治疗小鼠。以相对于 B2B3-1 的等摩尔剂量,注射 HSA 作为对照。所有注射到腹腔。

[0296] B2B3-1 和曲妥珠单抗促进减小由对照 BT-474-M3 乳腺癌细胞形成的肿瘤的尺寸(图 25A),而仅 B2B3-1(但不是曲妥珠单抗)促进减小缺少 PTEN 的表达的 BT-474-M3 人乳腺癌细胞形成的肿瘤的尺寸(图 25B)。

[0297] 实施例 26: B2B3-1 抑制在具有降低的 PTEN 活性的 BT-474-M3 乳腺癌细胞中的 ErbB3 信号。

[0298] 利用上文描述的 PTEN 缺陷型 BT-474-M3 模型,研究了在肿瘤异种移植物中 B2B3-1 抑制 ErbB3 信号的磷酸化的能力。每 3 天用 30mg/kg 的 B2B3-1、17.5mg/kg 的 HSA,或每周用 10mg/kg 曲妥珠单抗,治疗工程改造的细胞系或对照细胞系的异种移植肿瘤,并在最后给药以后的 24 小时收集肿瘤。使肿瘤溶解并进行 SDS-PAGE 接着蛋白质分析,以评估 B2B3-1 的靶 ErbB3、AKT 的磷酸化的相对水平、以及总 PTEN 水平。在每个泳道中加载等量的蛋白并通过检查 PCNA 来控制总蛋白水平。利用对于磷酸化 ErbB3 具有特异性抗体进行的蛋白质印迹分析表明,和 HSA 治疗的或曲妥珠单抗治疗的肿瘤相比, B2B3-1 治疗的肿瘤包含较少的 pAKT(图 26A)。蛋白质印迹分析的密度测定法和接着平均 pAKT 积分谱带强度归一化到平均 PCNA 积分谱带强度说明了,和对照 HSA 治疗和曲妥珠单抗治疗的肿瘤相比, B2B3-1 治疗的肿瘤包含显著更少的 pAKT(图 26B)。

[0299] 实施例 27

[0300] 在 nu/nu 小鼠中研究了 B2B3-1 的药物动力学参数。将动物随机分组并静脉内 (IV) 给予单次给予 5、15、30、或 45mg/kg 的 B2B3-1(分别为图 27A-D)。给药前以及给药后 0.5、4、8、24、48、72、以及 120 小时收集血液。三只小鼠用于每个时间点。利用两种 ELISA 方法测量了 B2B3-1 的血清水平。第一种方法需要 B2B3-1 功能性结合于 ErbB2 和 ErbB3,而第二种方法仅测量在血清中 B2B3-1 的 HSA 成分。HSA ELISA 采用多克隆抗 HSA 捕捉抗体和 HRP 结合多克隆抗 HSA 检测抗体。与 HSA 方法比较,利用 ErbB2/ErbB3 结合方法测得的 B2B3-1 血清浓度的减小将表明功能性 B2B3-1 的丧失。图 27A-D 示出,当利用任何一种 ELISA 方法进行评估时, B2B3-1 的药物动力学性能是相当的,这表明在小鼠的循环中 B2B3-1 是稳定的。

[0301] 实施例 28

[0302] 利用两室、双指数模型来拟合 B2B3-1 血清浓度并显示双相分布。对于 5、15、30、或 45mg/kg 剂量,最终半衰期分别计算为 17、16、23、以及 18 小时,并列在表 4 中。B2B3-1 剂量

的增加导致暴露的线性增加（图 28）。

[0303] 表 4：在小鼠和食蟹猴中 B2B3-1 的药物动力学性能

[0304]

剂量 (mg/kg)	物种	N	T1/2 β (hrs)	AUC (hr- μ g/ml)	清除率 (ml/hr/kg)
5	小鼠（单次给药）	3	16.9	1.58E+03	3.19
15	小鼠（单次给药）	3	16.2	6.10 E+03	2.47
30	小鼠（单次给药）	3	22.6	1.18 E+04	2.54
45	小鼠（单次给药）	3	17.5	1.84 E+04	2.46
4	食蟹猴（第一次给药）	2	39.1	3.44E+03	1.17
4	食蟹猴（第四次给药）	2	44.9	7.20 E+03	0.60
20	食蟹猴（第一次给药）	2	33.1	2.29 E+04	0.88
20	食蟹猴（第四次给药）	2	122.5	8.20 E+04	0.25
200	食蟹猴（第一次给药）	4	68.8	3.18 E+05	0.64
200	食蟹猴（第四次给药）	2	69.7	5.72 E+05	0.35
200	食蟹猴（第四次给药）	2	66.6	5.99 E+05	0.34

[0305] 实施例 29

[0306] 用于药物动力学分析的血液样品还获自对雌性食蟹猴进行的剂量范围寻找的毒理学研究。在此研究中，对动物输注 4、20 或 200mg/kg 的 B2B3-1，每 3 天给予，共 4 次给药。在每个给予剂量日，（研究日 1、4、7 以及 10）在给予剂量以前和以后 5 分钟进行采样以提供剂量前和峰 / 谷浓度，并在第 1 天的第一次输注结束后的 1、2、4、8、24 以及 48 小时并在第 10 天的最后一次输注后的 1、2、4、8、24、48、72 以及 120 小时进行采样。对于给药剂量 200mg/kg 的恢复动物，还在最后一次输注后的 168、336 以及 456 小时收集血清样品。

[0307] 利用先前描述的 ErbB2/ErbB3ELISA 方法测定了食蟹猴血清样品。对于每种剂量，随时间的血清浓度示于图 29 中。分析表明，在第 1 天和第 10 天给予剂量以后血清 B2B3-1 的平均浓度 - 时间分布是定性上类似的：浓度通常随时间从最大浓度降低。平均半衰期估计值为在第 1 天 38.3-67.2 小时以及在第 10 天 45.0 至 121.0 小时（表 4）。

[0308] 实施例 30

[0309] 产生编码 B2B3-1 双特异性 scFv 抗体融合蛋白的质粒，其合并有独特的人抗 ErbB3scFv（称为“H3”）、人抗 ErbB2scFv（称为“B1D2”）、以及修饰人血清白蛋白（HSA）接头的基因序列。借助于连接肽（Ala-Ala-Ser）将抗 ErbB3scFv，H3，重组连接于 HSA 接头的氨基末端，以及借助于连接肽（Ala-Ala-Ala-Leu-SEQ ID NO:5）将抗 ErbB2scFv，B1D2，基因连接于 HSA 接头的羧基末端。肽连接物是通过在构建哺乳动物表达性载体期间引入限制位点形成并且连同单链抗体片段和 HSA 接头以对于哺乳动物表达优先使用的密码子合成。

[0310] B1D2scFv 选自通过诱变 ErbB2 结合 scFv C6.5 所产生的组合噬菌体展示文库，其选自非免疫噬菌体展示文库。H3scFv 选自最初由 Sheets 等制备的非免疫噬菌体展示文库。按照 CHO 细胞密码子偏好优化编码 B1D2 和 H3 单链抗体片段的基因序列并合成用于 B2B3-1 编码质粒的随后构建。

[0311] 修饰的 HSA 接头包含两个氨基酸取代。将在位置 34 处的半胱氨酸残基突变成丝

氨酸以降低潜在的蛋白异质性（由于在此位点的氧化）。将在氨基酸 503 处的天冬酰胺残基突变成谷氨酰胺，其在野生型 HSA 中对脱氨作用敏感并会导致药理半衰期缩短。

[0312] 用对于哺乳动物表达的优化的密码子运用来合成编码修饰 HSA 接头的基因序列，用于随后构建 B2B3-1 编码质粒。

[0313] 实施例 31

[0314] 利用标准分子生物学技术将 B2B3-1 编码序列克隆到 pMP10k 基础载体，以产生图 30 所示的质粒 pMP10k4H3-mHSA-B1D2。对于大部分来说，这种构建体采用常用的基因元件。B2B3-1 表达是由人 GAPD 启动子推动。这种载体采用称作间质连接区或 MAR 元件的基因元件。MAR 基因元件控制染色质的动态组织，并使附近的基因与周围染色质的影响隔离，从而增加依赖于拷贝数的与位置无关的基因表达。已表明，MAR 元件可以改善分离克隆的概率，其中克隆呈现为生产重组蛋白所期望水平的表达，以及增加生产的稳定性。在 B2B3-1 构建体中所使用的 MAR 元件是非编码人 MAR 元件。除 B2B3-1 质粒以外，新霉素抗生素抗性质粒（图 31）和潮霉素抗性质粒（图 32）还用来选择稳定的转化体。

[0315] 实施例 32：基因转染的第一轮

[0316] 中国仓鼠卵巢 CHO-K1 细胞购买自 ATCC(ATCC#CCL-61)。CHO-K1 细胞系是由 T. T. Puck 产生的亲代 CHO 细胞系的血清和脯氨酸依赖性黏附亚克隆。在转染以前，使用于 B2B3-1 转染的 CHO-K1 细胞预先适合于在无血清介质中悬浮生长。重复转染程序用来生长 B2B3-1 细胞系。在转染前 24 小时，在补充有 8mM L-谷氨酰胺、0.1mM 次黄嘌呤钠、以及 0.016mM 胸苷的 SFM4CHO（无血清）介质（HyClone, Logan, UT）中将 CHO-K1 细胞亚传代至 1.0×10^6 细胞/mL。在转染日，将细胞再悬浮在 OptiMEM 介质（Invitrogen Corp, Carlsbad, CA）中并将 40,000 个细胞放置在 24 孔板的每个孔中。在第一次转染中，利用 75:1（B2B3-1：新霉素抗性）的摩尔质粒比将 B2B3-1 表达质粒（pMP10k4H3-mHSA-B1D2）和新霉素抗性质粒（图 30；pSV2-neo（Selexis, Inc., Marlborough, MA）混合在一起。随后使质粒混合物混合于阳离子脂质转染试剂（Lipofectamine LTX, Invitrogen Corp, Carlsbad, CA）并允许脂质/DNA 复合物形成 30 分钟。然后将 DNA/脂质复合物加入 CHO-K1 细胞并将 24 孔平板放置在 37°C、5% CO₂ 的恒温箱中。

[0317] 实施例 33：高生产者的选择和筛选

[0318] 用 PBS 洗涤每个转染孔的内含物，胰蛋白酶消化并分布于两个、96 孔平板。所使用的生长培养基包括含有 10% FBS（Invitrogen Corp, Carlsbad, CA）的 DMEM/F12（Invitrogen Corp, Carlsbad, CA）以及 500mg/L 新霉素（G418；Invitrogen Corp, Carlsbad, CA）。在第 4 天将在 96 孔平板中的介质改变成补充有 8mM L-谷氨酰胺、0.1mM 次黄嘌呤钠、0.016mM 胸苷、以及 500mg/L 新霉素的 SFM4CHO 介质。在选择介质中再培养两周后，存活细胞已形成界限分明的集落。利用定量斑点印迹技术来评估克隆。胰蛋白酶消化顶部产生的集落，并扩展到 24 孔平板的单孔。

[0319] 7 天生产力测定用来筛选高 B2B3-1 生产集落。在扩展以后，使 24 孔平板中的细胞可以在补充有 8mM L-谷氨酰胺、0.1mM 次黄嘌呤钠、以及 0.016mM 胸苷的 SFM4CHO 介质中增殖 7 天。确定在用过的培养基中的 B2B3-1 浓度。将来自 24 孔规模的顶部克隆扩展到 125mL 隔板式摇瓶。在摇瓶中补充有 8mM L-谷氨酰胺、0.1mM 次黄嘌呤钠、以及 0.016mM 胸苷的 SFM4CHO 介质中的 7 天研究用来筛选用于生长和 B2B3-1 生产的细胞群。

[0320] 实施例 34 :基因转染的第二轮

[0321] 对根据第一轮转染(上文)确定的最高生产细胞群转染第二次以增加生产。在转染前 24 小时,在补充有 8mM L- 谷氨酰胺、0.1mM 次黄嘌呤钠、以及 0.016mM 胸苷的 SFM4CHO(无血清)介质中将细胞群亚传代到 1.0×10^6 细胞/mL。在转染日,将细胞再悬浮在 OptiMEM 介质(Invitrogen Corp, Carlsbad, CA)中并将 40,000 个细胞放置在 24 孔平板的每个孔中。在第一次转染中,以 50:1(B2B3-1:潮霉素抗性)的摩尔质粒比将 B2B3-1 和潮霉素抗性质粒(图 32;pTK-Hyg(Clontech, Mountain View, CA))混合在一起。随后将质粒混合物混合于阳离子脂质转染试剂(Lipofectamine LTX, Invitrogen Corp)并使脂质/DNA 复合物可以形成 30 分钟。然后将 DNA/脂质复合物加入细胞群并将 24 孔平板放置在 37°C、5% CO₂ 的恒温箱中。

[0322] 实施例 35 :从第二次转染选择和筛选高生产者

[0323] 用 PBS 洗涤每个转染孔的内含物,胰蛋白酶消化,然后分布于两个 96 孔平板。所使用的生长培养基包括补充有 10% FBS 的 DMEM/F12 和 400mg/L 的潮霉素 B(Invitrogen Corp)。在第 4 天,将在 96 孔平板中的介质改变成补充有 8mM L- 谷氨酰胺、0.1mM 次黄嘌呤钠、0.016mM 胸苷、以及 400mg/L 潮霉素 B 的 HycloneSFM4CHO 介质。在继续选择两周以后,存活细胞已形成界限分明的集落。利用定量斑点印迹技术来评估克隆。胰蛋白酶消化顶部产生的集落,并扩展到 24 孔平板的单孔。

[0324] 7 天生产力测定用来筛选高 B2B3-1 生产集落。在扩展以后,使细胞可以增殖 7 天,然后确定在用过的培养基中的 B2B3-1 浓度。

[0325] 将来自 24 孔平板的顶部克隆扩展到包含补充有 8mM L- 谷氨酰胺、0.1mM 次黄嘌呤钠、以及 0.016mM 胸苷的 Hyclone SFM4CHO 介质的 125mL 隔板式摇瓶中。在摇瓶中的 7 天研究用来筛选用于生长和 B2B3-1 生产的细胞群。利用 Protein Aresin 和 HPLC 仪器对用过的培养基进行量化。

[0326] 实施例 36 :限制稀释克隆

[0327] 从 125mL 摇瓶转移通过生产力测定鉴定的最好生长和最高 B2B3-1 产量的集落,并以用来产生一个细胞/孔的细胞浓度平板接种在 5 个 96 孔平板中。将 96 孔平板放置在 37°C 和 5% CO₂ 的恒温箱中。每两周检查孔以跟踪集落的形成。基于集落的对称形状,鉴定了来自单细胞的集落。对包含上述集落的孔进行标记,以用于通过 24 孔 7 天评估、以及 125mL 摇瓶 7 天评估来进一步筛选。

[0328] 以与第一轮类似的方式进行第二轮的限制稀释克隆。评价另外 100mL 供给的材料以证实克隆选择。冷藏预接种库。

[0329] 实施例 37 :B2B3-1 的配制

[0330] 经由静脉内输注一周一次给予 B2B3-1,时间为 60 或 90 分钟,其取决于患者耐受能力。

[0331] 可以将 B2B3-1 配制在无菌 20mM L- 组氨酸盐酸盐、150mM 氯化钠、pH 6.5 溶液中,浓度为 25mg/mL,用于给予患者(例如,人)。

[0332] 实施例 38 :乳腺癌的治疗

[0333] 如果患者的癌症被认为是表达高水平的表皮生长因子受体,包括 ErbB2(HER2/neu),然后用结合于 ErbB 结合部分的 HSA 接头处理,例如示出了 B2B3-1、B2B3-2、v-3、

B2B3-4、B2B3-5、B2B3-6、B2B3-7、B2B3-8、B2B3-9、或 B3B3-10 (参见下表 6)。当癌活检的基因型或组织学筛选揭示了患者肿瘤中的 ErbB2 表达增加的情况下也是如此。

[0334] 可以通过一周一次或一周两次地静脉内输注一段时间,以不高于 30mg/kg 的剂量将 B2B3HSA 接头结合物(如 B2B3-1, SEQ ID NO:6)给予诊断患有乳腺癌的患者,时间为例如,60 或 90 分钟,其取决于患者耐受能力。可以将 B2B3HSA 接头结合物配制在无菌 20mM L- 组氨酸盐酸盐、150mM 氯化钠、pH6.5 溶液中,浓度为 25mg/mL,用于给予患者。监督给予 B2B3HSA 接头结合物的临床医师遵循通常的配制和给药实践以确定用于患者的适当疗程。

[0335] 临床医师还可以将一种或多种治疗剂与 B2B3HSA 接头结合物联合给予。例如,一种或多种治疗性药物或化合物可与 B2B3HSA 接头结合物组合给予,例如用于治疗乳腺癌的通常化疗方案,其中包括多柔比星、环磷酰胺以及紫杉醇。可替换地,临床医师可以连同外科或放射疗法一起给予 B2B3HSA 接头结合物以治疗对其需要的患者的乳腺癌。

[0336] 实施例 39 卵巢癌的治疗

[0337] 如果认为患者的癌症表现出高水平的表皮生长因子受体,包括 ErbB2 (HER2/neu), 则用连接于 ErbB2 选定部分 (binding moiety) 的 HSA 接头进行治疗,例如所列出的 B2B3-1、B2B3-2、v-3、B2B3-4、B2B3-5、B2B3-6、B2B3-7、B2B3-8、B2B3-9、或 B3B3-10 (参见下表 6)。当癌活检的基因型或组织学筛选揭示了患者肿瘤中的 ErbB2 表达增加的情况下也是如此。

[0338] 将 B2B3HSA 接头结合物(例如 B2B3-1, SEQ ID NO:16)单独给予或与基本上在前一实施例中描述的一种或多种其他治疗剂组合给予诊断患有卵巢癌的患者。

[0339] 实施例 40 :其他 HSA 接头结合物

[0340] 可以利用列在下表 5 中的一种或多种成分(组 A-E)来构建 HSA 接头结合物。尤其是,HSA 接头结合物,其显示为下表 5 中的组 C,结合一种或多种选自表 5 所示组 A 和 E 的结合部分。此外,HSA 接头结合物还可以在 HSA 接头的氨基或羧基末端包括一种或多种肽连接物,其选自表 5 中的组 B 和 D。可以重复或截短肽连接物以增加或减小连接物序列的长度。

[0341] 实施例 41 :体内 q7d 给予 B2B3-1 表现出与 q3d 给予 B2B3-1 等同的效力

[0342] 在来自 Charles River Labs 的 5-6 周龄雌性无胸腺裸鼠 (nu/nu) 中确定利用 q7d (每 7 天一次) 剂量方案的 B2B3-1 效力,雌性无胸腺裸鼠具有人乳腺癌细胞系 BT-474-M3 的异种移植物肿瘤(图 33)。小鼠在注射 PBS 中的 20×10^6 人 BT-474-M3 细胞前 24 小时在相对侧肋腹接受皮下释放雌性激素的移植 (0.72mg 小丸,60 天,缓慢释放, Innovative Research of America, Sarasota, FL)。当肿瘤开始生长(肿瘤体积大约为 400mm^3) 时开始给药并且以 30mg/kg 每 3 天一次 (q3d) 的研究时程或以 22mg/kg、66mg/kg、132mg/kg 或 198mg/kg 每 7 天一次通过腹膜内注射向每组 10 只小鼠给予 B2B3-1。利用数字测径器每周两侧测量肿瘤。利用以下公式计算肿瘤体积: $\pi/6 \times (W^2 \times L)$, 其中 W 为短直径而 L 为长直径。药代动力学计算表明, q7d 给药 66mg/kg 应给出与 q3d 给药 30mg/kg 的异种移植肿瘤类似的 B2B3-1 暴露。使用 PBS 载体作为阴性对照。对于 q3d 给药 30mg/kg 和 q7d 给予的三个最高剂量的 B2B3-1, B2B3-1 效力是等同的,这表明 B2B3-1 的 q7d 剂量方案在该模型中是适合的。

[0343] 实施例 42 :B2B3-1 和曲妥珠单抗具有不同的 ErbB 抑制机制

[0344] 利用蛋白质印记分析来测试 B2B3-1 抑制诱导 ErbB3 活性的神经生长因子的能力。

用 100nM B2B3-1 或曲妥珠单抗处理无血清 BT-474-M3 细胞单层 24 小时,然后用 5nM HRG 1 β EGF 刺激 10 分钟。再用 10nM 和 100nM B2B3-1 或 10nM 和 100nM 曲妥珠单抗处理细胞并使其不受到刺激。使溶解产物经受 ErbB3、pErbB3、AKT、和 pAKT 的免疫印记分析。蛋白质印记分析(图 34)表明, B2B3-1 处理导致了 pErbB3 和 pAKT 以配体依赖性方式的抑制,而在不存在配体时仅观察到曲妥珠单抗对 pErbB3 和 pAKT 的抑制。

[0345] 实施例 43:当体外与曲妥珠单抗一起给予时 B2B3-1 具有另外的效果

[0346] 利用四种不同的乳腺癌细胞系来研究 B2B3-1、曲妥珠单抗以及两种药物的组合对癌细胞球状体生长的影响。将 2000 个 BT-474-M3、SKBR3(ATCC)、或 MDA-MB-361(ATCC) 人乳腺癌细胞接种到圆底低粘附性 96 孔板中(Corning® 96Well Clear Round Bottom Ultra Low Attachment Microplate- 产品号 #7007)并在第二天用 B2B3-1、曲妥珠单抗以及以 B2B3-1 对曲妥珠单抗 3 倍摩尔过量的比率的二者组合的剂量范围测量并处理该球状体。在生长 12 天后,测量球状体的表面积并与未处理的细胞进行比较。如在图 35A-C 中所示,在所测试的所有细胞系中, B2B3-1 与曲妥珠单抗的组合在一定浓度范围内均导致比单药剂更大的球状体生长的抑制,而药物的浓度最低。这些结果还表明, B2B3-1 不会与曲妥珠单抗竞争结合于 ErbB2(HER2)。

[0347] 实施例 44:当与曲妥珠单抗一起体内给予时 B2B3-1 具有叠加效应

[0348] 利用 BT-474-M3 异种移植模型在来自 Charles River Labs 的 5-6 周龄雌性无胸腺裸鼠(nu/nu)中研究了当与曲妥珠单抗一起体内给予时 B2B3-1 的影响。在注射 PBS 中的 20×10^6 人 BT-474-M3 细胞前 24 小时,使小鼠在对侧肋腹皮下接受释放雌激素的移植物(0.72mg 丸剂,60 天,缓慢释放, Innovative Research of America, Sarasota, FL)。当肿瘤生长确立时(肿瘤体积大约为 400mm^3)开始给药。利用数字测径器每周测量肿瘤两次。利用以下公式计算肿瘤体积: $\pi/6 \times (W^2 \times L)$, 其中 W 为短直径而 L 为长直径。在研究过程中,通过腹膜内注射对 10 只小鼠/组以 3mg/kg 或 10mg/kg q3d 给予 B2B3-1,以 1mg/kg 或 0.1mg/kg q7d 给予曲妥珠单抗,或两种药物联合给予。对于相应的单药剂而言,给予 B2B3-1 和曲妥珠单抗的所有组合(10mg/kg B2B3-1+1mg/kg 曲妥珠单抗、10mg/kg B2B3-1+0.1mg/kg 曲妥珠单抗、3mg/kg B2B3-1+1mg/kg 曲妥珠单抗、3mg/kg B2B3-1+0.1mg/kg 曲妥珠单抗)。

[0349] 如图 36 所示,与单药剂相比,对于所有组合观察到明显更大的效力,并且从给予 10mg/kg B2B3-1 以及同时给予曲妥珠单抗及 3mg/kg B2B3-1 和 1mg/kg 曲妥珠单抗的组合之前的至少 20 天就观察到显著的效力。在 10mg/kg B2B3-1+1mg/kg 曲妥珠单抗组合组中,10 只小鼠中的 5 只具有完全消退的肿瘤,相比之下,给予与组合中相等剂量的单药剂组中的 10 只小鼠均不具有完全消退的肿瘤。在 3mg/kg B2B3-1+1mg/kg 曲妥珠单抗组合组中,10 只小鼠中的 7 只具有完全消退的肿瘤,相比之下,给予与组合相等剂量的单药剂组中的 10 只小鼠均不具有完全消退的肿瘤。这些结果表明, B2B3-1 不会与曲妥珠单抗竞争结合于 ErbB2(HER2)。这些结果还表明,用至少 3mg/kg B2B3-1 和至少 0.1mg/kg 曲妥珠单抗的组合进行治疗比仅用 3mg/kg 或 10mg/kg 的 B2B3-1 或仅用 0.1mg/kg 或 1mg/kg 的曲妥珠单抗进行治疗更加有效。尤其是,至少 3mg/kg B2B3-1 和 1mg/kg 曲妥珠单抗的组合诱导了至少约 50% 的携带人乳腺癌细胞异种移植物的裸鼠中的基本上完全的肿瘤消退,而单独给予相同浓度的 B2B3-1 或曲妥珠单抗却不能提供这样的小鼠中的 10% 完全消退。

[0350] 还提供了以上描述的 HSA 接头、肽连接物、以及结合部分的具体实施方式。下表 6

列出 10 种 HSA 接头结合物,其在 HSA 接头的氨基和羧基末端具有不同的 ErbB2 特异性或 ErbB3 特异性结合部分、以及肽连接物。

[0351] 本领域技术人员将认识到,并且利用不超过常规实验的手段能够获知并实施本文所描述的具体实施方式的等同替代。这样的等同替代方式包括在所附的权利要求中。从属权利要求中所披露的实施方式的任意组合都包括在本文公开内容的范围内。

[0352] 本文中所引用的每一美国和外国专利以及在审专利申请和出版物的披露内容均以其全部内容结合于本文作为参考。

[0353] 表 6

[0354]

HSA 接头结合物	氨基末端结合部分	氨基末端连接物	HSA	羧基末端连接物	羧基末端结合部分
B2B3-1 (SEQ ID NO:16)	H3 (SEQ ID NO:26)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL(SEQ ID NO:5)	B1D2 (SEQ ID NO:27)
B2B3-2 (SEQ ID NO:17)	A5 (SEQ ID NO:28)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL(SEQ ID NO:5)	B1D2 (SEQ ID NO:27)
B2B3-3 (SEQ ID NO:18)	A5 (SEQ ID NO:28)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL(SEQ ID NO:5)	F5B6H2 (SEQ ID NO:32)
B2B3-4 (SEQ ID NO:19)	A5 (SEQ ID NO:28)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL(SEQ ID NO:5)	ML3.9(SEQ ID NO:29)
B2B3-5 (SEQ ID NO:20)	B12 (SEQ ID NO:30)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL(SEQ ID NO:5)	B1D2 (SEQ ID NO:27)
B2B3-6 (SEQ ID NO:21)	B12 (SEQ ID NO:30)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL(SEQ ID NO:5)	F5B6H2 (SEQ ID NO:32)
B2B3-7 (SEQ ID NO:22)	F4 (SEQ ID NO:31)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL(SEQ ID NO:5)	B1D2 (SEQ ID NO:27)
B2B3-8 (SEQ ID NO:23)	F4 (SEQ ID NO:31)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL (SEQ ID NO:5)	F5B6H2 (SEQ ID NO:32)
B2B3-9 (SEQ ID NO:24)	H3 (SEQ ID NO:26)	AAS	HSA (SEQ ID NO:3)	AAAL(SEQ ID NO:5)	B1D2 (SEQ ID NO:27)
B2B3-10(SEQ ID NO:25)	H3 (SEQ ID NO:26)	AAS	mHSA (SEQ ID NO:1)	AAAL(SEQ ID NO:5)	F5B6H2 (SEQ ID NO:32)

[0355]

[0356] 附录 1

[0357] 序列、序列注释和序列比对

[0358] SEQ ID NO :60

[0359] pMP9043

[0360] gtgccgacgatagagcagacctcgctaaatatatctgcgagaatcaggattccattagctctaagctga
[0361] aagaatgttgcgagaagccccctctggaaaagagtcattgtatcgccgaggtggaaaacgacgagat
[0362] gccagcagatctgccatcactcgctgccgactttgtggaatccaaagatgtctgcaagaattacgcag
[0363] aggctaaagacgtgttccctggggatgtttctgtatgagtacgcccggcgtcaccccgattatagcgtcg
[0364] tgctcctgctccgactggcaaagacctacgaaacaactctggagaaatgttgcgctgccgcagaccc
[0365] tcatgaatgttatgctaaggtgttcgatgagtttaagccactcgctgaagagccccagaacctgattaaa
[0366] cagaattgcgaactgttcgagcagctcggtgaatacaagtttcagaacgccctgctcgctgcgttatacc
[0367] aaaaaggtccctcaggtgtctacaccaactctgggtggaggtcagtaggaatctgggcaaagtgggat
[0368] caaagtgttgcaaacaccccgaggcaaagagaatgccttgtgctgaagattacctctccgtcgtgctg
[0369] aaccagctctgcgtgctgcatgaaaagaccccgatcagcgatcggggtgacaaaatgttgaccgaat
[0370] ctctgggtcaatcgccgacctgtttcagtgccctcgaagtggacgaaacttatgtgcctaaggagtttca
[0371] ggctgaaacattcacctttcacgccgatatctgcactctgtccgagaaagaaaggcagattaagaaac
[0372] agacagcactggctcgagctcgtaagcataaaccaaaggctaccaaggagcagctgaaagccgtc
[0373] atggacgatttcgcagcttttgtggaaaagtgttgcaaagccgacgataaggagacttgtttcgcagaa
[0374] gaggggaaaaagctcgtggctgccagccaggcagctctgggtctggccgcagctctgcaggtgca
[0375] gctcgtccagagcggcgctgaggtgaagaagccaggcgagtcctgaagatctcctgtaagggctc
[0376] cggctacagcttcacctcctactggatcgcttgggtgaggcagatgccaggaaagggactggagtac
[0377] atgggcctgatctaccttggcgactccgacaccaagtactccccatccttccaggggccaggtgaccat
[0378] cagcgtggacaagtccgtgtctaccgcctacctgcaatggctcctccctgaagccttctgactctgccgt
[0379] gtacttttgtgcccggcacgatgtgggctactgcaccgaccggacatgtgccaagtggccccgagtgg
[0380] ctgggagtggtggggacagggaaacactgggtgacagtgagtctctggcggtggcggtcttccggcggt
[0381] ggctctgggtggcgggcgatctcagagcgtgctgacacagccacctagcgtgtccgctgccccctggc
[0382] cagaaggtgacaatcagctgctccggcagctcttccaacatcggaacaactacgtgtcttgggtatca
[0383] gcagctgcccgggaacagctccaaaactgctgatctatgaccacaccaatcggcctgccggcgctgcc
[0384] agatcggttctctggctctaagagcggcacctccgccagcctggctatctctggcttcagatctgagga
[0385] tgaggctgactactattgtgcctcctgggactacacctgtctggctgggtgttcggcggtggcaccaa
[0386] gctgacagtcctgggatgatgactcgagctctagaggggcccgtttaaacccgctgatcagcctcgactg
[0387] tgccttctagttgccagccatctgttgtttgccccctccccctgccttcccttgaccttggaaggtgccact
[0388] cccactgtcctttcctaataaaaatgaggaaattgcatcgcatgtctgagtaggtgtcattctattctgggg
[0389] ggtgggggtggggcaggacagcaagggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggat
[0390] gcggtgggctctatggcttctgagggcgaaagaaccagctggggctctaggggggtatccccacgcg
[0391] ccctgtagcggcgcatataagcgcgggcggtgtgggtgggttacgcgcagcgtgaccgctacacttgcc
[0392] agcgccctagcgcccgtcctttcgcttttctcccttcccttctcgccacgttcgcccgttttccccgtca
[0393] agctctaaatcggggggtccctttagggttccgatttagtgctttacggcacctcgaccccaaaaaacttg
[0394] attagggtgatggttcacgtacctagaagttcctattccgaagtccctattctctagaaagtataggaactt
[0395] ccttgccaaaaagcctgaactcacgcgacgtctgtcgagaagtttctgatcgaaaagttcgacagc
[0396] gtctccgacctgatgcagctctcgaggggcgaagaatctcgctgctttcagcttcgatgtaggagggcg
[0397] tggatatgtcctgcgggtaaatagctgcgccgatggtttctacaaagatcgttatgtttatcggcactttg
[0398] catcgcccgctcctcgattccggaagtgccttgacattgggggaattcagcgagagcctgacctattgc

[0399] atctcccgcggtgcacaggggtgtcacgttgcaagacctgcctgaaaccgaactgcccgtgttctgca
[0400] gccggtgcgaggagccatggatgcgatcgctgcggccgatcttagccagacgagcgggttcggcc
[0401] cattcgaccgcaaggaatcggtcaatacactacatggcgtgatttcatatgcgcgattgctgatcccc
[0402] atgtgtatcactggcaaacgtgtgatggacgacaccgtcagtgcgctccgtcgcgcaggctctcgatgag
[0403] ctgatgctttgggcccaggactgccccgaagtccggcacctcgtgcacgcggatttcggctccaaca
[0404] atgtcctgacggacaatggccgcataacagcggtcattgactggagcggaggcgatgttcggggattc
[0405] ccaatacagggtcgccaacatcttcttctggaggccgtgggttggttggtatggagcagcagacgcgt
[0406] acttcgagcggaggcatccggagcttgaggatcgccgcggctccgggctatatgtccgcattg
[0407] gtcttgaccaactctatcagagcttgggtgacggcaatttcgatgatgcagcttgggcgagggtcgat
[0408] gcgacgcaatcgctccgatccggagccgggactgtcgggctacacaaatcgcccgagaagcgc
[0409] ggccgtctggaccgatggctgtgtagaagtactcgccgatagtggaaaccgacgccccagcactcg
[0410] tccgagggcaaaggaatagcacgtactacgagatttcgattccaccgcccttctatgaaaggttg
[0411] gcttcggaatcgttttccgggacgcggctggatgatcctccagcgcggggatctcatgctggagttc
[0412] ttcccccacccaacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcac
[0413] aaataaagcatttttttactgcattctagtgtgtgttggttggtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctgtat
[0414] accgtcgacctctagctagagcttggcgtaatcatggctcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgc
[0415] tcacaattccacacaacatacagaccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgcctaattgagtgag
[0416] ctaactcacattaattgcgttgcgctcactgccccgtttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcat
[0417] taatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttccgcttcctcgctcac
[0418] tgactcgctgcgctcggtcggttcggctgcggcgagcggatcagctcactcaaaggcggtaatacgg
[0419] ttatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaaggccagcaaaaaggccag
[0420] gaaccgtaaaaaggccgcgttgctggcggtttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaa
[0421] aatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaaccgcagaggactataaagataaccaggcgtttccccctg
[0422] gaagctccctcgctgcgctctcctgttccgacctgcccgttacccgataacctgtccgcctttctcccttc
[0423] gggaagcgtggcgcttttctcatagctcacgctgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaa
[0424] gctgggctgtgtgcacgaaccccccggttcagcccgaccgctgcgccttatccggtaactatcgcttg
[0425] agtccaaccggtaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagag
[0426] cgaggtatgtaggcgggtgctacagagttcttgaagtgggtggcctaactacggctacactagaaggac
[0427] agtatttggatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagtggtagctcttgatccggc
[0428] aaacaaaccaccgctggtagcggtgggttttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaagg
[0429] atctcaagaagatcctttgatcttttctacggggtctgacgctcagtggaacgaaaactcacgttaaggg
[0430] attttggatcatgagattatcaaaaaggatcttcacntagatccttttaattaaaaatgaagttttaaatcaat
[0431] ctaaagtatatatgagtaaaacttggctgacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcg
[0432] atctgtctatttcggtcatccatagttgcctgactccccgtcgtgtagataactacgatacgggagggtt
[0433] accatctggccccagtgctgcaatgataccgcgagaccacgctcaccggctccagatttatcagca
[0434] ataaaccagccagccggaagggccgagcgcagaagtggctcctgcaactttatccgcctccatccagt
[0435] ctattaattgttgcgggaagctagagtaagtagttcgccagttaatagtttgcgcaacgttgttgccatt
[0436] gctacaggcatcggtgtcacgctcgctgtttgggtatggcttcattcagctccgggttcccaacgatcaa
[0437] ggcgagttacatgatcccccatgttgtgcaaaaaagcggttagctccttcgggtcctccgatcgttgtca

[0438] gaagtaagttggccgcagtggttatcactcatggttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccaa
[0439] tccgtaagatgcttttctgtgactggtagtactcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgac
[0440] cgagttgctcttggccggcgtcaatacgggataataccgcgccacatagcagaactttaaaagtgtc
[0441] atcattggaaaacgttcttcggggcgaaaactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgtatg
[0442] aaccactcgtgcaccaactgatcttcagcatcttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaac
[0443] aggaaggcaaaatgccgcaaaaaagggaataagggcgacacggaaatgttgaatactcatactcttc
[0444] ctttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggatacatatttgaatgtatttagaaa
[0445] aataaacaataggggttccgcgcacatttccccgaaaagtccacctgacgtcgacggatcggga
[0446] gatctcccgatcccctatgggtgactctcagtacaatctgctctgatgccgcatagttaagccagtatct
[0447] gctccctgcttgtgtgttggaggctcgctgagtagtgccgcgagcaaaatttaagctacaacaaggcaag
[0448] gcttgaccgacaattgcatgaagaatctgcttaggggttaggcgttttgcgctgcttcgcgatgtacggg
[0449] ccagatatacgcgttgacattgattattgactagttattaatagtaataattacggggtcatttagttcatag
[0450] cccatataatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgctggctgaccgccaacgacc
[0451] cccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtca
[0452] atgggtggagtatttacggtaaacctgccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaaagtacgcc
[0453] ccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgctggcattatgccagtacatgaccttatgggacttt
[0454] cctacttggcagtacatctacgtattagtcacgctattaccatgggtgatgcggttttggcagtacatcaat
[0455] gggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagctctccacccattgacgtcaatgggagtttg
[0456] ttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgttaacaactccgccccattgacgcaaatgggc
[0457] ggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagctctctggctaactagagaacccactgctta
[0458] ctggcttatcgaaattaatacgaactcactataggagacccaagcttctagaattcgctgtctgcgagg
[0459] gccagctgttgggggtgagtactccctctcaaaagcgggcatgacttctgcgctaagattgtcagtttcc
[0460] aaaaacgaggaggatttgatattcacctggcccgcggtgatgcctttgagggtggccgctccatctg
[0461] gtcagaaaagacaatcttttgttgtcaagcttgagggtgtggcaggcttgagatctggccatacacttga
[0462] gtgacaatgacatccactttgcctttctctccacaggtgtccactcccagggtccaactgcagatatccag
[0463] cacagtggcggcgccaccatgggctggctctctgatccctgctgttccctgggtggccgtggccacgcgt
[0464] gtgctgtcccagggtgcagctgcaggagcttgccggcgaggactgggtgaagcctggcggctccctgcgg
[0465] ctgtcctgcgcgcctccggcttcaccttctcctcctactggatgtcctgggtgcggcaggccccctggc
[0466] aagggcctggagtgggtggccaacatcaaccgggacggctccgcctcctactacgtggactccgtg
[0467] aagggcgggttcaccatctcccgggacgacgccaagaactccctgtacctgcagatgaactccctgc
[0468] gggccgaggacaccgccgtgtactactgcgccagggacggggcggtgggctacttcgacctgtgg
[0469] ggcaggggcaccctgggtgacctgtcctccgctagtagtggcgggcggaggatctggcgaggagg
[0470] gageggggggcggtggatcccagtcgcgcctgaccagcctgcctccgtgtccggctccccctggcca
[0471] gtccatcaccatcagctgcaccggcacctcctccgacgtggggcggtacaaacttcgtgtcctgggtatc
[0472] agcagcaccccggaaggccccctaagctgatgatctacgacgtgtccgaccggccttcggcggtgt
[0473] ccgacaggttctccggctccaagtcgggaacaccgcctccctgatcatcagcggcctgcaggcag
[0474] acgacgaggcgactactactgtcctcctacggctcctcctccaccacgtgatctttggcggcgga
[0475] acaaaggtgacctgtctgggcgcgcctccgacgctcacaagagcgaagtggcacataggttcaa
[0476] agatctgggcgaagagaactttaaggccctcgtcctgatcgctttcgcacagtacctccagcagctctcc

[0477] ctttgaagatcacgtgaaactgggtcaatgaggtgaccgaatttgccaagacatgcgtggctgatgaga
[0478] gtgcagaaaactgtgacaaatcactgcatactctcttttgagataagctgtgcaccgtcggcactca
[0479] gagagacttatggggaaatggctgactgtttgcgcaaacaggagcctgaacggaatgagtgtttcct
[0480] ccagcacaaggatgacaacccaaatctgccccgcctcgtgcgacctgaggtcgatgtgatgtgcacc
[0481] gcctttcatgacaacgaagagacattcctgaagaaatacctgtatgaaattgctcgtaggcaccatac
[0482] ttttatgccccgagctcctgtttctttgcaaagagatacaaagctgccttactgaatgttgccaggcag
[0483] ctgataaggcgcgatgtctcctgcctaaactggacgagctccgggatgaaggtaaggcttccagcgc
[0484] caaacagcgcctgaagtgcgttctctccagaagtttggcgagcgagcattcaaagcctgggctgtg
[0485] gcccgctctcagtcagaggtttccaaaggcagaatttgcctgaggtctcaaaactggtgaccgacctcac
[0486] aaaggtccatactgagtgttgccacggagatctgctggaat
[0487] SEQ ID NO :67
[0488] QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGK
[0489] GLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGGVTISVDKSVSTAYLQWSSLK
[0490] PSDSAVYFCARADVGCTDRTCAKAPAWLGVWGQGT LVT VSS
[0491] GGGGSSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIG
[0492] NNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASL
[0493] AISGFRSEDEADYYCASWDYTL SGWVFGGGTKLTVLGAASDAH
[0494] KSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVT
[0495] EFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC
[0496] CAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEET
[0497] FLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTGCCQAADKAAC
[0498] LLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLS
[0499] QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI
[0500] CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADF
[0501] VESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKT
[0502] YETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFE
[0503] QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCK
[0504] HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLV
[0505] NRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIKKQT
[0506] ALVELVKHKPKATKEQLKAVMDFAAFVEKCKADDKETCF AE
[0507] EGKKLVAAASQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKG
[0508] SGYSFTSYWIAWVRQMPGK GLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGG
[0509] VTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGCTDRTCAK
[0510] WPEWLGVWGQGT LVT VSSGGGSSGGGSGGGGSQSVLTQPPS
[0511] VSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHT
[0512] NRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCASWDYTLS
[0513] GWVFGGGTKLTVLG
[0514] SEQ ID NO :68
[0515] QVQLQESGGGLVKPGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPG

[0516] KGLEWVANINRDGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNS
 [0517] LRAEDTAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLTVTVSSASTGGGGSGG
 [0518] GGGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSW
 [0519] YQQHPGKAPKLMYDVS DRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQA
 [0520] DDEADYYCSSYSSSTHVIFGGGKVTVLGAASDAHKSEVAHR
 [0521] FKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCV
 [0522] ADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPE
 [0523] RNECFLQHKDDNPNLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLY
 [0524] EIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDE
 [0525] LRDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEF
 [0526] AEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSIS
 [0527] SKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVC
 [0528] KNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEK
 [0529] CCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKF
 [0530] QNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRM
 [0531] PCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSA
 [0532] LEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKH
 [0533] KPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAA
 [0534] SQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSY
 [0535] WIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGGQVTISVDKS
 [0536] VSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARADVG YCTDRTCAKAPAWLGV
 [0537] WGQGTLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQK
 [0538] VTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDR
 [0539] FSGSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCASWDYTL SGWVFGGGT
 [0540] KLTVLG
 [0541] B2B3-1 (H3-mHSA-B1D2)
 [0542] 1 QVQLQESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMS WVRQA PGKGLEWVA N
 [0543] 51 INRDGSASY VDSVKG RFTI SRDDAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR DR
 [0544] 101 GVGYFDL WGR GTLTVTVSSAS TGGGGSGGGG SGGGGGSQSAL TQPASVSGSP
 [0545] 151 GQSITISC TG TSSDVGGYNF VS WYQQHPGK APKLMYDVS DRPS GVSDRF
 [0546] 201 SGSKSGNTAS LIISGLQADD EADYYC SSYG SSSTHVI FGG GTKVTVLGAA
 [0547] 251 SDAHKSEVAH RFKDLGEENF KALVLI AFAQ YLQQSPFEDH V KLVNEVTEF
 [0548] 301 AKTCVADESA ENCDKSLHTL FGD KLCTVAT LRETYGEMAD CCAKQEPERN
 [0549] 351 ECFLQHKDDN PNLRLVRPE VDMCTAFHD NEETFLKKYL YEIARRHPYF
 [0550] 401 YAPELLFFAK RYKAAFTECC QAADKAAACLL PKLDEL RDEG KASSAKQRLK
 [0551] 451 CASLQKFGER AFKAWAVARL SQRFPKAEFA EVSKLVTDLT KVHTECCHGD
 [0552] 501 LLECADDRAD LAKYICENQD SISKLECC EKPLLEKSHC IAEVENDEMP
 [0553] 551 ADLPSLAADF VESKDVC KNY AEAKDVFLGM FLYEYARRHP DYSVVL LRL
 [0554] 601 AKTYETTLEK CCAAADPHEC YAKVFDEFKP LVEEPQNLIK QNCELFEQLG

- [0555] 651 EYKFQNALLV RYTKKVPQVS TPTLVEVSRN LGKVGSKCCK HPEAKRMPCA
- [0556] 701 EDYLSVVLNQ LCVLHEKTPV SDRVTKCCTE SLVNRRPCFS ALEVDETYVP
- [0557] 751 KEFQAETFTF HADICTLSEK ERQIKKQTAL VELVKHKPKA TKEQLKAVMD
- [0558] 801 DFAAFVEKCC KADDKETCFA EEGKKLVAAS QAALGI AAAL QVQLVQS GAE
- [0559] 851 VKKPGESLKI SCKGSGYSFT SYWIA WVRQM PGKGLEYMG L IYPGDSDTKY
- [0560] 901 SPSFQG QVTI SVDKSVSTAY LQWSSLKPSD SAVYFCAR HD VGYCTDRTCA
- [0561] 951 KWPEWLGV WG QGTLTVVSSG GGSSGGGSG GGGSQSVLTQ PPSVSAAPGQ
- [0562] 1001 KVTISC SGSS SNIGNNYVS W YQQLPGTAPK LLIY DHTNRP A GVPDRFSGS
- [0563] 1051 KSGTSASLAI SGFRSEDEAD YYC ASWDYTL SGWV FGGGTK LTVLG
- [0564] 在 H3 (加下划线的 1-248, 具有黑体倾斜的 CDR) 和 B1D2 (加下划线的 841-1095, 具有黑体倾斜的 CDR) 中突出 CDR 环。以点状下划线示出修饰 HSA 的连接物。
- [0565] 包含 B2B3 和 mHSA 的各种 HAS 接头结合物的序列对比
- | | | | |
|--------|-----------------|----------------------------------|----------------------------|
| [0566] | | 1 | 45 |
| [0567] | A5-mHSA-ML3.9 | (1) QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLS | CAASGFSFNTYDMNWVRQAPGKGL |
| [0568] | A5-mHSA-B1D2 | (1) QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLS | CAASGFSFNTYDMNWVRQAPGKGL |
| [0569] | A5-mHSA-F5B6H2 | (1) QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLS | CAASGFSFNTYDMNWVRQAPGKGL |
| [0570] | B12-mHSA-B1D2 | (1) QVQLVQSGGGLVQPGSLRLS | CAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGL |
| [0571] | B12-mHSA-F5B6H2 | (1) QVQLVQSGGGLVQPGSLRLS | CAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGL |
| [0572] | F4-mHSA-B1D2 | (1) QVQLQESGGGLVKPGGSLRLS | CAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL |
| [0573] | F4-mHSA-F5B6H2 | (1) QVQLQESGGGLVKPGGSLRLS | CAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL |
| [0574] | H3-mHSA-B1D2 | (1) QVQLQESGGGLVKPGGSLRLS | CAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGL |
| [0575] | H3-mHSA-F5B6H2 | (1) QVQLQESGGGLVKPGGSLRLS | CAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGL |
| [0576] | | 46 | 90 |
| [0577] | A5-mHSA-ML3.9 | (46) EWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISR | DNAKNSLYLQMNSLRAED |
| [0578] | A5-mHSA-B1D2 | (46) EWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISR | DNAKNSLYLQMNSLRAED |
| [0579] | A5-mHSA-F5B6H2 | (46) EWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISR | DNAKNSLYLQMNSLRAED |
| [0580] | B12-mHSA-B1D2 | (46) EWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISR | DNAKNSLYLQMNSLRPED |
| [0581] | B12-mHSA-F5B6H2 | (46) EWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISR | DNAKNSLYLQMNSLRPED |
| [0582] | F4-mHSA-B1D2 | (46) EWVSTISGSGGSTYYADSVKGRFTISR | DNSKNTLYLQMNSLRAED |
| [0583] | F4-mHSA-F5B6H2 | (46) EWVSTISGSGGSTYYADSVKGRFTISR | DNSKNTLYLQMNSLRAED |
| [0584] | H3-mHSA-B1D2 | (46) EWVANINRDGSASYVDSVKGRFTISR | DDAKNSLYLQMNSLRAED |
| [0585] | H3-mHSA-F5B6H2 | (46) EWVANINRDGSASYVDSVKGRFTISR | DDAKNSLYLQMNSLRAED |
| [0586] | | 91 | 135 |
| [0587] | A5-mHSA-ML3.9 | (91) TAVYYCARDG---VATTPFDYWGQG | TLTVTS---SGGGGSGGGGS |
| [0588] | A5-mHSA-B1D2 | (91) TAVYYCARDG---VATTPFDYWGQG | TLTVTS---SGGGGSGGGGS |
| [0589] | A5-mHSA-F5B6H2 | (91) TAVYYCARDG---VATTPFDYWGQG | TLTVTS---SGGGGSGGGGS |
| [0590] | B12-mHSA-B1D2 | (91) TAVYYCARDLGAKQWLEGF | DYWGQGLTVTVSSASTGGGGSGGGGS |
| [0591] | B12-mHSA-F5B6H2 | (91) TAVYYCARDLGAKQWLEGF | DYWGQGLTVTVSSASTGGGGSGGGGS |
| [0592] | F4-mHSA-B1D2 | (91) TAVYYCAKGYSSSWSEVASGYWGQ | GLTVTVSSASTGGGGSGGGGS |

[0593]	F4-mHSA-F5B6H2	(91) TAVYYCAKGYSSSWSEVASGYWQGTLTVTVSSASTGGGGSGGGGS
[0594]	H3-mHSA-B1D2	(91) TAVYYCARDR----GVGYFDLWGRGTLTVTVSSASTGGGGSGGGGS
[0595]	H3-mHSA-F5B6H2	(91) TAVYYCARDR----GVGYFDLWGRGTLTVTVSSASTGGGGSGGGGS
[0596]		136 180
[0597]	A5-mHSA-ML3.9	(130) GGGGSQSVLTQPPS-VSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQ
[0598]	A5-mHSA-B1D2	(130) GGGGSQSVLTQPPS-VSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQ
[0599]	A5-mHSA-F5B6H2	(130) GGGGSQSVLTQPPS-VSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQ
[0600]	B12-mHSA-B1D2	(136) GGGGSSELTQDPA-VSVALGQTVRITCQGDSLRS---YYASWYQ
[0601]	B12-mHSA-F5B6H2	(136) GGGGSSELTQDPA-VSVALGQTVRITCQGDSLRS---YYASWYQ
[0602]	F4-mHSA-B1D2	(136) GGGGSAIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIR---NDLGWYQ
[0603]	F4-mHSA-F5B6H2	(136) GGGGSAIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIR---NDLGWYQ
[0604]	H3-mHSA-B1D2	(132) GGGGSQSALTQPAS-VSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQ
[0605]	H3-mHSA-F5B6H2	(132) GGGGSQSALTQPAS-VSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQ
[0606]		181 225
[0607]	A5-mHSA-ML3.9	(174) QLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED
[0608]	A5-mHSA-B1D2	(174) QLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED
[0609]	A5-mHSA-F5B6H2	(174) QLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAED
[0610]	B12-mHSA-B1D2	(177) QKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAED
[0611]	B12-mHSA-F5B6H2	(177) QKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAED
[0612]	F4-mHSA-B1D2	(178) QKAGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPDD
[0613]	F4-mHSA-F5B6H2	(178) QKAGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPDD
[0614]	H3-mHSA-B1D2	(176) QHPGKAPKLMIYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADD
[0615]	H3-mHSA-F5B6H2	(176) QHPGKAPKLMIYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADD
[0616]		226 270
[0617]	A5-mHSA-ML3.9	(219) EADYYCQSYDSS-LSALFGGGTKLTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD
[0618]	A5-mHSA-B1D2	(219) EADYYCQSYDSS-LSALFGGGTKLTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD
[0619]	A5-mHSA-F5B6H2	(219) EADYYCQSYDSS-LSALFGGGTKLTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD
[0620]	B12-mHSA-B1D2	(222) EADYYCNSRDSSGNHWVFGGGTKVTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD
[0621]	B12-mHSA-F5B6H2	(222) EADYYCNSRDSSGNHWVFGGGTKVTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD
[0622]	F4-mHSA-B1D2	(223) FATYFCQQAHSF--PPTFGGGTKVEIKRGAASDAHKSEVAHRFKD
[0623]	F4-mHSA-F5B6H2	(223) FATYFCQQAHSF--PPTFGGGTKVEIKRGAASDAHKSEVAHRFKD
[0624]	H3-mHSA-B1D2	(221) EADYYCSSYSSSTHVIFGGGTKVTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD
[0625]	H3-mHSA-F5B6H2	(221) EADYYCSSYSSSTHVIFGGGTKVTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD
[0626]		271 315
[0627]	A5-mHSA-ML3.9	(262) LGEENFKALVLIIFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES
[0628]	A5-mHSA-B1D2	(262) LGEENFKALVLIIFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES
[0629]	A5-mHSA-F5B6H2	(262) LGEENFKALVLIIFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES
[0630]	B12-mHSA-B1D2	(266) LGEENFKALVLIIFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES
[0631]	B12-mHSA-F5B6H2	(266) LGEENFKALVLIIFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES

[0632]	F4-mHSA-B1D2	(266) LGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADES
[0633]	F4-mHSA-F5B6H2	(266) LGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADES
[0634]	H3-mHSA-B1D2	(265) LGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADES
[0635]	H3-mHSA-F5B6H2	(265) LGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADES
[0636]		316 360
[0637]	A5-mHSA-ML3. 9	(307) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0638]	A5-mHSA-B1D2	(307) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0639]	A5-mHSA-F5B6H2	(307) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0640]	B12-mHSA-B1D2	(311) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0641]	B12-mHSA-F5B6H2	(311) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0642]	F4-mHSA-B1D2	(311) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0643]	F4-mHSA-F5B6H2	(311) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0644]	H3-mHSA-B1D2	(310) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0645]	H3-mHSA-F5B6H2	(310) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
[0646]		361 405
[0647]	A5-mHSA-ML3. 9	(352) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0648]	A5-mHSA-B1D2	(352) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0649]	A5-mHSA-F5B6H2	(352) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0650]	B12-mHSA-B1D2	(356) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0651]	B12-mHSA-F5B6H2	(356) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0652]	F4-mHSA-B1D2	(356) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0653]	F4-mHSA-F5B6H2	(356) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0654]	H3-mHSA-B1D2	(355) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0655]	H3-mHSA-F5B6H2	(355) QHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPY
[0656]		406 450
[0657]	A5-mHSA-ML3. 9	(397) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0658]	A5-mHSA-B1D2	(397) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0659]	A5-mHSA-F5B6H2	(397) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0660]	B12-mHSA-B1D2	(401) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0661]	B12-mHSA-F5B6H2	(401) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0662]	F4-mHSA-B1D2	(401) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0663]	F4-mHSA-F5B6H2	(401) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0664]	H3-mHSA-B1D2	(400) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0665]	H3-mHSA-F5B6H2	(400) FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASS
[0666]		451 495
[0667]	A5-mHSA-ML3. 9	(442) AKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
[0668]	A5-mHSA-B1D2	(442) AKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
[0669]	A5-mHSA-F5B6H2	(442) AKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
[0670]	B12-mHSA-B1D2	(446) AKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL

[0671]	B12-mHSA-F5B6H2	(446) AKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
[0672]	F4-mHSA-B1D2	(446) AKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
[0673]	F4-mHSA-F5B6H2	(446) AKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
[0674]	H3-mHSA-B1D2	(445) AKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
[0675]	H3-mHSA-F5B6H2	(445) AKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
[0676]		496 540
[0677]	A5-mHSA-ML3.9	(487) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0678]	A5-mHSA-B1D2	(487) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0679]	A5-mHSA-F5B6H2	(487) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0680]	B12-mHSA-B1D2	(491) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0681]	B12-mHSA-F5B6H2	(491) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0682]	F4-mHSA-B1D2	(491) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0683]	F4-mHSA-F5B6H2	(491) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0684]	H3-mHSA-B1D2	(490) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0685]	H3-mHSA-F5B6H2	(490) TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL
[0686]		541 585
[0687]	A5-mHSA-ML3.9	(532) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0688]	A5-mHSA-B1D2	(532) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0689]	A5-mHSA-F5B6H2	(532) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0690]	B12-mHSA-B1D2	(536) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0691]	B12-mHSA-F5B6H2	(536) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0692]	F4-mHSA-B1D2	(536) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0693]	F4-mHSA-F5B6H2	(536) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0694]	H3-mHSA-B1D2	(535) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0695]	H3-mHSA-F5B6H2	(535) LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
[0696]		586 630
[0697]	A5-mHSA-ML3.9	(577) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0698]	A5-mHSA-B1D2	(577) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0699]	A5-mHSA-F5B6H2	(577) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0700]	B12-mHSA-B1D2	(581) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0701]	B12-mHSA-F5B6H2	(581) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0702]	F4-mHSA-B1D2	(581) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0703]	F4-mHSA-F5B6H2	(581) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0704]	H3-mHSA-B1D2	(580) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0705]	H3-mHSA-F5B6H2	(580) MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV
[0706]		631 675
[0707]	A5-mHSA-ML3.9	(622) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
[0708]	A5-mHSA-B1D2	(622) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
[0709]	A5-mHSA-F5B6H2	(622) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV

[0710]	B12-mHSA-B1D2	(626) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
[0711]	B12-mHSA-F5B6H2	(626) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
[0712]	F4-mHSA-B1D2	(626) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
[0713]	F4-mHSA-F5B6H2	(626) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
[0714]	H3-mHSA-B1D2	(625) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
[0715]	H3-mHSA-F5B6H2	(625) FDEFKPLVEEPQNLIKQNCSELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
[0716]		676 720
[0717]	A5-mHSA-ML3.9	(667) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0718]	A5-mHSA-B1D2	(667) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0719]	A5-mHSA-F5B6H2	(667) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0720]	B12-mHSA-B1D2	(671) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0721]	B12-mHSA-F5B6H2	(671) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0722]	F4-mHSA-B1D2	(671) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0723]	F4-mHSA-F5B6H2	(671) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0724]	H3-mHSA-B1D2	(670) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0725]	H3-mHSA-F5B6H2	(670) STPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL
[0726]		721 765
[0727]	A5-mHSA-ML3.9	(712) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0728]	A5-mHSA-B1D2	(712) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0729]	A5-mHSA-F5B6H2	(712) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0730]	B12-mHSA-B1D2	(716) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0731]	B12-mHSA-F5B6H2	(716) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0732]	F4-mHSA-B1D2	(716) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0733]	F4-mHSA-F5B6H2	(716) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0734]	H3-mHSA-B1D2	(715) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0735]	H3-mHSA-F5B6H2	(715) HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT
[0736]		766 810
[0737]	A5-mHSA-ML3.9	(757) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0738]	A5-mHSA-B1D2	(757) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0739]	A5-mHSA-F5B6H2	(757) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0740]	B12-mHSA-B1D2	(761) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0741]	B12-mHSA-F5B6H2	(761) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0742]	F4-mHSA-B1D2	(761) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0743]	F4-mHSA-F5B6H2	(761) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0744]	H3-mHSA-B1D2	(760) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0745]	H3-mHSA-F5B6H2	(760) FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA
[0746]		811 855
[0747]	A5-mHSA-ML3.9	(802) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGA
[0748]	A5-mHSA-B1D2	(802) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGA

[0749]	A5-mHSA-F5B6H2	(802) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVESGG
[0750]	B12-mHSA-B1D2	(806) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGA
[0751]	B12-mHSA-F5B6H2	(806) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVESGG
[0752]	F4-mHSA-B1D2	(806) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGA
[0753]	F4-mHSA-F5B6H2	(806) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVESGG
[0754]	H3-mHSA-B1D2	(805) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGA
[0755]	H3-mHSA-F5B6H2	(805) FVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVESGG
[0756]		856 900
[0757]	A5-mHSA-ML3.9	(847) EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPG
[0758]	A5-mHSA-B1D2	(847) EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPG
[0759]	A5-mHSA-F5B6H2	(847) GLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGR
[0760]	B12-mHSA-B1D2	(851) EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPG
[0761]	B12-mHSA-F5B6H2	(851) GLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGR
[0762]	F4-mHSA-B1D2	(851) EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPG
[0763]	F4-mHSA-F5B6H2	(851) GLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGR
[0764]	H3-mHSA-B1D2	(850) EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPG
[0765]	H3-mHSA-F5B6H2	(850) GLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGR
[0766]		901 945
[0767]	A5-mHSA-ML3.9	(892) DSDTKYSPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH
[0768]	A5-mHSA-B1D2	(892) DSDTKYSPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH
[0769]	A5-mHSA-F5B6H2	(892) GDNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM
[0770]	B12-mHSA-B1D2	(896) DSDTKYSPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH
[0771]	B12-mHSA-F5B6H2	(896) GDNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM
[0772]	F4-mHSA-B1D2	(896) DSDTKYSPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH
[0773]	F4-mHSA-F5B6H2	(896) GDNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM
[0774]	H3-mHSA-B1D2	(895) DSDTKYSPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH
[0775]	H3-mHSA-F5B6H2	(895) GDNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM
[0776]		946 990
[0777]	A5-mHSA-ML3.9	(937) DVGYC SSSNCAKWPEYFQHWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0778]	A5-mHSA-B1D2	(937) DVGYCTDRTCAKWPEWLG VWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0779]	A5-mHSA-F5B6H2	(937) TSNAV G-----FDYWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0780]	B12-mHSA-B1D2	(941) DVGYCTDRTCAKWPEWLG VWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0781]	B12-mHSA-F5B6H2	(941) TSNAV G-----FDYWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0782]	F4-mHSA-B1D2	(941) DVGYCTDRTCAKWPEWLG VWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0783]	F4-mHSA-F5B6H2	(941) TS-----NAVGF DYWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0784]	H3-mHSA-B1D2	(940) DVGYCTDRTCAKWPEWLG VWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0785]	H3-mHSA-F5B6H2	(940) TSNAV G-----FDYWGQGLTVTVSSGGGGSSGGGSGGGGS
[0786]		991 1035
[0787]	A5-mHSA-ML3.9	(982) QSVLTQPPSVSAAPGQKV TISCSGSSSNIGNNY-VSWYQQLPGTA

[0788]	A5-mHSA-B1D2	(982) QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNY-VSWYQQLPGTA
[0789]	A5-mHSA-F5B6H2	(972)
[0790]	QSVLTQPPSVSGAPGQRV	TISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTA
[0791]	B12-mHSA-B1D2	(986) QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNY-VSWYQQLPGTA
[0792]	B12-mHSA-F5B6H2	(976)
[0793]	QSVLTQPPSVSGAPGQRV	TISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTA
[0794]	F4-mHSA-B1D2	(986) QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNY-VSWYQQLPGTA
[0795]	F4-mHSA-F5B6H2	(976)
[0796]	QSVLTQPPSVSGAPGQRV	TISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTA
[0797]	H3-mHSA-B1D2	(985) QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNY-VSWYQQLPGTA
[0798]	H3-mHSA-F5B6H2	(975)
[0799]	QSVLTQPPSVSGAPGQRV	TISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTA
[0800]		1036 1080
[0801]	A5-mHSA-ML3.9	(1026) PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYC
[0802]	A5-mHSA-B1D2	(1026) PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYC
[0803]	A5-mHSA-F5B6H2	(1017) PKLLIYGNTNRPSGVPDRFSGFKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC
[0804]	B12-mHSA-B1D2	(1030) PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYC
[0805]	B12-mHSA-F5B6H2	(1021) PKLLIYGNTNRPSGVPDRFSGFKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC
[0806]	F4-mHSA-B1D2	(1030) PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYC
[0807]	F4-mHSA-F5B6H2	(1021) PKLLIYGNTNRPSGVPDRFSGFKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC
[0808]	H3-mHSA-B1D2	(1029) PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYC
[0809]	H3-mHSA-F5B6H2	(1020) PKLLIYGNTNRPSGVPDRFSGFKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC
[0810]		1081 1104
[0811]	A5-mHSA-ML3.9	(1071) ASWDYTLSGWVFEGGKLTVLG--
[0812]	A5-mHSA-B1D2	(1071) ASWDYTLSGWVFEGGKLTVLG--
[0813]	A5-mHSA-F5B6H2	(1062) QSYDRRTPGWVFEGGKLTVLG--
[0814]	B12-mHSA-B1D2	(1075) ASWDYTLSGWVFEGGKLTVLG--
[0815]	附录 2	
[0816]	抗癌剂	
[0817]		

用于联合 B2B3-1 的抗癌剂	商标名称	制造商/所有者
抗 IGF1R 抗体 AMG 479 (完全人源化 mAb) IMCA12 (完全人源化 mAb) NSC-742460 19D12 (完全人源化 mAb) CP751-871 (完全人源化 mAb) H7C10 (人源化 mAb) α IR3 (小鼠) scFV/FC (小鼠/人嵌合体) EM/164 (小鼠) MK-0646, F50035		Amgen ImClone Dyax Pfizer Pierre Fabre Medicament, Merck
靶向 IGF1R 的小分子 NVP-AEW541 BMS-536,924 (1H-苯并咪唑-2-基)-1H-吡啶-2-酮) BMS-554,417 环木聚糖 (Cycloligan) TAE226 PQ401		Novartis Bristol-Myers Squibb Bristol-Myers Squibb
抗 EGFR 单克隆抗体 INCB7839 贝伐单抗 西妥昔单抗 mAb 806 马妥珠单抗 (EMD72000) 尼妥珠单抗 (Nimotuzumab) (TheraCIM) 帕尼单抗 (Panitumumab)	Avastin® Erbitux® Vectibix®	Incyte Genentech IMCLONE Amgen

[0818]

抗 ErbB3 疗法		
U3-1287/AMG888		U3 Pharma/Amgen
MM-121		Merrimack Pharmaceuticals
抗 ErbB2 疗法		
曲妥珠单抗	赫赛汀®	Genentech
HKI-272- neratinib		Wyeth
KOS-953- tanespimycin		Kosan Biosciences
Her/ErbB 二聚作用抑制剂		
2C4, R1273-Pertuzumab	Omintarg	Genentech, Roche
靶向 EGFR 的小分子		
CI-1033 (PD 183805)		Pzifer, Inc.
EKB-569		
Gefitinib	IRESSA™	AstraZeneca
拉帕替尼 (Lapatinib)		GlaxoSmithKline
(GW572016)		
拉帕替尼二甲苯磺酸 (Lapatinib Ditosylate)	Tykerb®	SmithKline Beecham
Erlotinib HCl (OSI-774)	Tarceva®	OSI Pharms
PD158780		
PKI-166		Novartis
Tyrphostin AG 1478 (4-(3-氯苯胺 基)-6,7-二甲氧基喹唑啉) ((4-(3-Chloroanillino)-6,7-dimeth oxyquinazoline))		
抗 cmet 抗体疗法		
AVEO (AV299)		AVEO
AMG102		Amgen
5D5 (OA-5D5)		Genentech
靶向 cmet 的小分子		
PHA665752		
ARQ-650RP		ArQule
ARQ 197		ArQule

[0819]

烷化剂		
BCNU → 1,3-二(2-氯乙基)-亚硝基脲		
苯达莫司汀		
白消安	Myleran	GlaxoSmithKline
卡铂	Paraplatin	Bristol-Myers Squibb
卡波醌		
卡莫司汀		
CCNU → 1,3-二(2-氯乙基)-5-环己基-1-亚硝基脲 (甲基 CCNU)		
苯丁酸氮芥	Leukeran®	Smithkline Beecham
氮芥		
顺铂 (Cisplatinum, CDDP)	Platinol	Bristol-Myers
	Cytosan	Bristol-Myers Squibb
环磷酰胺	Neosar	Teva Parenteral
达卡巴嗪 (DTIC)		
福莫司汀		
六甲蜜胺 (HMM)	Hexalen®	MGI Pharma, Inc.
异环磷酰胺	Mitoxana®	ASTA Medica
洛莫司汀		
Mannosulfan		
美法仑	Alkeran®	GlaxoSmithKline
奈达铂		
尼莫司汀		
奥沙利铂	Eloxatin®	Sanofi-Aventis US
泼尼莫司汀,		
盐酸丙卡巴肼	Matulane	Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.
核苷酸还原酶 抑制剂 (RNR)		
雷莫司汀		
沙铂		
司莫司汀		
链佐星		

[0820]

替莫唑胺 曲奥舒凡 三亚胺醌 曲他胺 塞替派 Triplatin tetranitrate 曲磷胺 乌拉莫司汀		Bedford, Abraxis, Teva
抗代谢物		
5-氮杂胞苷 氟尿嘧啶 (5-FU) / 卡培他滨 6-巯基嘌呤 (巯嘌呤, 6-MP) 6-硫鸟嘌呤 (6-TG) 阿糖胞苷 (Ara-C) 硫唑嘌呤 卡培他滨 克拉屈滨 (2-CdA, 2-氯脱氧腺苷) 5-三氟甲基-2'-脱氧尿苷 磷酸氟达拉滨 氟尿苷 (5-氟-2) 甲氧蝶呤钠 培美曲塞 喷司他丁 雷替曲塞 替加氟	Purinethol® Thioguanine® Azasan® XELODA® Leustatin® Fludara® FUDR® Trexall Alimta® Nipent® Tomudex®	Teva GlaxoSmithKline AAIPHARMA LLC HLR (Roche) Ortho Biotech Bayer Health Care Hospira, Inc. Barr Lilly Hospira, Inc. AstraZeneca
芳香酶抑制剂 (Aromatase Inhibitor)		
酮康唑		
糖皮质激素类固醇		
地塞米松	Decadron® Dexasone, Diodex, Hexadrol, Maxidex	Wyeth, Inc.

[0821]

泼尼松龙 泼尼松	Deltasone, Orasone, Liquid Pred, Sterapred®	
免疫疗法 α 干扰素 血管生成抑制剂 IL-12 → 白细胞介素 12 IL-2 → 白细胞介素 2 (阿地白介素)	Avastin® Proleukin®	Genentech Chiron
激酶抑制剂 AMG 386 Axitinib (AG-013736) Bosutinib (SKI-606) Brivanib alalinate (BMS-582664) Cediranib (AZD2171) Dasatinib (BMS-354825) 甲磺酸伊马替尼 Lestaurtinib (CEP-701) Motesanib diposphate (AMG-706) Nilotinib hydrochloride monohydrate Pazopanib HCL (GW786034) Semaxanib (SU5416) Sorafenib tosylate Sunitinib malate Vandetanib (AZD647) Vatalanib; PTK-787 XL184, NSC718781	Recentin Sprycel® Gleevec Tasigna® Armala Nexavar® Sutent® Zactima	Amgen Pfizer, Inc Wyeth BMS AstraZeneca Bristol-Myers Squibb Novartis Cephalon Amgen/Takeda Novartis GSK Pharmacia, Bayer Pfizer, Inc. AstraZeneca Novartis; Bayer Schering Pharma Exelixis, GSK
微管靶向剂 秋水仙碱 多西他赛	Taxotere®	Sanofi-Aventis US

[0822]

Ixabepilone	IXEMPRA™	Bristol-Myers Squibb
Larotaxel		Sanofi-aventis
Ortaxel		Spectrum Pharmaceuticals
纳米颗粒紫杉醇 (ABI-007)	Abraxane®	Abraxis BioScience, Inc.
紫杉醇	Taxol®	Bristol-Myers Squibb
Tesetaxel		Genta
硫酸长春碱	Velban®	Lilly
长春新碱	Oncovin®	Lilly
硫酸长春地辛	Eldisine®	Lilly
长春氟宁		Pierre Fabre
酒石酸长春瑞滨	Navelbine®	Pierre Fabre
<u>mTOR 抑制剂</u>		
Deforolimus (AP23573, MK 8669)		ARIAD Pharmaceuticals, Inc
依维莫司 (RAD001, RAD001C)	Certican®, Afinitor	Novartis
西罗莫司 (Rapamycin)	Rapamune®	Wyeth Pharama
Temsirolimus (CCI-779)	Torisel®	Wyeth Pharama
<u>蛋白合成抑制剂</u>		
L-天冬酰氨酶	Elspar®	Merck & Co.
<u>生长抑素类似物</u>		
醋酸奥曲肽	Sandostatin®	Novartis
<u>拓扑异构酶抑制剂</u>		
放线菌素 D		
喜树碱 (CPT)		
Belotecan		
柠檬酸柔红霉素	Daunoxome®	Gilead
盐酸多柔比星	Doxil®	Alza
依托泊苷	Vepesid®	Bristol-Myers Squibb

[0823]

盐酸依立替康 (CPT-11)	Etopophos	Hospira, Bedford,
盐酸米托蒽醌	Camptosar®	Teva Parenteral, Etc.
卢比替康	Novantrone	Pharmacia & Upjohn
替尼泊苷 (VM-26)	Vumon®	EMD Serono
盐酸拓扑替康	Hycamtin®	Bristol-Myers Squibb
		GlaxoSmithKline

[0824]

化疗药物		
多柔比星、5-氟尿嘧啶、Cytosin、博来霉素、丝裂霉素 C、道诺霉素、去甲柔红霉素、氨蝶呤、放线霉素 D、丝裂霉素、Esperamicins Clofarabine、疏嘌呤、喷司他丁、硫鸟嘌呤、阿糖胞苷、地西他滨、氟尿苷、吉西他滨(健择)、依诺他滨、Sapacitabine		
激素疗法		
阿巴瑞克	Plenaxis™	Amgen
醋酸阿比特龙	CB7630	BTG plc
Afimoxifene	TamoGel	Ascend Therapeutics, Inc.
阿那曲唑 (Anastrozole)	Arimidex®	AstraZeneca
芳香酶抑制剂	阿他美坦加托瑞米芬	Intarcia Therapeutics, Inc.
	阿佐昔芬	Eli Lilly & Co.
Asentar; DN-101		Novartis; Oregon Health & Science Univ.
比卡鲁胺	Casodex®	AstraZeneca
布舍瑞林	Suprefact®	Sanofi Aventis
西曲瑞克	Cetrotide®	EMD Serono
依西美坦	Aromasin®	Pfizer

[0825]

依西美坦	Xtane	Natco Pharma, Ltd.
法倔唑 (CGS 16949A)		
氟他胺	Eulexin®	Schering
氟他胺	Prostacur	Laboratorios Almirall, S.A.
氟维司群	Faslodex®	AstraZeneca
醋酸戈舍瑞林	Zoladex®	AstraZeneca
来曲唑	Femara®	Novartis
来曲唑 (CGS20267)	Femara	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.
来曲唑	Estrochek	Jagsonpal Pharmaceuticals, Ltd.
来曲唑	来曲唑	Indchemie Health Specialities
乙酸亮丙立德	Eligard®	Sanofi Aventis
乙酸亮丙立德	Leopril	VHB Life Sciences, Inc.
乙酸亮丙立德	Lupron®/Lupron Depot	TAP Pharma
乙酸亮丙立德	Viador	Bayer AG
醋酸甲地孕酮	Megace®	Bristol-Myers Squibb
Magestrol acetate	Estradiol Valerate (Delestrogen)	Jagsonpal Pharmaceuticals, Ltd.
醋酸甲羟孕酮	Veraplex	Combiphar
MT206		Medisyn Technologies, Inc.
那法瑞林		
癸酸诺龙	Zestabolin	Mankind Pharma, Ltd.
尼鲁米特	Nilandron®	Aventis Pharmaceuticals
盐酸雷洛昔芬	Evista®	Lilly
他莫昔芬	Taxifen	Yung Shin Pharmaceutical
他莫昔芬	Tomifen	Alkem Laboratories, Ltd.
枸橼酸他莫昔芬	Nolvadex	AstraZeneca

[0826]

枸橼酸他莫昔芬	Soltamox	EUSA Pharma, Inc.
枸橼酸他莫昔芬	枸橼酸他莫昔芬 SOPHARMA	Sopharma JSCo.
枸橼酸托瑞米芬	Fareston®	GTX, Inc.
扑姆酸曲普瑞林	Trelstar®	Watson Labs
扑姆酸曲普瑞林	Trelstar Depot	Paladin Labs, Inc.
蛋白激酶 B (PKB) 抑制剂		
Akt 抑制剂 ASTEX		Astex Therapeutics
Akt 抑制剂 NERVIANO		Nerviano Medical Sciences
AKT 激酶抑制剂 TELIK		Telik, Inc.
AKT DECIPHERA		Deciphera Pharmaceuticals, LLC
哌立福辛 (KRX0401, D-21266)		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
连同多西他赛的哌立福辛		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
连同吉西他滨的哌立福辛		AEterna Zentaris, Inc.
连同紫杉醇的哌立福辛		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
蛋白激酶 B 抑制剂 DEVELOGEN		DeveloGen AG
PX316		Oncothyreon, Inc.
RX0183		Rexahn Pharmaceuticals, Inc.
RX0201		Rexahn Pharmaceuticals, Inc.
VQD002		VioQuest Pharmaceuticals, Inc.
XL418		Exelixis, Inc.

[0827]	ZEN027		AEterna Zentaris, Inc.
	磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 抑制剂		
	BEZ235		Novartis AG
	BGT226		Novartis AG
	CAL101		Calistoga Pharmaceuticals, Inc.
	CHR4432		Chroma Therapeutics, Ltd.
	Erk/PI3K 抑制剂 ETERNA		AEterna Zentaris, Inc.
	GDC0941		Genentech Inc./Piramed Limited/Roche Holdings, Ltd.
	Enzastaurin HCL (LY317615)	Enzastaurin	Eli Lilly
	LY294002/渥曼青霉素		
	PI3K 抑制剂 SEMAFORE		Semafore Pharmaceuticals
	PX866		Oncothyreon, Inc.
	SF1126		Semafore Pharmaceuticals
	VMD-8000		VM Discovery, Inc.
	XL147		Exelixis, Inc.
	连同 XL647 的 XL147		Exelixis, Inc.
	XL765		Exelixis, Inc.
	PI-103		Roche/Piramed
	细胞周期蛋白依赖型激酶抑制剂		
	CYC200, r-roscovitine	Seliciclib	Cyclacel Pharma
	NSC-649890, L86-8275, HMR-1275	Alvocidib	NCI
	TLR9, CD289		
	IMOxine		Merck KGaA
	HYB2055		Idera

[0828]

IMO-2055 1018 ISS PF-3512676		Isis Pharma Dynavax Technologies/UCSF Pfizer
酶抑制剂		
Lonafarnib (SCH66336)	Sarasar	SuperGen, U Arizona
抗 TRAIL		
AMG-655 Apo2L/TRAIL, AMG951 Apomab (完全人源化 mAb)		Aeterna Zentaris, Keryx Biopharma Genentech, Amgen Genentech

[0829]

联合 B2B3-1 的抗癌剂	靶	制造商/所有者
其它		
Imprime PGG	氨肽酶 M1	Biothera
CHR-2797	整联蛋白- α 2	Chroma Therapeutics
E7820, NSC 719239	ADAM 17,	Eisai
INCB007839	TACE	Incyte
CNF2024, BIIB021	Hsp90	Biogen Idec
MP470, HPK-56	Kit/Met/Ret	Shering-Plough
SNDX-275/MS-275	HDAC	Syndax
Zarnestra, Tipifarnib, R115777	Ras	Janssen Pharma Biogen Idec; Eli
Volociximab; Eos 200-4, M200	α 581 整联蛋白	Lilly/UCSF/PDL BioPharma
Apricoxib (TP2001)	COX-2 抑制剂	Daiichi Sankyo; Tragara Pharma

[0830] 其它实施方式

[0831] 虽然在具体实施方式中描述了本发明,但应当明了,它能够进一步改进并且本申请用来涵盖本发明的任何变化、应用、或改进,其一般遵循本发明的原则并且包括与本发明披露内容不同的差异,其属于本发明相关领域中的已知的或通常的作法并且适用于上文陈述的基本特点。

[0832] 本说明书中提及的所有专利和专利申请以引用方式结合于本文,相当于每个指出的独立的专利或专利申请专门并特别地通过引用以其全文结合于本文。

[0001]

P44012_序列表_20110713

序列表

<110> 梅里麦克制药股份有限公司 (Merrimack Pharmaceuticals, Inc. et al.)

<120> 人血清白蛋白接头以及其结合物

<130> P44012CAE

<150> 61/115,797

<151> 2008-11-18

<150> PCT/US09/040259

<151> 2009-04-10

<160> 58

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic construct

<400> 1

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

[0002]

P44012_序列表_20110713

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

[0003]

P44012_序列表_20110713

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 2
<211> 1755
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic construct

<400> 2
gacgtcaca agagcgaagt ggcacatagg ttcaaagatc tgggcgaaga gaactttaag 60
gccctcgtcc tgatcgcttt cgcacagtac ctccagcagt ctccctttga agatcacgtg 120
aaactgggtca atgaggtgac cgaatttgcc aagacatgcg tggtgatga gagtgcagaa 180
aactgtgaca aatcactgca tactctcttt ggagataagc tgtgcaccgt cgccacactc 240
agagagacatt atggggaaat ggctgactgt tgcgcaaaac aggagcctga acggaatgag 300
tgtttcctcc agcacaagga tgacaacca aatctgcccc gcctcgtgag acctgaggtc 360
gatgtgatgt gcaccgcctt tcatgacaac gaagagacat tcttgaagaa atacctgtat 420
gaaattgtct gtaggcaccc atacttttat gccccgagc tctgtttctt tgcaaagaga 480
tacaaagctg ccttcactga atgttgccag gcagctgata aggccgcatg tctcctgcct 540
aaactggacg agctccggga tgaagtaag gcttcacgag ccaaacacgg cctgaagtgc 600
gcttctctcc agaagtttgg cgagcgagca ttcaaagcct gggtgtggc cgtctcagt 660
cagaggttcc caaaggcaga atttgetgag gtctcaaaac tggtagccga cctcacaaag 720
gtccatactg agtgttgcca cggagatctg ctggaatgtg ccgacgatag agcagacctc 780
gctaaatata tctgcgagaa tcaggattcc attagctcta agctgaaaga atgttgcgag 840
aagccctccc tggaaaagag tcattgtatc gccgaggtgg aaaacacga gatgccagca 900
gatctgcat cactcgtgc cgactttgtg gaatccaaag atgtctgcaa gaattacgca 960
gaggctaaag acgtgttctc ggggatgttt ctgtatgagt acgcccggcg tcaccccgat 1020
tatagcgtcg tgctcctget ccgactggca aagacctacg aaacaactct ggagaaatgt 1080
tgcgtgcgag cagacctca tgaatgttat gctaaggtgt tcgatgagtt taagccactc 1140
gtcgaagagc ccagaaacct gattaacag aattgcgaac tgttcgagca gctcggtgaa 1200

[0004]

P44012_序列表_20110713

tacaagtttc agaacgccct gctcgtgcgt tataccaaaa aggtccctca ggtgtctaca	1260
ccaactctgg tggaggtcag taggaatctg ggcaaagtgg gatcaaagtg ttgcaaacac	1320
cccgaggcaa agagaatgcc ttgtgctgaa gattacctct ccgtcgtgct gaaccagctc	1380
tgcgtgctgc atgaaaagac ccagtcagc gatcgggtga caaatgttg caccgaatct	1440
ctggtaacat gccgacctg ttacagtgc ctcgaagtgg acgaaactta tgtgcctaag	1500
gagtttcagg ctgaacatt cacctttcac gccgatatct gcactctgtc cgagaaagaa	1560
aggcagatta agaaacagac agcactggtc gagctcgtga agcataaacc aaaggctacc	1620
aaggagcagc tgaaagccgt catggacgat ttgcagctt ttgtggaaaa gtgttgcaaa	1680
gccgacgata aggagacttg ttgcagaa gaggggaaaa agctcgtggc tgccagccag	1740
gcagctctgg gtctg	1755

<210> 3
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 3

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

[0005]

P44012_序列表_20110713

```

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
  195                200                205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
  210                215                220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
  225                230                235                240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                250                255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
                260                265                270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
                275                280                285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
                290                295                300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
  305                310                315                320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                330                335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
                340                345                350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
                355                360                365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
                370                375                380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
  385                390                395                400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                410                415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
                420                425                430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
                435                440                445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
                450                455                460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
  465                470                475                480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
                485                490                495

```

[0006]

P44012_序列表_20110713

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 4
<211> 1755
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 4
gagtcacaca agagtgaggt tgctcctcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60
gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta 120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttga aaaacatgtg tagctgatga gtcagctgaa 180
aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa 300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gatgggtgag accagagggt 360
gagtgtatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaataa atacttatat 420
gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgcataaagg 480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagetgctg cctgttgcca 540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaaatgt 600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtggc tcgcctgagc 660
cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720
gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780
gccaagtata tctgtgaaaa tcaggattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840
aaacctctgt tggaataatc ccactgcatt gccgaagtgg aaatgatga gatgcctgct 900
gaattgcctt cattagetgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960
gaggcaagg atgtcttctt gggeatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat 1020
tactctgtcg tgctgtgtcg gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080
tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140
gtggaagagc ctcagaattt aatcaacaa aactgtgagc tttttaagca gcttggagag 1200
tacaaattcc agaattcgct attagttcgt tacaccaaga aagtacccca agtgtaact 1260
ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctt ggaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaaacat 1320

[0007]

P44012_序列表_20110713

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggcctt gaaccagtta 1380
tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtea caaaatgctg cacagagtcc 1440
tttgtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg atgaaacata cgttcccaaa 1500
gagtttaatg ctgaaacatt cacccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560
agacaaatca agaaacaaac tgcacttggt gagcttggtga aacacaagcc caaggcaaca 1620
aaagagcaac tgaaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680
gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740
gctgccttag gctta 1755

<210> 5
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 5

Ala Ala Ala Leu
1

<210> 6
<211> 588
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 6

Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu

[0008]

P44012_序列表_20110713															
130				135				140							
Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe
145					150					155					160
Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp
				165					170					175	
Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly
			180					185					190		
Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys
		195					200					205			
Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln
210						215					220				
Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp
225					230					235					240
Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys
				245					250					255	
Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp
			260					265					270		
Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu
		275					280					285			
Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp
	290					295					300				
Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys
305					310					315					320
Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu
			325						330					335	
Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu
			340					345					350		
Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp
		355					360					365			
Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val
		370				375					380				
Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln
385					390					395					400
Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys
				405					410					415	
Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn
			420					425					430		

[0009]

P44012_序列表_20110713

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 7
<211> 588
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 7

Ala Ala Gln Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn

[0010]

P44012_序列表_20110713															
100					105					110					
Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr
		115					120					125			
Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu
	130					135					140				
Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe
145					150					155					160
Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp
				165					170					175	
Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly
			180					185					190		
Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys
		195					200					205			
Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln
	210					215					220				
Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp
225					230					235					240
Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys
				245					250					255	
Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp
			260					265					270		
Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu
		275					280					285			
Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp
	290					295					300				
Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys
305					310					315					320
Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu
				325					330					335	
Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu
				340				345					350		
Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp
				355			360					365			
Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val
						375					380				
Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln
385					390					395					400

[0011]

P44012_序列表_20110713

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 8
<211> 589
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 8

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

[0012]

P44012_序列表_20110713															
65						70						75			80
Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro
				85					90					95	
Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu
			100					105					110		
Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His
		115					120					125			
Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg
		130				135					140				
Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg
145					150					155					160
Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala
				165					170					175	
Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser
			180					185					190		
Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu
		195					200					205			
Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro
		210				215					220				
Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
225					230					235					240
Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp
				245					250					255	
Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
			260					265					270		
Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His
		275					280					285			
Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser
		290				295					300				
Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala
305					310					315					320
Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg
				325					330					335	
Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
			340					345					350		
Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
		355					360					365			

[0013]

P44012_序列表_20110713

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585

<210> 9
<211> 592
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 9

Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu

[0014]

P44012_序列表_20110713															
35					40					45					
Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn
50						55					60				
Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val
65					70					75					80
Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys
				85					90					95	
Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn
			100					105					110		
Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr
		115					120					125			
Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu
	130						135					140			
Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe
145					150					155					160
Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp
				165					170					175	
Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly
			180						185				190		
Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys
		195					200					205			
Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln
	210					215						220			
Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp
225					230					235					240
Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys
				245					250					255	
Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp
			260					265					270		
Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu
		275					280					285			
Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp
	290					295					300				
Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys
305					310					315					320
Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu
				325					330					335	

[0015]

P44012_序列表_20110713

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585 590

<210> 10
<211> 592
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 10

Ala Ala Gln Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp

[0016]

P44012_序列表_20110713															
1	5				10				15						
Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln
			20					25					30		
Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu
		35					40					45			
Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn
	50					55					60				
Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val
65					70					75					80
Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys
			85						90					95	
Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn
			100						105					110	
Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr
		115					120					125			
Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu
	130						135					140			
Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe
145					150					155					160
Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp
				165					170					175	
Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly
			180					185					190		
Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys
		195					200					205			
Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln
	210					215						220			
Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp
225					230					235					240
Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys
				245					250					255	
Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp
			260						265					270	
Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu
		275					280						285		
Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp
						295						300			

[0017]

P44012_序列表_20110713

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585 590

<210> 11
<211> 588
<212> PRT

[0018]

P44012_序列表_20110713

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 11

Ala	Ala	Ser	Asp	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp
1				5					10					15	

Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln
		20						25					30		

Tyr	Leu	Gln	Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu
		35					40					45			

Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn
	50					55					60				

Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val
65					70					75					80

Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys
			85						90					95	

Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn
			100						105					110	

Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr
		115					120					125			

Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu
	130					135					140				

Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe
145					150					155					160

Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp
			165						170						175

Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly
			180					185					190		

Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys
		195					200					205			

Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln
	210					215					220				

Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp
225					230					235					240

Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys
				245					250					255	

Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp
			260					265					270		

[0019]

P44012_序列表_20110713

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
 275 280 285

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
 290 295 300

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
 305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
 325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
 340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
 355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
 370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
 385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
 405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
 420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
 435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
 450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
 465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
 485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
 500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
 515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
 530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
 545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
 565 570 575

[0020]

P44012_序列表_20110713

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 12
<211> 588
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 12

Ala Ala Gln Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
165 170 175

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

[0021]

P44012_序列表_20110713

Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	245	250	255	
Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	260	265	270	
Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	275	280	285	
Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	290	295	300	
Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	305	310	315	320
Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	325	330	335	
Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	340	345	350	
Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	355	360	365	
Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	370	375	380	
Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	385	390	395	400
Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	405	410	415	
Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	420	425	430	
Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	435	440	445	
Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	450	455	460	
Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	465	470	475	480
Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	485	490	495	
Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	500	505	510	
His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	515	520	525	
Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	530	535	540	

[0022]

P44012_序列表_20110713

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 13
<211> 589
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 13

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

[0023]

P44012_序列表_20110713

Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	210	215	220
Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	225	230	235
Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	245	250	255
Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	260	265	270
Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	275	280	285
Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	290	295	300
Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	305	310	315
Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	325	330	335
Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	340	345	350
Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	355	360	365
Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	370	375	380
Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	385	390	395
Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	405	410	415
Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	420	425	430
Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	435	440	445
Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	450	455	460
Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	465	470	475
Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	485	490	495
Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	500	505	510

[0024]

P44012_序列表_20110713

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585

<210> 14
<211> 592
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 14

Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
165 170 175

[0025]

P44012_序列表_20110713

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
260 265 270

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
275 280 285

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
290 295 300

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

[0026]

P44012_序列表_20110713

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585 590

<210> 15
<211> 592
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthethic Construct

<400> 15

Ala Ala Gln Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

[0027]

P44012_序列表_20110713

Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	145	150	155	160
Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	165	170	175	
Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	180	185	190	
Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	195	200	205	
Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	210	215	220	
Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	225	230	235	240
Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	245	250	255	
Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	260	265	270	
Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	275	280	285	
Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	290	295	300	
Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	305	310	315	320
Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	325	330	335	
Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	340	345	350	
Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	355	360	365	
Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	370	375	380	
Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	385	390	395	400
Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	405	410	415	
Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	420	425	430	
Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	435	440	445	

[0028]

P44012_序列表_20110713

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
 450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
 465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
 485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
 500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
 515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
 530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
 545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
 565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
 580 585 590

<210> 16
 <211> 1095
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 16

Gln Val Gln Leu Gln 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 Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Asn Ile Asn Arg Asp Gly Ser Ala Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser 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 Arg Gly Val Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
 100 105 110

[0029]

P44012_序列表_20110713

Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	115	120	125	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	130	135	140	
Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln	Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	145	150	155	160
Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Tyr	Asn	Phe	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	165	170	175	
His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Ser	Asp	Arg	180	185	190	
Pro	Ser	Gly	Val	Ser	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	195	200	205	
Ala	Ser	Leu	Ile	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	210	215	220	
Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Gly	Ser	Ser	Ser	Thr	His	Val	Ile	Phe	Gly	Gly	225	230	235	240
Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Ala	Ala	Ser	Asp	Ala	His	Lys	Ser	245	250	255	
Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	260	265	270	
Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Pro	Phe	Glu	275	280	285	
Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	290	295	300	
Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	305	310	315	320
Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	325	330	335	
Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	340	345	350	
Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	355	360	365	
Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	370	375	380	
Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	385	390	395	400
Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	405	410	415	

[0030]

P44012_序列表_20110713

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
420 425 430

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
435 440 445

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
450 455 460

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
465 470 475 480

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
485 490 495

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
500 505 510

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
515 520 525

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val
530 535 540

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
545 550 555 560

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
565 570 575

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
580 585 590

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
595 600 605

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
610 615 620

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
625 630 635 640

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
645 650 655

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
660 665 670

Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys
675 680 685

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
690 695 700

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
705 710 715 720

[0031]

P44012_序列表_20110713

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
 725 730 735

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
 740 745 750

Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
 755 760 765

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
 770 775 780

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
 785 790 795 800

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
 805 810 815

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
 820 825 830

Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
 835 840 845

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly
 850 855 860

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met
 865 870 875 880

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser
 885 890 895

Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val
 900 905 910

Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro
 915 920 925

Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys
 930 935 940

Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly
 945 950 955 960

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 965 970 975

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro
 980 985 990

Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly
 995 1000 1005

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln

[0032]

P44012_序列表_20110713														
1010						1015						1020		
Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	His	Thr	Asn
1025						1030						1035		
Arg	Pro	Ala	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly
1040						1045						1050		
Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Phe	Arg	Ser	Glu	Asp	Glu
1055						1060						1065		
Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ser	Trp	Asp	Tyr	Thr	Leu	Ser	Gly	Trp
1070						1075						1080		
Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly			
1085						1090						1095		
<210> 17														
<211> 1092														
<212> PRT														
<213> Artificial Sequence														
<220>														
<223> Synthetic Construct														
<400> 17														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly
1			5						10				15	Gly
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Asn	Thr
			20					25					30	Tyr
Asp	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
		35				40						45		Val
Ser	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser
	50					55					60			Val
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu
65					70					75				80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
			85						90					95
Ala	Arg	Asp	Gly	Val	Ala	Thr	Thr	Pro	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110	Gly
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
		115					120					125		
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser
	130					135						140		Val
Ser	Gly	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser
145					150					155				160
Ser	Asn	Ile	Gly	Ala	Gly	Tyr	Asp	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu
			165						170				175	Pro

[0033]

P44012_序列表_20110713

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
245 250 255

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
260 265 270

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
275 280 285

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
290 295 300

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
305 310 315 320

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
325 330 335

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
340 345 350

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
355 360 365

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
370 375 380

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
385 390 395 400

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
405 410 415

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
420 425 430

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
435 440 445

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
450 455 460

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser

[0034]

P44012_序列表_20110713															
465															
Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly
				485					490					495	
Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile
			500					505					510		
Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu
		515					520					525			
Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp
	530					535					540				
Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser
545					550				555					560	
Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
			565					570						575	
Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val
			580					585					590		
Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys
		595					600					605			
Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu
	610					615					620				
Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
625				630					635					640	
Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
			645						650					655	
Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
			660					665						670	
Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
		675					680					685			
Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
	690					695					700				
Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
705					710					715				720	
Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
			725						730					735	
Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Gln	Ala
			740					745					750		
Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
		755					760					765			

[0035]

P44012_序列表_20110713

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys	770	775	780
Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala	785	790	795
Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe	805	810	815
Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly	820	825	830
Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val	835	840	845
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr	850	855	860
Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys	865	870	875
Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Lys	885	890	895
Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser	900	905	910
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro Ser Asp Ser	915	920	925
Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys Thr Asp Arg	930	935	940
Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly Gln Gly Thr	945	950	955
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser	965	970	975
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser	980	985	990
Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser	995	1000	1005
Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly	1010	1015	1020
Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr Asn Arg Pro Ala	1025	1030	1035
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala	1040	1045	1050
Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr	1055	1060	1065

[0036]

P44012_序列表_20110713

Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly
1070 1075 1080

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090

<210> 18
<211> 1083
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 18

Gln Val Gln Leu Val Gln 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 Ser Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser
145 150 155 160

Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

[0037]

P44012_序列表_20110713

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

[0038]

P44012_序列表_20110713

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
 530 535 540

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
 565 570 575

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
 580 585 590

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
 595 600 605

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
 610 615 620

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
 625 630 635 640

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
 645 650 655

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
 660 665 670

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
 675 680 685

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
 690 695 700

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
 705 710 715 720

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
 725 730 735

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala
 740 745 750

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
 755 760 765

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
 770 775 780

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
 785 790 795 800

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
 805 810 815

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
 820 825 830

[0039]

P44012_序列表_20110713

Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
835 840 845

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
850 855 860

Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
865 870 875 880

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Asp Asn Thr Tyr
885 890 895

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
900 905 910

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
915 920 925

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala Val Gly Phe Asp
930 935 940

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
945 950 955 960

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr
965 970 975

Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser
980 985 990

Cys Thr Gly Arg His Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr Gly Val His Trp
995 1000 1005

Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly
1010 1015 1020

Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Phe
1025 1030 1035

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala
1040 1045 1050

Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Thr
1055 1060 1065

Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1070 1075 1080

<210> 19
<211> 1092
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 19

[0040]

P44012_序列表_20110713

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

[0041]

P44012_序列表_20110713

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
305 310 315 320

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
325 330 335

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
340 345 350

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
355 360 365

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
370 375 380

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
385 390 395 400

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
405 410 415

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
420 425 430

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
435 440 445

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
450 455 460

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
465 470 475 480

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
485 490 495

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
500 505 510

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
515 520 525

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
530 535 540

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
565 570 575

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
580 585 590

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys

[0042]

P44012_序列表_20110713

595	600	605
Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu		
610	615	620
Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys		
625	630	635
Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu		
645	650	655
Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val		
660	665	670
Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His		
675	680	685
Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val		
690	695	700
Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg		
705	710	715
Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe		
725	730	735
Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala		
740	745	750
Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu		
755	760	765
Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys		
770	775	780
Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala		
785	790	795
Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe		
805	810	815
Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly		
820	825	830
Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val		
835	840	845
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr		
850	855	860
Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys		
865	870	875
Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Lys		
885	890	895

[0043]

P44012_序列表_20110713

Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
900 905 910

Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro Ser Asp Ser
915 920 925

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys Ser Ser Ser
930 935 940

Asn Cys Ala Lys Trp Pro Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr
945 950 955 960

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser
965 970 975

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser
980 985 990

Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser
995 1000 1005

Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly
1010 1015 1020

Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr Asn Arg Pro Ala
1025 1030 1035

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala
1040 1045 1050

Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr
1055 1060 1065

Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly
1070 1075 1080

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090

<210> 20
<211> 1096
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 20

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

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

Ala 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

[0044]

50					55					P44012_序列表_20110713 60					
Lys 65	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile 70	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala 75	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr 80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser 85	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys
Ala	Arg	Asp	Leu 100	Gly	Ala	Lys	Gln	Trp 105	Leu	Glu	Gly	Phe	Asp 110	Tyr	Trp
Gly	Gln	Gly 115	Thr	Leu	Val	Thr	Val 120	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr 125	Gly	Gly	Gly
Gly	Ser 130	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 135	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 140	Ser	Tyr	Glu	Leu
Thr 145	Gln	Asp	Pro	Ala	Val 150	Ser	Val	Ala	Leu	Gly 155	Gln	Thr	Val	Arg	Ile 160
Thr	Cys	Gln	Gly	Asp 165	Ser	Leu	Arg	Ser	Tyr 170	Tyr	Ala	Ser	Trp	Tyr 175	Gln
Gln	Lys	Pro	Gly 180	Gln	Ala	Pro	Val	Leu 185	Val	Ile	Tyr	Gly	Lys 190	Asn	Asn
Arg	Pro	Ser 195	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg 200	Phe	Ser	Gly	Ser	Thr 205	Ser	Gly	Asn
Ser 210	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr 215	Gly	Ala	Gln	Ala	Glu 220	Asp	Glu	Ala	Asp
Tyr 225	Tyr	Cys	Asn	Ser	Arg 230	Asp	Ser	Ser	Gly	Asn 235	His	Trp	Val	Phe	Gly 240
Gly	Gly	Thr	Lys 245	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Ala 250	Ala	Ser	Asp	Ala	His 255	Lys
Ser	Glu	Val	Ala 260	His	Arg	Phe	Lys	Asp 265	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn 270	Phe	Lys
Ala	Leu 275	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala 280	Gln	Tyr	Leu	Gln	Gln 285	Ser	Pro	Phe
Glu 290	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val 295	Asn	Glu	Val	Thr	Glu 300	Phe	Ala	Lys	Thr
Cys 305	Val	Ala	Asp	Glu	Ser 310	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp 315	Lys	Ser	Leu	His	Thr 320
Leu	Phe	Gly	Asp	Lys 325	Leu	Cys	Thr	Val	Ala 330	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr 335	Tyr
Gly	Glu	Met	Ala 340	Asp	Cys	Cys	Ala 345	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg 350	Asn	Glu

[0045]

P44012_序列表_20110713

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
 355 360 365

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
 370 375 380

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
 385 390 395 400

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
 405 410 415

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
 420 425 430

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
 435 440 445

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
 450 455 460

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
 465 470 475 480

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
 485 490 495

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
 500 505 510

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
 515 520 525

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
 530 535 540

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
 545 550 555 560

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
 565 570 575

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
 580 585 590

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
 595 600 605

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
 610 615 620

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
 625 630 635 640

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
 645 650 655

[0046]

P44012_序列表_20110713

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
 660 665 670

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
 675 680 685

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
 690 695 700

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
 705 710 715 720

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
 725 730 735

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
 740 745 750

Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
 755 760 765

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
 770 775 780

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
 785 790 795 800

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
 805 810 815

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
 820 825 830

Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser
 835 840 845

Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys
 850 855 860

Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln
 865 870 875 880

Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp
 885 890 895

Ser Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser
 900 905 910

Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys
 915 920 925

Pro Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr
 930 935 940

Cys Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp
 945 950 955 960

[0047]

P44012_序列表_20110713

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
965 970 975

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro
980 985 990

Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser
995 1000 1005

Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln
1010 1015 1020

Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr
1025 1030 1035

Asn Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
1040 1045 1050

Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp
1055 1060 1065

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly
1070 1075 1080

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090 1095

<210> 21
<211> 1086
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 21

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

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

Ala 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 Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

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

[0048]

P44012_序列表_20110713

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
 130 135 140

Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile
 145 150 155 160

Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln
 165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn
 180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asn
 195 200 205

Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp
 210 215 220

Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Trp Val Phe Gly
 225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys
 245 250 255

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
 260 265 270

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
 275 280 285

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
 290 295 300

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
 305 310 315 320

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
 325 330 335

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
 340 345 350

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
 355 360 365

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
 370 375 380

Thr Phe Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
 385 390 395 400

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
 405 410 415

[0049]

P44012_序列表_20110713

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
420 425 430

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
435 440 445

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
450 455 460

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
465 470 475 480

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
485 490 495

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
500 505 510

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
515 520 525

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val
530 535 540

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
545 550 555 560

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
565 570 575

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
580 585 590

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
595 600 605

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
610 615 620

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
625 630 635 640

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
645 650 655

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
660 665 670

Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys
675 680 685

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
690 695 700

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val

[0050]

P44012_序列表_20110713

705	710	715	720
Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg	725	730	735
Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu	740	745	750
Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser	755	760	765
Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val	770	775	780
Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp	785	790	795
Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu	805	810	815
Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala	820	825	830
Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly	835	840	845
Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala	850	855	860
Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala	865	870	875
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Asp	885	890	895
Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg	900	905	910
Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala	915	920	925
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala Val	930	935	940
Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly	945	950	955
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gln Ser	965	970	975
Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val	980	985	990
Thr Ile Ser Cys Thr Gly Arg His Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr Gly	995	1000	1005

[0051]

P44012_序列表_20110713

Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
1010 1015 1020

Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
1025 1030 1035

Ser Gly Phe Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly
1040 1045 1050

Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp
1055 1060 1065

Arg Arg Thr Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
1070 1075 1080

Val Leu Gly
1085

<210> 22
<211> 1096
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 22

Gln Val Gln Leu Gln 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 Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Glu Val Ala Ser Gly Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Val Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr

[0052]

P44012_序列表_20110713															
165					170					175					
Gln	Gln	Lys	Ala	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser
			180					185					190		
Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val		Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
		195					200					205			
Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Asp	Phe	Ala
	210					215					220				
Thr	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Ala	His	Ser	Phe	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gly
225					230					235					240
Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Gly	Ala	Ala	Ser	Asp	Ala	His	Lys
				245					250					255	
Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Phe	Lys
			260					265					270		
Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser	Pro	Phe
		275					280					285			
Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr
	290					295					300				
Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr
305					310					315					320
Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr
				325					330					335	
Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu
			340					345					350		
Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val
		355					360					365			
Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu
	370					375					380				
Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr
385					390					395					400
Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala
				405					410					415	
Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro
			420					425					430		
Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln
		435					440					445			
Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys
	450					455					460				

[0053]

P44012_序列表_20110713

Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	465	470	475	480
Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	485	490	495	
Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	500	505	510	
Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	515	520	525	
Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	530	535	540	
Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	545	550	555	560
Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	565	570	575	
Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	580	585	590	
Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	595	600	605	
Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	610	615	620	
Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	625	630	635	640
Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	645	650	655	
Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	660	665	670	
Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	675	680	685	
Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	690	695	700	
Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	705	710	715	720
Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	725	730	735	
Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	740	745	750	
Glu	Phe	Gln	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	755	760	765	

[0054]

P44012_序列表_20110713

```

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
770                               775                               780

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
785                               790                               795                               800

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
805                               810                               815

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
820                               825                               830

Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser
835                               840                               845

Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys
850                               855                               860

Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln
865                               870                               875                               880

Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp
885                               890                               895

Ser Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser
900                               905                               910

Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys
915                               920                               925

Pro Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr
930                               935                               940

Cys Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp
945                               950                               955                               960

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
965                               970                               975

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro
980                               985                               990

Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser
995                               1000                               1005

Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln
1010                               1015                               1020

Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr
1025                               1030                               1035

Asn Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
1040                               1045                               1050

Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp
1055                               1060                               1065

```

[0055]

P44012_序列表_20110713

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly
1070 1075 1080

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090 1095

<210> 23
<211> 1087
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 23

Gln Val Gln Leu Gln 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 Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Glu Val Ala Ser Gly Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Val Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala
210 215 220

[0056]

P44012_序列表_20110713

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

[0057]

P44012_序列表_20110713

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
 530 535 540

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
 545 550 555 560

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
 565 570 575

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
 580 585 590

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
 595 600 605

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
 610 615 620

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
 625 630 635 640

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
 645 650 655

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
 660 665 670

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
 675 680 685

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
 690 695 700

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
 705 710 715 720

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
 725 730 735

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
 740 745 750

Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
 755 760 765

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
 770 775 780

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
 785 790 795 800

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
 805 810 815

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln

[0058]

P44012_序列表_20110713

820	825	830
Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Glu Ser		
835	840	845
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala		
850	855	860
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln		
865	870	875
880		
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly		
885	890	895
Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser		
900	905	910
Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg		
915	920	925
Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala		
930	935	940
Val Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
945	950	955
960		
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gln		
965	970	975
Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg		
980	985	990
Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Arg His Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr		
995	1000	1005
Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu		
1010	1015	1020
Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg		
1025	1030	1035
Phe Ser Gly Phe Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr		
1040	1045	1050
Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr		
1055	1060	1065
Asp Arg Arg Thr Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu		
1070	1075	1080
Thr Val Leu Gly		
1085		
<210>	24	
<211>	1095	
<212>	PRT	
<213>	Artificial Sequence	

[0059]

P44012_序列表_20110713

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 24

Gln Val Gln Leu Gln 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 Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Asn Ile Asn Arg Asp Gly Ser Ala Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser 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 Arg Gly Val Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala
130 135 140

Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly
145 150 155 160

Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asp Arg
180 185 190

Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr
195 200 205

Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Ser Tyr Gly Ser Ser Ser Thr His Val Ile Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser
245 250 255

Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala
260 265 270

Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu

[0060]

P44012_序列表_20110713															
275					280					285					
Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys
290						295					300				
Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu
305					310					315					320
Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly
				325					330					335	
Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys
			340					345					350		
Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg
		355					360					365			
Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr
	370					375					380				
Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe
385					390					395					400
Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe
				405					410					415	
Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys
			420					425					430		
Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg
	435						440					445			
Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala
	450					455					460				
Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala
465					470					475					480
Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys
				485					490					495	
Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala
			500					505					510		
Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu
		515					520					525			
Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val
	530					535					540				
Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe
545					550					555					560
Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val
				565					570					575	

[0061]

P44012_序列表_20110713

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
 580 585 590

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
 595 600 605

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
 610 615 620

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
 625 630 635 640

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
 645 650 655

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
 660 665 670

Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys
 675 680 685

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
 690 695 700

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
 705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
 725 730 735

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
 740 745 750

Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
 755 760 765

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
 770 775 780

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
 785 790 795 800

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
 805 810 815

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
 820 825 830

Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
 835 840 845

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly
 850 855 860

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met
 865 870 875 880

[0062]

P44012_序列表_20110713

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser
 885 890 895

Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val
 900 905 910

Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro
 915 920 925

Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys
 930 935 940

Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly
 945 950 955 960

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 965 970 975

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro
 980 985 990

Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly
 995 1000 1005

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln
 1010 1015 1020

Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr Asn
 1025 1030 1035

Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
 1040 1045 1050

Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp Glu
 1055 1060 1065

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly Trp
 1070 1075 1080

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 1085 1090 1095

<210> 25
 <211> 1086
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 25

Gln Val Gln Leu Gln 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 Ser Tyr
 20 25 30

[0063]

P44012_序列表_20110713

Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys
 340 345 350
 Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg
 355 360 365
 Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr
 370 375 380
 Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
 385 390 395 400
 Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
 405 410 415
 Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
 420 425 430
 Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
 435 440 445
 Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
 450 455 460
 Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
 465 470 475 480
 Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
 485 490 495
 Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
 500 505 510
 Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
 515 520 525
 Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val
 530 535 540
 Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
 545 550 555 560
 Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
 565 570 575
 Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
 580 585 590
 Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
 595 600 605
 Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
 610 615 620
 Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
 625 630 635 640

[0065]

P44012_序列表_20110713

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
 645 650 655

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
 660 665 670

Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys
 675 680 685

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
 690 695 700

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
 705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
 725 730 735

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
 740 745 750

Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
 755 760 765

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
 770 775 780

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
 785 790 795 800

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
 805 810 815

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
 820 825 830

Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 835 840 845

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
 850 855 860

Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
 865 870 875 880

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Asp
 885 890 895

Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 900 905 910

Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
 915 920 925

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala Val

[0066]

P44012_序列表_20110713

930	935	940
Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly		
945	950	955
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gln Ser		
965	970	975
Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val		
980	985	990
Thr Ile Ser Cys Thr Gly Arg His Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr Gly		
995	1000	1005
Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu		
1010	1015	1020
Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe		
1025	1030	1035
Ser Gly Phe Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly		
1040	1045	1050
Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp		
1055	1060	1065
Arg Arg Thr Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr		
1070	1075	1080
Val Leu Gly		
1085		
<210> 26		
<211> 248		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic construct		
<400> 26		
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
20	25	30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Asn Ile Asn Arg Asp Gly Ser Ala Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95

[0067]

P44012_序列表_20110713

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala
130 135 140

Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly
145 150 155 160

Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asp Arg
180 185 190

Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr
195 200 205

Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Ser Tyr Gly Ser Ser Ser Thr His Val Ile Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
245

<210> 27
<211> 255
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

[0068]

P44012_序列表_20110713

Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp
100 105 110

Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
145 150 155 160

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
165 170 175

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
180 185 190

Ile Tyr Asp His Thr Asn Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg
210 215 220

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu
225 230 235 240

Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
245 250 255

<210> 28
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 28

Gln Val Gln Leu Val Gln 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 Ser Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

[0069]

P44012_序列表_20110713

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser
145 150 155 160

Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly
245

<210> 29

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 29

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys Ser Ser Ser Asn Cys Ala Lys Trp

[0070]

P44012_序列表_20110713

100	105	110
Pro Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
115	120	125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
130	135	140
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln		
145	150	155
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn		
165	170	175
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu		
180	185	190
Ile Tyr Asp His Thr Asn Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser		
195	200	205
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg		
210	215	220
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu		
225	230	235
Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly		
245	250	255
<210> 30		
<211> 249		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic Construct		
<400> 30		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp 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 Asn Ser Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Asp Leu Gly Ala Lys Gln Trp Leu Glu Gly Phe Asp Tyr Trp		
100	105	110

[0071]

P44012_序列表_20110713

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
130 135 140

Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile
145 150 155 160

Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn
180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asn
195 200 205

Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp
210 215 220

Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Trp Val Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
245

<210> 31
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic construct

<400> 31

Gln Val Gln Leu Gln 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 Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Glu Val Ala Ser Gly Tyr Trp
100 105 110

[0072]

P44012_序列表_20110713

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Val Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ala His Ser Phe Pro Pro Thr Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly
245

<210> 32
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 32

Gln 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 Arg Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala Val Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

[0073]

P44012_序列表_20110713

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Arg His
145 150 155 160

Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Phe Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Thr Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Leu Thr Val Leu Gly
245

<210> 33
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Orthomyxoviridae

<400> 34

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 35
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 35

His His His His His His
1 5

<210> 36
<211> 277
<212> PRT

[0074]

P44012_序列表_20110713

<213> Homo sapiens

<400> 36

Met Glu Asn Thr Glu Asn Ser Val Asp Ser Lys Ser Ile Lys Asn Leu
1 5 10 15

Glu Pro Lys Ile Ile His Gly Ser Glu Ser Met Asp Ser Gly Met Ser
20 25 30

Trp Asp Thr Gly Tyr Lys Met Asp Tyr Pro Glu Met Gly Leu Cys Ile
35 40 45

Ile Ile Asn Asn Lys Asn Phe His Lys Ser Thr Gly Met Thr Ser Arg
50 55 60

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

Leu Lys Tyr Glu Val Arg Asn Lys Asn Asp Leu Thr Arg Glu Glu Ile
85 90 95

Val Glu Leu Met Arg Asp Val Ser Lys Glu Asp His Ser Lys Arg Ser
100 105 110

Ser Phe Val Cys Val Leu Leu Ser His Gly Glu Glu Gly Ile Ile Phe
115 120 125

Gly Thr Asn Gly Pro Val Asp Leu Lys Lys Ile Thr Asn Phe Phe Arg
130 135 140

Gly Asp Arg Cys Arg Ser Leu Thr Gly Lys Pro Lys Leu Phe Ile Ile
145 150 155 160

Gln Ala Cys Arg Gly Thr Glu Leu Asp Cys Gly Ile Glu Thr Asp Ser
165 170 175

Gly Val Asp Asp Asp Met Ala Cys His Lys Ile Pro Val Asp Ala Asp
180 185 190

Phe Leu Tyr Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Gly Tyr Tyr Ser Trp Arg Asn
195 200 205

Ser Lys Asp Gly Ser Trp Phe Ile Gln Ser Leu Cys Ala Met Leu Lys
210 215 220

Gln Tyr Ala Asp Lys Leu Glu Phe Met His Ile Leu Thr Arg Val Asn
225 230 235 240

Arg Lys Val Ala Thr Glu Phe Glu Ser Phe Ser Phe Asp Ala Thr Phe
245 250 255

His Ala Lys Lys Gln Ile Pro Cys Ile Val Ser Met Leu Thr Lys Glu
260 265 270

Leu Tyr Phe Tyr His
275

[0075]

P44012_序列表_20110713

<210> 37
<211> 479
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Met Asp Phe Ser Arg Asn Leu Tyr Asp Ile Gly Glu Gln Leu Asp Ser
1 5 10 15

Glu Asp Leu Ala Ser Leu Lys Phe Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Pro Gln
20 25 30

Arg Lys Gln Glu Pro Ile Lys Asp Ala Leu Met Leu Phe Gln Arg Leu
35 40 45

Gln Glu Lys Arg Met Leu Glu Glu Ser Asn Leu Ser Phe Leu Lys Glu
50 55 60

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

Thr Arg Lys Glu Glu Met Glu Arg Glu Leu Gln Thr Pro Gly Arg Ala
85 90 95

Gln Ile Ser Ala Tyr Arg Val Met Leu Tyr Gln Ile Ser Glu Glu Val
100 105 110

Ser Arg Ser Glu Leu Arg Ser Phe Lys Phe Leu Leu Gln Glu Glu Ile
115 120 125

Ser Lys Cys Lys Leu Asp Asp Asp Met Asn Leu Leu Asp Ile Phe Ile
130 135 140

Glu Met Glu Lys Arg Val Ile Leu Gly Glu Gly Lys Leu Asp Ile Leu
145 150 155 160

Lys Arg Val Cys Ala Gln Ile Asn Lys Ser Leu Leu Lys Ile Ile Asn
165 170 175

Asp Tyr Glu Glu Phe Ser Lys Glu Arg Ser Ser Ser Leu Glu Gly Ser
180 185 190

Pro Asp Glu Phe Ser Asn Gly Glu Glu Leu Cys Gly Val Met Thr Ile
195 200 205

Ser Asp Ser Pro Arg Glu Gln Asp Ser Glu Ser Gln Thr Leu Asp Lys
210 215 220

Val Tyr Gln Met Lys Ser Lys Pro Arg Gly Tyr Cys Leu Ile Ile Asn
225 230 235 240

Asn His Asn Phe Ala Lys Ala Arg Glu Lys Val Pro Lys Leu His Ser
245 250 255

Ile Arg Asp Arg Asn Gly Thr His Leu Asp Ala Gly Ala Leu Thr Thr
260 265 270

[0076]

P44012_序列表_20110713

Thr Phe Glu Glu Leu His Phe Glu Ile Lys Pro His Asp Asp Cys Thr
275 280 285

Val Glu Gln Ile Tyr Asp Ile Leu Lys Ile Tyr Gln Leu Met Asp His
290 295 300

Ser Asn Met Asp Cys Phe Ile Cys Cys Ile Leu Ser His Gly Asp Lys
305 310 315 320

Gly Ile Ile Tyr Gly Thr Asp Gly Gln Glu Pro Pro Ile Tyr Glu Leu
325 330 335

Thr Ser Gln Phe Thr Gly Leu Lys Cys Pro Ser Leu Ala Gly Lys Pro
340 345 350

Lys Val Phe Phe Ile Gln Ala Cys Gln Gly Asp Asn Tyr Gln Lys Gly
355 360 365

Ile Pro Val Glu Thr Asp Ser Glu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu Met Asp
370 375 380

Leu Ser Ser Pro Gln Thr Arg Tyr Ile Pro Asp Glu Ala Asp Phe Leu
385 390 395 400

Leu Gly Met Ala Thr Val Asn Asn Cys Val Ser Tyr Arg Asn Pro Ala
405 410 415

Glu Gly Thr Trp Tyr Ile Gln Ser Leu Cys Gln Ser Leu Arg Glu Arg
420 425 430

Cys Pro Arg Gly Asp Asp Ile Leu Thr Ile Leu Thr Glu Val Asn Tyr
435 440 445

Glu Val Ser Asn Lys Asp Asp Lys Lys Asn Met Gly Lys Gln Met Pro
450 455 460

Gln Pro Thr Phe Thr Leu Arg Lys Lys Leu Val Phe Pro Ser Asp
465 470 475

<210> 38
<211> 247
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Met Gln Pro Ile Leu Leu Leu Ala Phe Leu Leu Leu Pro Arg Ala
1 5 10 15

Asp Ala Gly Glu Ile Ile Gly Gly His Glu Ala Lys Pro His Ser Arg
20 25 30

Pro Tyr Met Ala Tyr Leu Met Ile Trp Asp Gln Lys Ser Leu Lys Arg
35 40 45

Cys Gly Gly Phe Leu Ile Gln Asp Asp Phe Val Leu Thr Ala Ala His
50 55 60

[0077]

P44012_序列表_20110713

Cys Trp Gly Ser Ser Ile Asn Val Thr Leu Gly Ala His Asn Ile Lys
 65 70 75 80
 Glu Gln Glu Pro Thr Gln Gln Phe Ile Pro Val Lys Arg Ala Ile Pro
 85 90 95
 His Pro Ala Tyr Asn Pro Lys Asn Phe Ser Asn Asp Ile Met Leu Leu
 100 105 110
 Gln Leu Glu Arg Lys Ala Lys Arg Thr Arg Ala Val Gln Pro Leu Arg
 115 120 125
 Leu Pro Ser Asn Lys Ala Gln Val Lys Pro Gly Gln Thr Cys Ser Val
 130 135 140
 Ala Gly Trp Gly Gln Thr Ala Pro Leu Gly Lys His Ser His Thr Leu
 145 150 155 160
 Gln Glu Val Lys Met Thr Val Gln Glu Asp Arg Lys Cys Glu Ser Asp
 165 170 175
 Leu Arg His Tyr Tyr Asp Ser Thr Ile Glu Leu Cys Val Gly Asp Pro
 180 185 190
 Glu Ile Lys Lys Thr Ser Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val
 195 200 205
 Cys Asn Lys Val Ala Gln Gly Ile Val Ser Tyr Gly Arg Asn Asn Gly
 210 215 220
 Met Pro Pro Arg Ala Cys Thr Lys Val Ser Ser Phe Val His Trp Ile
 225 230 235 240
 Lys Lys Thr Met Lys Arg Tyr
 245
 <210> 39
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 39
 Met Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Ile Met Lys Cys Ser
 1 5 10 15
 Gln Cys His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn
 20 25 30
 Leu His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Tyr Ser
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Ile Trp Gly Glu Asp Thr
 50 55 60
 Leu Met Glu Tyr Leu Glu Asn Pro Lys Lys Tyr Ile Pro Gly Thr Lys
 65 70 75 80

[0078]

P44012_序列表_20110713

```

Met Ile Phe Val Gly Ile Lys Lys Lys Glu Glu Arg Ala Asp Leu Ile
      85                      90                      95

Ala Tyr Leu Lys Lys Ala Thr Asn Glu
      100                      105

<210> 40
<211> 233
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala
1      5                      10                      15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe
      20                      25                      30

Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe
      35                      40                      45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro
      50                      55                      60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Val Arg Ser Ser
65      70                      75                      80

Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val Ala His Val Val Ala Asn Pro
      85                      90                      95

Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu
      100                      105                      110

Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser
      115                      120                      125

Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly
      130                      135                      140

Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala
145      150                      155                      160

Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile Lys Ser Pro
      165                      170                      175

Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu
      180                      185                      190

Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu
      195                      200                      205

Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly
      210                      215                      220

Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu
225                      230

```

[0079]

P44012_序列表_20110713

```

<210> 41
<211> 314
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41
Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
1          5          10          15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
          20          25          30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
          35          40          45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
          50          55          60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
65          70          75          80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
          85          90          95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
          100          105          110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
          115          120          125

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
          130          135          140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
145          150          155          160

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Val Lys Arg Lys Glu Val Gln Lys
          165          170          175

Thr Cys Arg Lys His Arg Lys Glu Asn Gln Gly Ser His Glu Ser Pro
          180          185          190

Thr Leu Asn Pro Glu Thr Val Ala Ile Asn Leu Ser Asp Val Asp Leu
          195          200          205

Ser Lys Tyr Ile Thr Thr Ile Ala Gly Val Met Thr Leu Ser Gln Val
          210          215          220

Lys Gly Phe Val Arg Lys Asn Gly Val Asn Glu Ala Lys Ile Asp Glu
225          230          235          240

Ile Lys Asn Asp Asn Val Gln Asp Thr Ala Glu Gln Lys Val Gln Leu
          245          250          255

Leu Arg Asn Trp His Gln Leu His Gly Lys Lys Glu Ala Tyr Asp Thr
          260          265          270

```

[0080]

P44012_序列表_20110713

Leu Ile Lys Asp Leu Lys Lys Ala Asn Leu Cys Thr Leu Ala Glu Lys
275 280 285

Ile Gln Thr Ile Ile Leu Lys Asp Ile Thr Ser Asp Ser Glu Asn Ser
290 295 300

Asn Phe Arg Asn Glu Ile Gln Ser Leu Val
305 310

<210> 42
<211> 168
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42

Met Phe Gln Ile Pro Glu Phe Glu Pro Ser Glu Gln Glu Asp Ser Ser
1 5 10 15

Ser Ala Glu Arg Gly Leu Gly Pro Ser Pro Ala Gly Asp Gly Pro Ser
20 25 30

Gly Ser Gly Lys His His Arg Gln Ala Pro Gly Leu Leu Trp Asp Ala
35 40 45

Ser His Gln Gln Glu Gln Pro Thr Ser Ser Ser His His Gly Gly Ala
50 55 60

Gly Ala Val Glu Ile Arg Ser Arg His Ser Ser Tyr Pro Ala Gly Thr
65 70 75 80

Glu Asp Asp Glu Gly Met Gly Glu Glu Pro Ser Pro Phe Arg Gly Arg
85 90 95

Ser Arg Ser Ala Pro Pro Asn Leu Trp Ala Ala Gln Arg Tyr Gly Arg
100 105 110

Glu Leu Arg Arg Met Ser Asp Glu Phe Val Asp Ser Phe Lys Lys Gly
115 120 125

Leu Pro Arg Pro Lys Ser Ala Gly Thr Ala Thr Gln Met Arg Gln Ser
130 135 140

Ser Ser Trp Thr Arg Val Phe Gln Ser Trp Trp Asp Arg Asn Leu Gly
145 150 155 160

Arg Gly Ser Ser Ala Pro Ser Gln
165

<210> 43
<211> 279
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Met Val Asp His Leu Ala Asn Thr Glu Ile Asn Ser Gln Arg Ile Ala
1 5 10 15

[0081]

P44012_序列表_20110713

Ala Val Glu Ser Cys Phe Gly Ala Ser Gly Gln Pro Leu Ala Leu Pro
20 25 30

Gly Arg Val Leu Leu Gly Glu Gly Val Leu Thr Lys Glu Cys Arg Lys
35 40 45

Lys Ala Lys Pro Arg Ile Phe Phe Leu Phe Asn Asp Ile Leu Val Tyr
50 55 60

Gly Ser Ile Val Leu Asn Lys Arg Lys Tyr Arg Ser Gln His Ile Ile
65 70 75 80

Pro Leu Glu Glu Val Thr Leu Glu Leu Leu Pro Glu Thr Leu Gln Ala
85 90 95

Lys Asn Arg Trp Met Ile Lys Thr Ala Lys Lys Ser Phe Val Val Ser
100 105 110

Ala Ala Ser Ala Thr Glu Arg Gln Glu Trp Ile Ser His Ile Glu Glu
115 120 125

Cys Val Arg Arg Gln Leu Lys Ala Thr Gly Arg Pro Pro Ser Thr Glu
130 135 140

His Ala Ala Pro Trp Ile Pro Asp Lys Ala Thr Asp Ile Cys Met Arg
145 150 155 160

Cys Thr Gln Thr Arg Phe Ser Ala Leu Thr Arg Arg His His Cys Arg
165 170 175

Lys Cys Gly Phe Val Val Cys Ala Glu Cys Ser Arg Gln Arg Phe Leu
180 185 190

Leu Pro Arg Leu Ser Pro Lys Pro Val Arg Val Cys Ser Leu Cys Tyr
195 200 205

Arg Glu Leu Ala Ala Gln Gln Arg Gln Glu Glu Ala Glu Glu Gln Gly
210 215 220

Ala Gly Ser Pro Arg Gln Pro Ala His Leu Ala Arg Pro Ile Cys Gly
225 230 235 240

Ala Ser Ser Gly Asp Asp Asp Asp Ser Asp Glu Asp Lys Glu Gly Ser
245 250 255

Arg Asp Gly Asp Trp Pro Ser Ser Val Glu Phe Tyr Ala Ser Gly Val
260 265 270

Ala Trp Ser Ala Phe His Ser
275

<210> 44
<211> 850
<212> PRT
<213> *Pieris rapae*

<400> 44

[0082]

P44012_序列表_20110713

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

[0083]

P44012_序列表_20110713

Trp Val Phe Ser Tyr Asp Asp Asn Lys Lys Ala Tyr Arg Ile Gln Ser
305 310 315 320

Tyr Gln Asn Ser Tyr Leu Tyr Leu Ser Trp Asp Ser Asn Ala Ser Ser
325 330 335

Lys Glu Met Ile Leu Arg Gly Tyr Thr Asn Ser Gly Ser Asn Asn Gln
340 345 350

Tyr Trp Gln Ile Glu Gln Thr Gly Lys Asn Tyr Arg Leu Arg Asn Leu
355 360 365

Leu Asn Leu Asp Met Ile Ile Thr Ala Gln Asp Lys Pro Ser Ala Phe
370 375 380

Gly Gly Lys Glu Val Ile Val Asn Thr Glu Ile Ser Asn Ser Asn Thr
385 390 395 400

Lys Ile Ser Gln Glu Trp Lys Met Ile Pro Phe Asp Phe Arg Pro Ile
405 410 415

Ile Asp Gly Asp Tyr Asn Ile Phe Asn Val Asp Leu Ser Asn Gln Val
420 425 430

Val Asp Phe Ser Asn Gln Pro Asp Leu Leu Val His Gly His Ile Phe
435 440 445

Cys Asp Asn Glu Asn Gln Thr Trp His Phe Thr Tyr Asn Ser Thr Tyr
450 455 460

His Ala Tyr Lys Ile Trp Ser Gly Arg Lys Ser Asn Leu Leu Leu Thr
465 470 475 480

Trp Asp Ser Asn Ala Ala Ser Lys Glu Met Val Val Arg Ala Tyr Thr
485 490 495

Glu Ser Arg Ser Lys Asn Gln Tyr Trp Arg Ile Glu Gln Thr Gly Ser
500 505 510

Lys Ser Tyr Lys Val Arg Asn Leu Glu Asn Ser Ser Met Ile Leu Gly
515 520 525

Leu Thr Arg Val Ser Thr Pro Tyr Gly Gly Leu Asn Leu Met Val Glu
530 535 540

Asp Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Leu His Ser Asp Trp Asp Ile Lys
545 550 555 560

Pro Ile Phe Tyr Gln Asp Ile Pro Asp Gly Asp Tyr Asn Ile Phe Asn
565 570 575

Asp Asn Phe Pro Asn Ile Ala Ile Asp Phe Thr Asn Gln Glu Gly Ser
580 585 590

Leu Ile His Gly His Asn Phe Cys Ser Asn Asn Asn Gln Lys Trp Ser
595 600 605

[0084]

P44012_序列表_20110713

Phe Val Phe Asp Gly Lys Arg Lys Ala Tyr Arg Ile Lys Ser Gly Val
610 615 620

Arg Ser Asn Leu Trp Leu Ser Trp Asp Ser Asn Ala Ser Ser Lys Glu
625 630 635 640

Met Val Leu Arg Ala Tyr Thr Glu Ser Gly Ser Ser Asn Gln Tyr Trp
645 650 655

Arg Leu Asp Glu Ala Asn Asp Gly Ser Tyr Arg Ile Arg Asn Leu Gln
660 665 670

Asp Tyr Tyr Lys Leu Ile Ala Leu Thr Asn Lys Asn Thr Pro Tyr Gly
675 680 685

Gly Lys Glu Leu Ile Val Ser Asp Asn Lys Glu Ser Gly Asn Thr Trp
690 695 700

Tyr Leu Lys Lys Leu Gly Glu Val Pro Leu Pro Asn Arg Lys Phe Arg
705 710 715 720

Ile Ala Thr Lys Leu Asn Tyr Lys Lys Val Ile Asp Ser Ser Thr Ser
725 730 735

Tyr Asn Leu Ile Ile Thr His Asp Leu Asn Phe Ala Ser Ser Ile Trp
740 745 750

Glu Leu Val Tyr Asp Ser Ser Lys Lys Ala Tyr Asn Ile Tyr Ser Ser
755 760 765

Asp Ile Asn Asn Leu Gly Trp Ile Tyr Gln Asn Lys Asn Phe Phe Val
770 775 780

Lys Leu Gly Asn Ile Asp Gly Pro Asp His Gly Asp Leu Arg Tyr Phe
785 790 795 800

Trp Thr Ile Glu Tyr Ser Met Gln Thr Gly Cys Tyr Leu Ile Arg Ser
805 810 815

Leu His Asp Pro Ala Asn Ala Val Gly Tyr Thr Asp Ser Glu Ser Val
820 825 830

Ile Thr Asp Thr Ser Thr Tyr Ser Asp Asn Gln Leu Phe His Phe Ile
835 840 845

Leu Met
850

<210> 45
<211> 281
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr Cys
1 5 10 15

[0085]

P44012_序列表_20110713

Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala
20 25 30

Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys
35 40 45

Tyr Ser Lys Ser Gly Ile Ala Cys Phe Leu Lys Glu Asp Asp Ser Tyr
50 55 60

Trp Asp Pro Asn Asp Glu Glu Ser Met Asn Ser Pro Cys Trp Gln Val
65 70 75 80

Lys Trp Gln Leu Arg Gln Leu Val Arg Lys Met Ile Leu Arg Thr Ser
85 90 95

Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro
100 105 110

Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly
115 120 125

Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu
130 135 140

Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly
145 150 155 160

His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile
165 170 175

His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe
180 185 190

Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln
195 200 205

Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys
210 215 220

Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr
225 230 235 240

Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile
245 250 255

Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala
260 265 270

Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
275 280

<210> 46
<211> 192
<212> PRT
<213> Homo sapiens

[0086]

P44012_序列表_20110713

<400> 46

Met Asp Gly Ser Gly Glu Gln Pro Arg Gly Gly Gly Pro Thr Ser Ser
1 5 10 15

Glu Gln Ile Met Lys Thr Gly Ala Leu Leu Leu Gln Gly Phe Ile Gln
20 25 30

Asp Arg Ala Gly Arg Met Gly Gly Glu Ala Pro Glu Leu Ala Leu Asp
35 40 45

Pro Val Pro Gln Asp Ala Ser Thr Lys Lys Leu Ser Glu Cys Leu Lys
50 55 60

Arg Ile Gly Asp Glu Leu Asp Ser Asn Met Glu Leu Gln Arg Met Ile
65 70 75 80

Ala Ala Val Asp Thr Asp Ser Pro Arg Glu Val Phe Phe Arg Val Ala
85 90 95

Ala Asp Met Phe Ser Asp Gly Asn Phe Asn Trp Gly Arg Val Val Ala
100 105 110

Leu Phe Tyr Phe Ala Ser Lys Leu Val Leu Lys Ala Leu Cys Thr Lys
115 120 125

Val Pro Glu Leu Ile Arg Thr Ile Met Gly Trp Thr Leu Asp Phe Leu
130 135 140

Arg Glu Arg Leu Leu Gly Trp Ile Gln Asp Gln Gly Gly Trp Asp Gly
145 150 155 160

Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Thr Pro Thr Trp Gln Thr Val Thr Ile Phe
165 170 175

Val Ala Gly Val Leu Thr Ala Ser Leu Thr Ile Trp Lys Lys Met Gly
180 185 190

<210> 47

<211> 238

<212> PRT

<213> *Aequorea victoria*

<400> 47

Met Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu Val
1 5 10 15

Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly Glu
20 25 30

Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile Cys
35 40 45

Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr Phe
50 55 60

Ser Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys Gln
65 70 75 80

[0087]

P44012 序列表 20110713

His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu Arg
85 90 95

Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu Val
100 105 110

Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly Ile
115 120 125

Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr Asn
130 135 140

Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn Gly
145 150 155 160

Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser Val
165 170 175

Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly Pro
180 185 190

Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu Ser
195 200 205

Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe Val
210 215 220

Thr Ala Ala Gly Ile Thr His Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
225 230 235

<210> 48
<211> 194
<212> PRT
<213> Aliivibrio fischeri

<400> 48

Met Phe Lys Gly Ile Val Glu Gly Ile Gly Ile Ile Glu Lys Ile Asp
1 5 10 15

Ile Tyr Thr Asp Leu Asp Lys Tyr Ala Ile Arg Phe Pro Glu Asn Met
20 25 30

Leu Asn Gly Ile Lys Lys Glu Ser Ser Ile Met Phe Asn Gly Cys Phe
35 40 45

Leu Thr Val Thr Ser Val Asn Ser Asn Ile Val Trp Phe Asp Ile Phe
50 55 60

Glu Lys Glu Ala Arg Lys Leu Asp Thr Phe Arg Glu Tyr Lys Val Gly
65 70 75 80

Asp Arg Val Asn Leu Gly Thr Phe Pro Lys Phe Gly Ala Ala Ser Gly
85 90 95

Gly His Ile Leu Ser Ala Arg Ile Ser Cys Val Ala Ser Ile Ile Glu
100 105 110

[0088]

P44012_序列表_20110713

Ile Ile Glu Asn Glu Asp Tyr Gln Gln Met Trp Ile Gln Ile Pro Glu
115 120 125

Asn Phe Thr Glu Phe Leu Ile Asp Lys Asp Tyr Ile Ala Val Asp Gly
130 135 140

Ile Ser Leu Thr Ile Asp Thr Ile Lys Asn Asn Gln Phe Phe Ile Ser
145 150 155 160

Leu Pro Leu Lys Ile Ala Gln Asn Thr Asn Met Lys Trp Arg Lys Lys
165 170 175

Gly Asp Lys Val Asn Val Glu Leu Ser Asn Lys Ile Asn Ala Asn Gln
180 185 190

Cys Trp

<210> 49
<211> 225
<212> PRT
<213> Montastraea cavernosa

<400> 49

Met Ser Val Ile Lys Ser Val Met Lys Ile Lys Leu Arg Met Asp Gly
1 5 10 15

Ile Val Asn Gly His Lys Phe Met Ile Thr Gly Glu Gly Glu Gly Lys
20 25 30

Pro Phe Glu Gly Thr His Thr Ile Ile Leu Lys Val Lys Glu Gly Gly
35 40 45

Pro Leu Pro Phe Ala Tyr Asp Ile Leu Thr Thr Ala Phe Gln Tyr Gly
50 55 60

Asn Arg Val Phe Thr Lys Tyr Pro Lys Asp Ile Pro Asp Tyr Phe Lys
65 70 75 80

Gln Ser Phe Pro Glu Gly Tyr Ser Trp Glu Arg Ser Met Thr Phe Glu
85 90 95

Asp Gln Gly Val Cys Thr Val Thr Ser Asp Ile Lys Leu Glu Gly Asp
100 105 110

Cys Phe Phe Tyr Glu Ile Arg Phe Tyr Gly Val Asn Phe Pro Ser Ser
115 120 125

Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Leu Lys Trp Glu Pro Ser Thr Glu
130 135 140

Asn Met Tyr Val Arg Asp Gly Val Leu Leu Gly Asp Val Ser Arg Thr
145 150 155 160

Leu Leu Leu Glu Gly Asp Lys His His Arg Cys Asn Phe Arg Ser Thr
165 170 175

[0089]

P44012_序列表_20110713

Tyr Gly Ala Lys Lys Gly Val Val Leu Pro Glu Tyr His Phe Val Asp
180 185 190

His Arg Ile Glu Ile Leu Ser His Asp Lys Asp Tyr Asn Thr Val Glu
195 200 205

Val Tyr Glu Asn Ala Val Ala Arg Pro Ser Met Leu Pro Val Lys Ala
210 215 220

Lys
225

<210> 50
<211> 230
<212> PRT
<213> Discosoma sp.

<400> 50

Met Ser Cys Ser Lys Asn Val Ile Lys Glu Phe Met Arg Phe Lys Val
1 5 10 15

Arg Met Glu Gly Thr Val Asn Gly His Glu Phe Glu Ile Lys Gly Glu
20 25 30

Gly Glu Gly Arg Pro Tyr Glu Gly His Cys Ser Val Lys Leu Met Val
35 40 45

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

Phe Gln Tyr Gly Ser Lys Val Tyr Val Lys His Pro Ala Asp Ile Pro
65 70 75 80

Asp Tyr Lys Lys Leu Ser Phe Pro Glu Gly Phe Lys Trp Glu Arg Val
85 90 95

Met Asn Phe Glu Asp Gly Gly Val Val Thr Val Ser Gln Asp Ser Ser
100 105 110

Leu Lys Asp Gly Cys Phe Ile Tyr Glu Val Lys Phe Ile Gly Val Asn
115 120 125

Phe Pro Ser Asp Gly Pro Val Met Gln Arg Arg Thr Arg Gly Trp Glu
130 135 140

Ala Ser Ser Glu Arg Leu Tyr Pro Arg Asp Gly Val Leu Lys Gly Asp
145 150 155 160

Ile His Met Ala Leu Arg Leu Glu Gly Gly Gly His Tyr Leu Val Glu
165 170 175

Phe Lys Ser Ile Tyr Met Val Lys Lys Pro Ser Val Gln Leu Pro Gly
180 185 190

Tyr Tyr Tyr Val Asp Ser Lys Leu Asp Met Thr Ser His Asn Glu Asp
195 200 205

[0090]

P44012_序列表_20110713

Tyr Thr Val Val Glu Gln Tyr Glu Lys Thr Gln Gly Arg His His Pro
210 215 220

Phe Ile Lys Pro Leu Gln
225 230

<210> 51
<211> 550
<212> PRT
<213> Photinus pyralis

<400> 51

Met Glu Asp Ala Lys Asn Ile Lys Lys Gly Pro Ala Pro Phe Tyr Pro
1 5 10 15

Leu Glu Asp Gly Thr Ala Gly Glu Gln Leu His Lys Ala Met Lys Arg
20 25 30

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

Val Asn Ile Thr Tyr Ala Glu Tyr Phe Glu Met Ser Val Arg Leu Ala
50 55 60

Glu Ala Met Lys Arg Tyr Gly Leu Asn Thr Asn His Arg Ile Val Val
65 70 75 80

Cys Ser Glu Asn Ser Leu Gln Phe Phe Met Pro Val Leu Gly Ala Leu
85 90 95

Phe Ile Gly Val Ala Val Ala Pro Ala Asn Asp Ile Tyr Asn Glu Arg
100 105 110

Glu Leu Leu Asn Ser Met Asn Ile Ser Gln Pro Thr Val Val Phe Val
115 120 125

Ser Lys Lys Gly Leu Gln Lys Ile Leu Asn Val Gln Lys Lys Leu Pro
130 135 140

Ile Ile Gln Lys Ile Ile Ile Met Asp Ser Lys Thr Asp Tyr Gln Gly
145 150 155 160

Phe Gln Ser Met Tyr Thr Phe Val Thr Ser His Leu Pro Pro Gly Phe
165 170 175

Asn Glu Tyr Asp Phe Val Pro Glu Ser Phe Asp Arg Asp Lys Thr Ile
180 185 190

Ala Leu Ile Met Asn Ser Ser Gly Ser Thr Gly Ser Pro Lys Gly Val
195 200 205

Ala Leu Pro His Arg Thr Ala Cys Val Arg Phe Ser His Ala Arg Asp
210 215 220

Pro Ile Phe Gly Asn Gln Ile Ile Pro Asp Thr Ala Ile Leu Ser Val
225 230 235 240

[0091]

P44012_序列表_20110713

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

[0092]

P44012_序列表_20110713

530 535 540

Gly Gly Lys Ser Lys Leu
545 550

<210> 52
<211> 311
<212> PRT
<213> Renilla reniformis

<400> 52

Met Thr Ser Lys Val Tyr Asp Pro Glu Gln Arg Lys Arg Met Ile Thr
1 5 10 15

Gly Pro Gln Trp Trp Ala Arg Cys Lys Gln Met Asn Val Leu Asp Ser
20 25 30

Phe Ile Asn Tyr Tyr Asp Ser Glu Lys His Ala Glu Asn Ala Val Ile
35 40 45

Phe Leu His Gly Asn Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Trp Arg His Val Val
50 55 60

Pro His Ile Glu Pro Val Ala Arg Cys Ile Ile Pro Asp Leu Ile Gly
65 70 75 80

Met Gly Lys Ser Gly Lys Ser Gly Asn Gly Ser Tyr Arg Leu Leu Asp
85 90 95

His Tyr Lys Tyr Leu Thr Ala Trp Phe Glu Leu Leu Asn Leu Pro Lys
100 105 110

Lys Ile Ile Phe Val Gly His Asp Trp Gly Ala Cys Leu Ala Phe His
115 120 125

Tyr Ser Tyr Glu His Gln Asp Lys Ile Lys Ala Ile Val His Ala Glu
130 135 140

Ser Val Val Asp Val Ile Glu Ser Trp Asp Glu Trp Pro Asp Ile Glu
145 150 155 160

Glu Asp Ile Ala Leu Ile Lys Ser Glu Glu Gly Glu Lys Met Val Leu
165 170 175

Glu Asn Asn Phe Phe Val Glu Thr Met Leu Pro Ser Lys Ile Met Arg
180 185 190

Lys Leu Glu Pro Glu Glu Phe Ala Ala Tyr Leu Glu Pro Phe Lys Glu
195 200 205

Lys Gly Glu Val Arg Arg Pro Thr Leu Ser Trp Pro Arg Glu Ile Pro
210 215 220

Leu Val Lys Gly Gly Lys Pro Asp Val Val Gln Ile Val Arg Asn Tyr
225 230 235 240

Asn Ala Tyr Leu Arg Ala Ser Asp Asp Leu Pro Lys Met Phe Ile Glu

[0093]

P44012_序列表_20110713

245

250

255

Ser Asp Pro Gly Phe Phe Ser Asn Ala Ile Val Glu Gly Ala Lys Lys
 260 265 270

Phe Pro Asn Thr Glu Phe Val Lys Val Lys Gly Leu His Phe Ser Gln
 275 280 285

Glu Asp Ala Pro Asp Glu Met Gly Lys Tyr Ile Lys Ser Phe Val Glu
 290 295 300

Arg Val Leu Lys Asn Glu Gln
 305 310

<210> 53
 <211> 197
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 53

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

[0094]

P44012_序列表_20110713

Ser Ala Lys Gln Arg
195

<210> 54
<211> 197
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln
1 5 10 15

Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser
20 25 30

Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr
35 40 45

Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu
50 55 60

Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln
65 70 75 80

Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu
85 90 95

Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala
100 105 110

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

Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr
130 135 140

Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg
145 150 155 160

Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala
165 170 175

Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu
180 185 190

Val Glu Glu Pro Gln
195

<210> 55
<211> 205
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Synthetic construct

<400> 55

[0095]

P44012_序列表_20110713

Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu
1 5 10 15

Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr
20 25 30

Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
35 40 45

Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys
50 55 60

Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu
65 70 75 80

Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys
85 90 95

Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu
100 105 110

Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr
115 120 125

Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys
130 135 140

Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr
145 150 155 160

Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu
165 170 175

Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly
180 185 190

Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
195 200 205

<210> 56

<211> 197

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

[0096]

P44012_序列表_20110713

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg
195

<210> 57
<211> 205
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57

Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu
1 5 10 15

Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr
20 25 30

Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
35 40 45

Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys
50 55 60

Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu
65 70 75 80

Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys
85 90 95

Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu
100 105 110

Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr
115 120 125

[0097]

P44012_序列表_20110713

Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys
130 135 140

Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr
145 150 155 160

Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu
165 170 175

Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly
180 185 190

Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
195 200 205

<210> 58
<211> 609
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58

Met Lys Trp Val Glu Ser Ile Phe Leu Ile Phe Leu Leu Asn Phe Thr
1 5 10 15

Glu Ser Arg Thr Leu His Arg Asn Glu Tyr Gly Ile Ala Ser Ile Leu
20 25 30

Asp Ser Tyr Gln Cys Thr Ala Glu Ile Ser Leu Ala Asp Leu Ala Thr
35 40 45

Ile Phe Phe Ala Gln Phe Val Gln Glu Ala Thr Tyr Lys Glu Val Ser
50 55 60

Lys Met Val Lys Asp Ala Leu Thr Ala Ile Glu Lys Pro Thr Gly Asp
65 70 75 80

Glu Gln Ser Ser Gly Cys Leu Glu Asn Gln Leu Pro Ala Phe Leu Glu
85 90 95

Glu Leu Cys His Glu Lys Glu Ile Leu Glu Lys Tyr Gly His Ser Asp
100 105 110

Cys Cys Ser Gln Ser Glu Glu Gly Arg His Asn Cys Phe Leu Ala His
115 120 125

Lys Lys Pro Thr Pro Ala Ser Ile Pro Leu Phe Gln Val Pro Glu Pro
130 135 140

Val Thr Ser Cys Glu Ala Tyr Glu Glu Asp Arg Glu Thr Phe Met Asn
145 150 155 160

Lys Phe Ile Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Phe Leu Tyr Ala Pro
165 170 175

Thr Ile Leu Leu Trp Ala Ala Arg Tyr Asp Lys Ile Ile Pro Ser Cys
180 185 190

[0098]

P44012_序列表_20110713

Cys	Lys	Ala	Glu	Asn	Ala	Val	Glu	Cys	Phe	Gln	Thr	Lys	Ala	Ala	Thr
195							200					205			
Val	Thr	Lys	Glu	Leu	Arg	Glu	Ser	Ser	Leu	Leu	Asn	Gln	His	Ala	Cys
210						215					220				
Ala	Val	Met	Lys	Asn	Phe	Gly	Thr	Arg	Thr	Phe	Gln	Ala	Ile	Thr	Val
225					230					235					240
Thr	Lys	Leu	Ser	Gln	Lys	Phe	Thr	Lys	Val	Asn	Phe	Thr	Glu	Ile	Gln
			245						250					255	
Lys	Leu	Val	Leu	Asp	Val	Ala	His	Val	His	Glu	His	Cys	Cys	Arg	Gly
			260					265					270		
Asp	Val	Leu	Asp	Cys	Leu	Gln	Asp	Gly	Glu	Lys	Ile	Met	Ser	Tyr	Ile
		275					280					285			
Cys	Ser	Gln	Gln	Asp	Thr	Leu	Ser	Asn	Lys	Ile	Thr	Glu	Cys	Cys	Lys
290						295					300				
Leu	Thr	Thr	Leu	Glu	Arg	Gly	Gln	Cys	Ile	Ile	His	Ala	Glu	Asn	Asp
305					310					315					320
Glu	Lys	Pro	Glu	Gly	Leu	Ser	Pro	Asn	Leu	Asn	Arg	Phe	Leu	Gly	Asp
				325					330					335	
Arg	Asp	Phe	Asn	Gln	Phe	Ser	Ser	Gly	Glu	Lys	Asn	Ile	Phe	Leu	Ala
			340					345					350		
Ser	Phe	Val	His	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg	His	Pro	Gln	Leu	Ala	Val	Ser
		355					360					365			
Val	Ile	Leu	Arg	Val	Ala	Lys	Gly	Tyr	Gln	Glu	Leu	Leu	Glu	Lys	Cys
		370				375					380				
Phe	Gln	Thr	Glu	Asn	Pro	Leu	Glu	Cys	Gln	Asp	Lys	Gly	Glu	Glu	Glu
385					390					395					400
Leu	Gln	Lys	Tyr	Ile	Gln	Glu	Ser	Gln	Ala	Leu	Ala	Lys	Arg	Ser	Cys
				405					410					415	
Gly	Leu	Phe	Gln	Lys	Leu	Gly	Glu	Tyr	Tyr	Leu	Gln	Asn	Ala	Phe	Leu
				420				425					430		
Val	Ala	Tyr	Thr	Lys	Lys	Ala	Pro	Gln	Leu	Thr	Ser	Ser	Glu	Leu	Met
				435			440					445			
Ala	Ile	Thr	Arg	Lys	Met	Ala	Ala	Thr	Ala	Ala	Thr	Cys	Cys	Gln	Leu
				450		455						460			
Ser	Glu	Asp	Lys	Leu	Leu	Ala	Cys	Gly	Glu	Gly	Ala	Ala	Asp	Ile	Ile
465					470					475					480
Ile	Gly	His	Leu	Cys	Ile	Arg	His	Glu	Met	Thr	Pro	Val	Asn	Pro	Gly
				485					490					495	

[0099]

P44012_序列表_20110713

Val Gly Gln Cys Cys Thr Ser Ser Tyr Ala Asn Arg Arg Pro Cys Phe
500 505 510

Ser Ser Leu Val Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Pro Ala Phe Ser Asp
515 520 525

Asp Lys Phe Ile Phe His Lys Asp Leu Cys Gln Ala Gln Gly Val Ala
530 535 540

Leu Gln Thr Met Lys Gln Glu Phe Leu Ile Asn Leu Val Lys Gln Lys
545 550 555 560

Pro Gln Ile Thr Glu Glu Gln Leu Glu Ala Val Ile Ala Asp Phe Ser
565 570 575

Gly Leu Leu Glu Lys Cys Cys Gln Gly Gln Glu Gln Glu Val Cys Phe
580 585 590

Ala Glu Glu Gly Gln Lys Leu Ile Ser Lys Thr Arg Ala Ala Leu Gly
595 600 605

Val

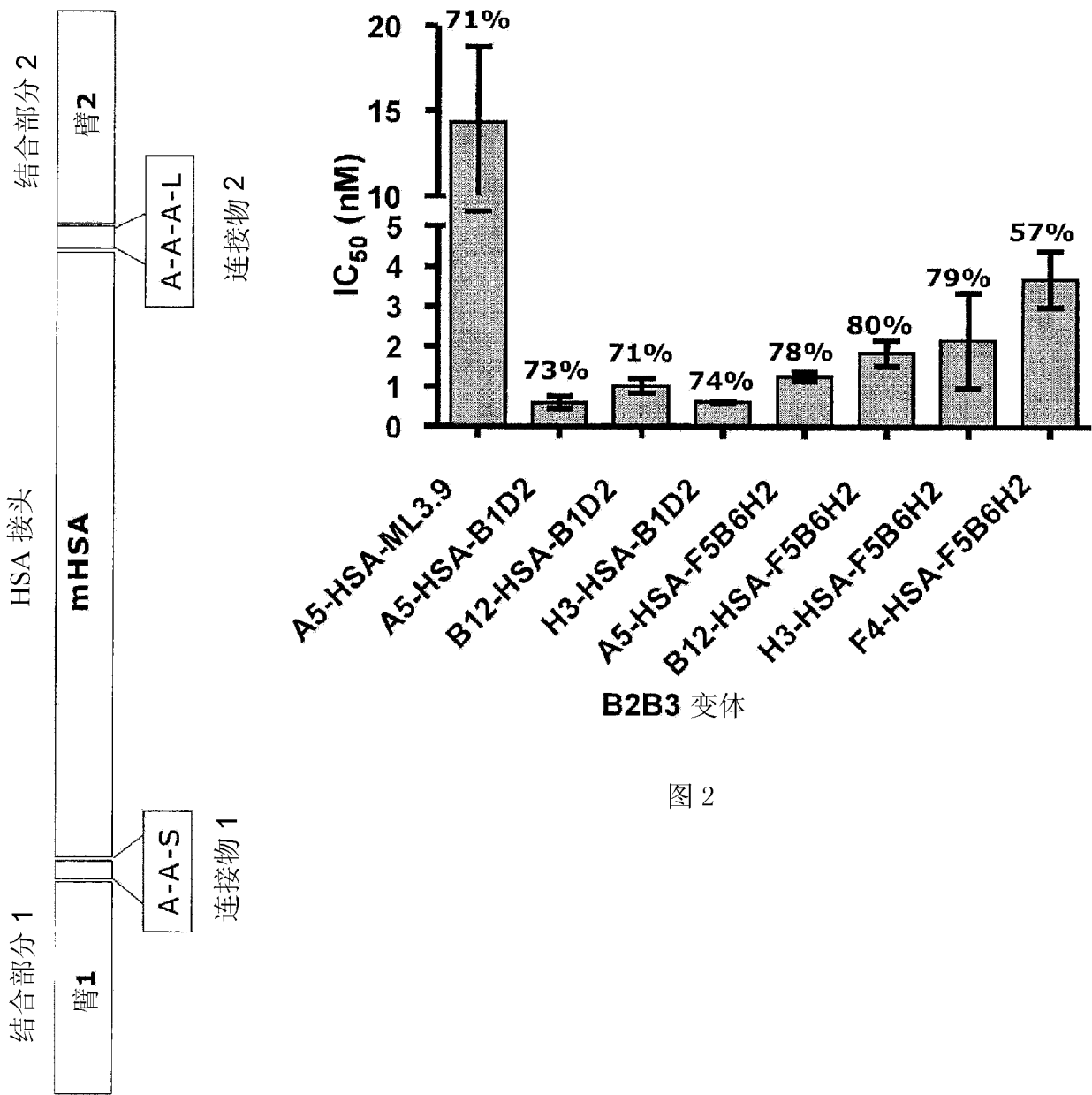


图 1

图 2

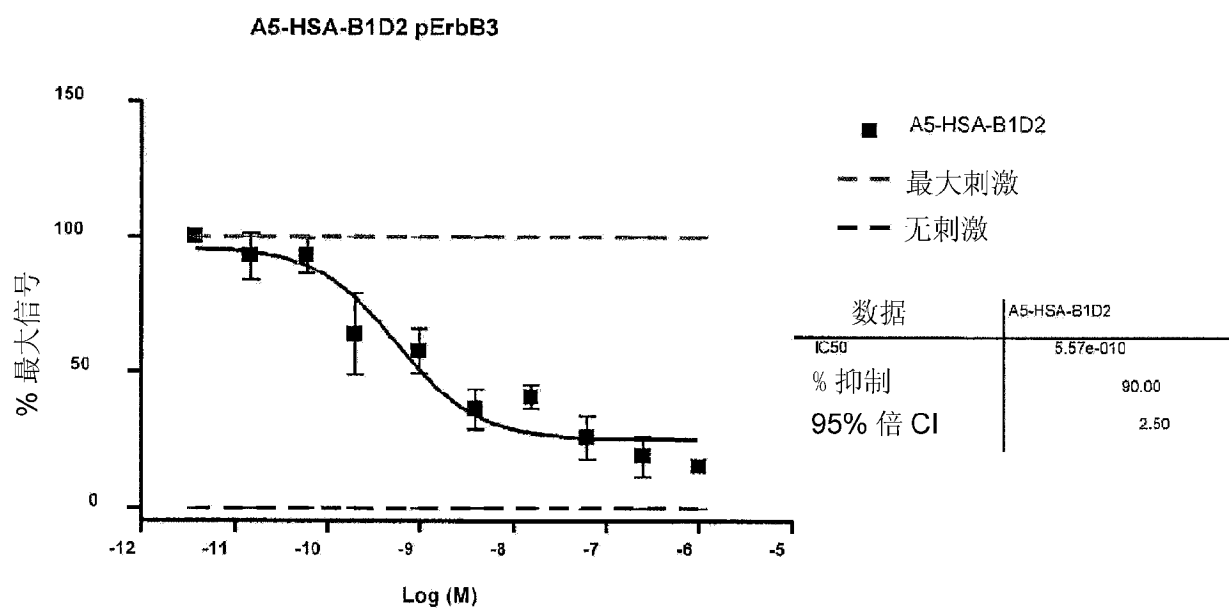


图 3A

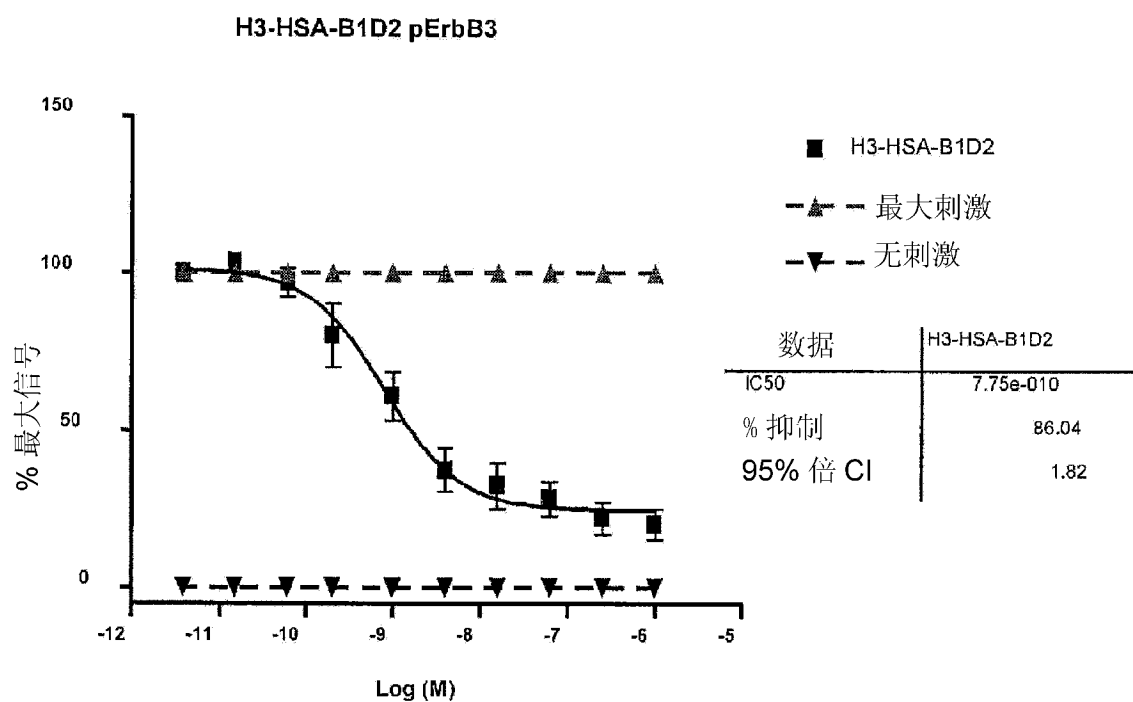


图 3B

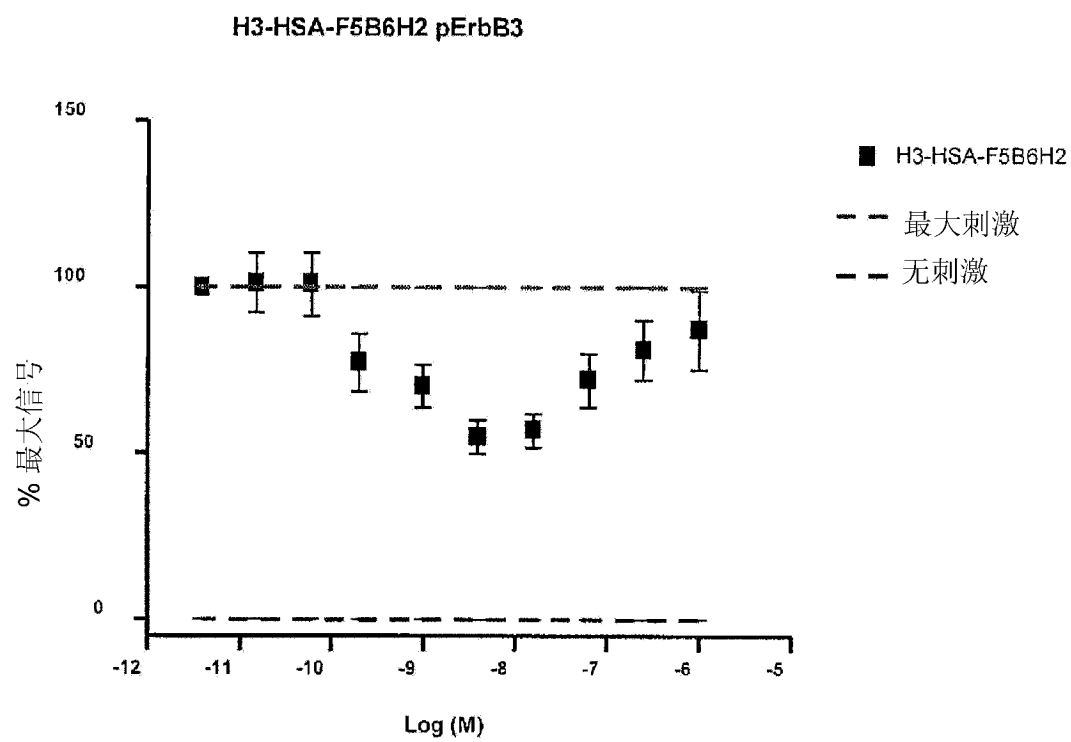


图 3C

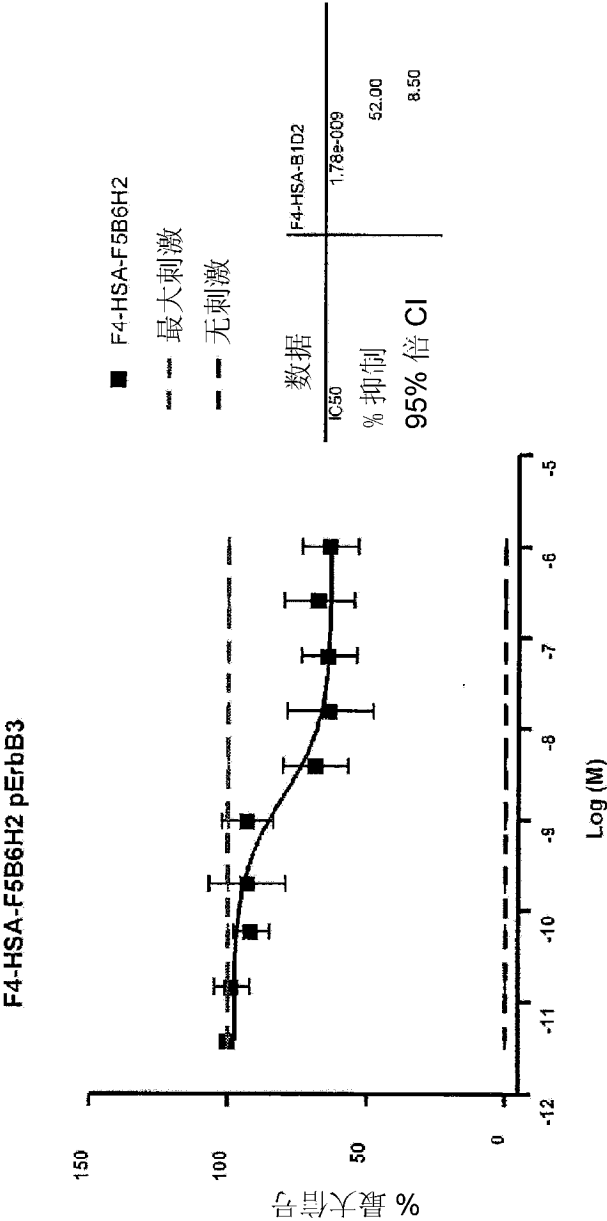


图 3D

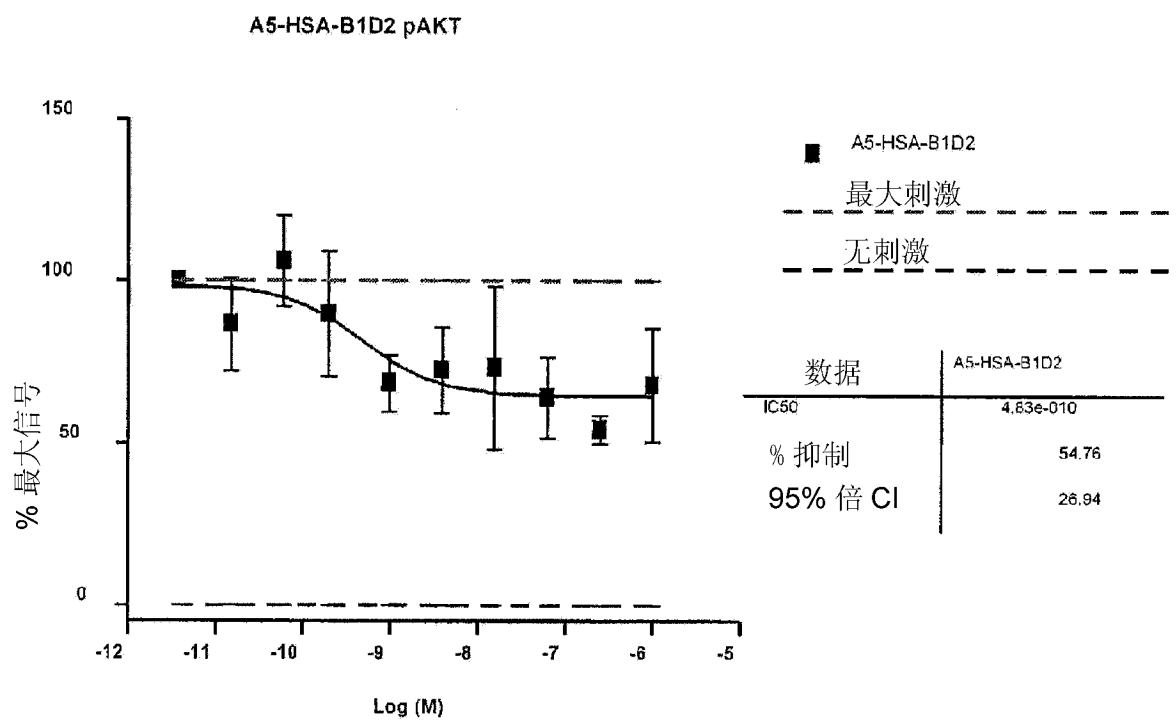


图 4A

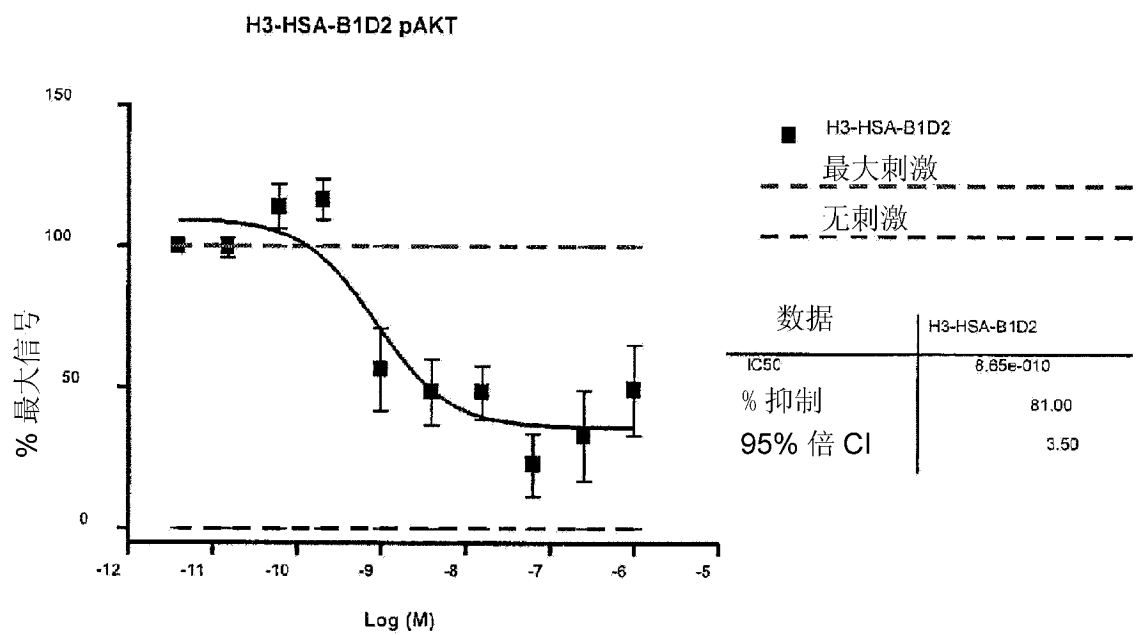


图 4B

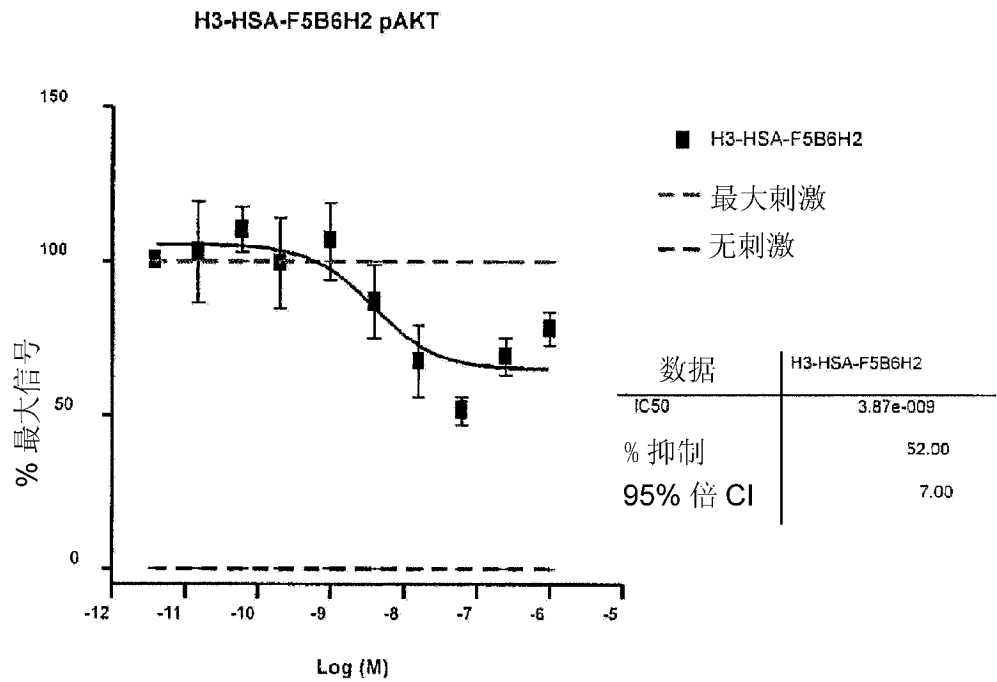


图 4C

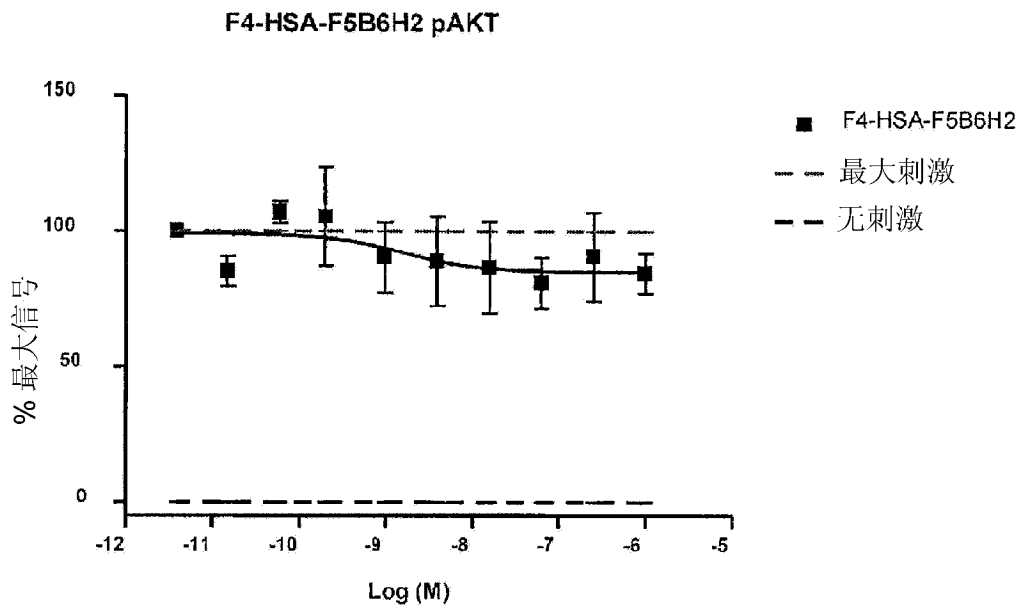


图 4D

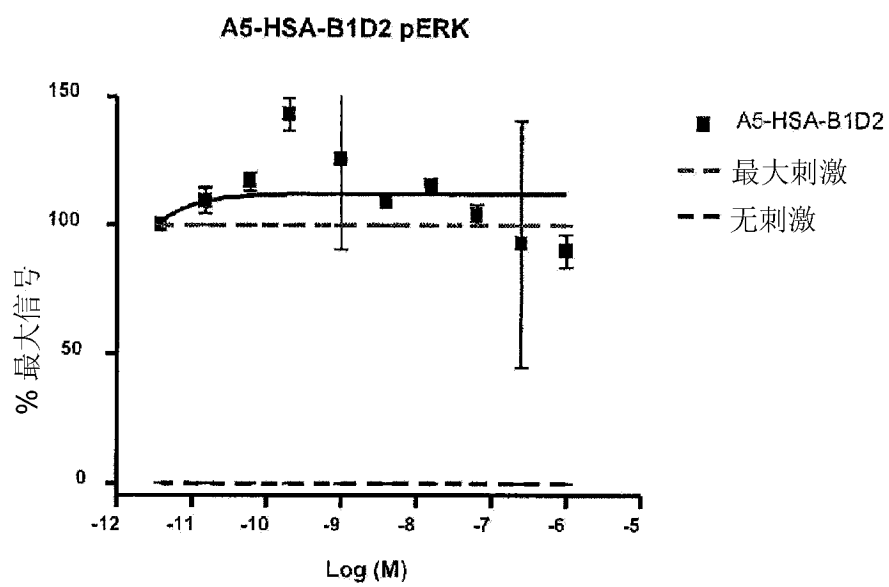


图 5A

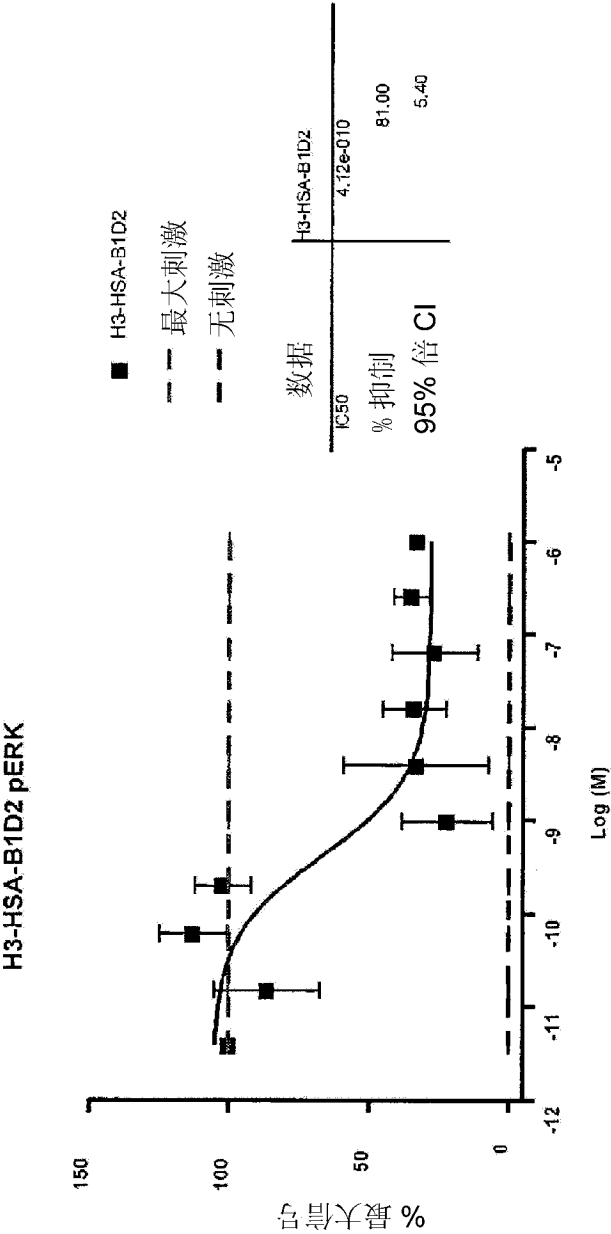


图 5B

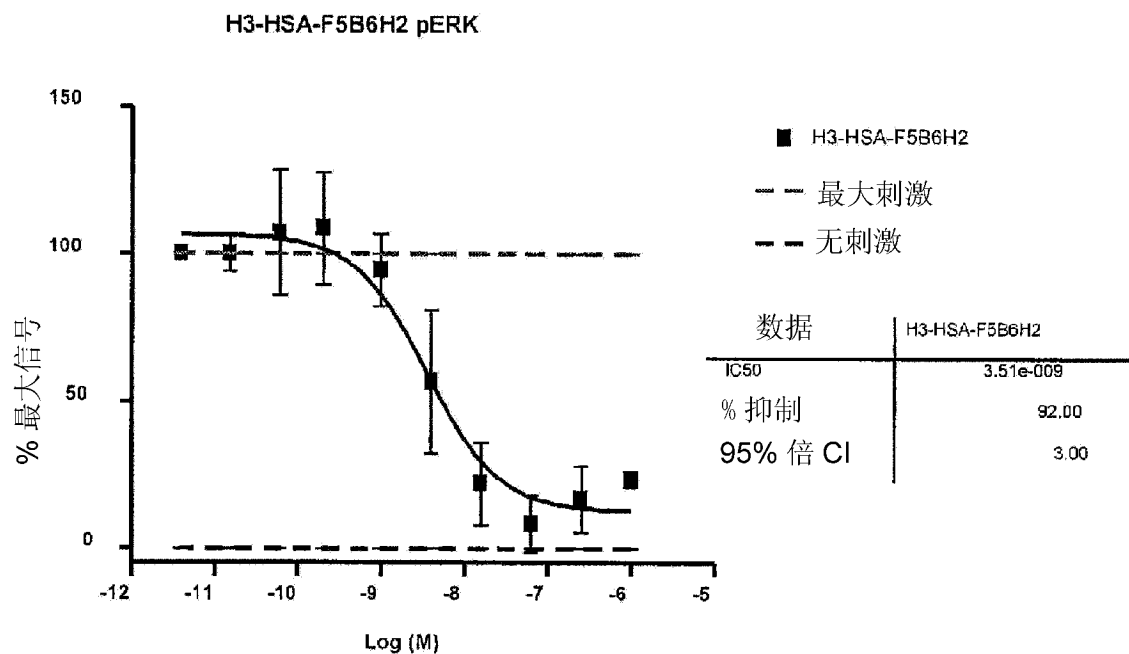


图 5C

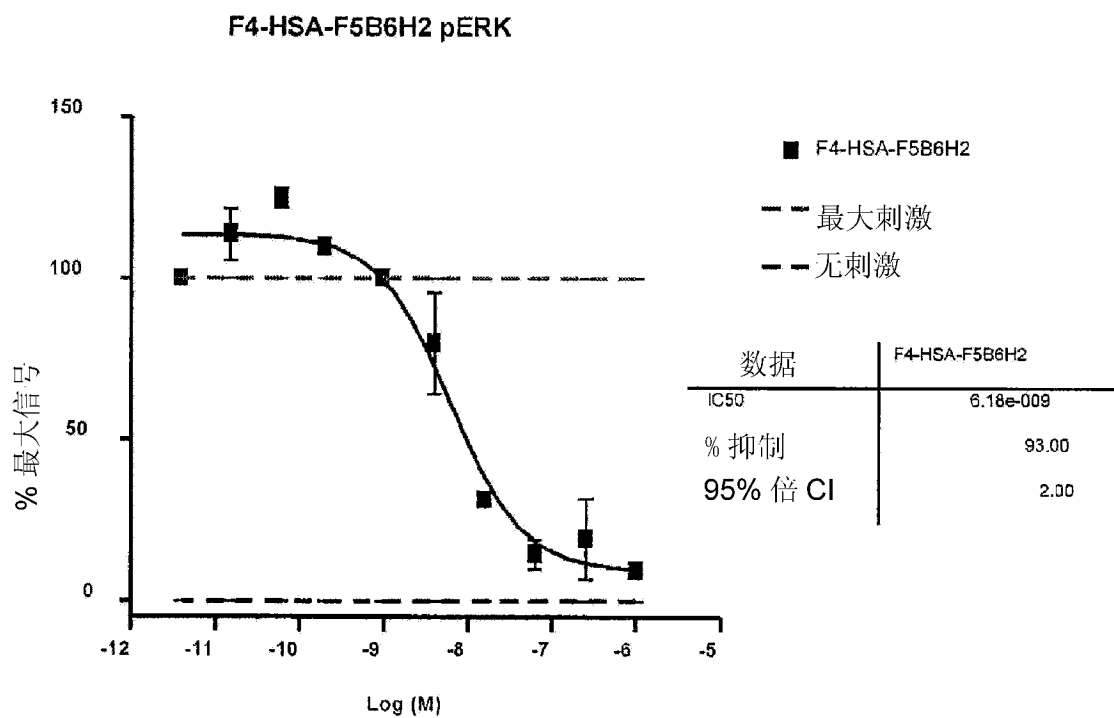


图 5D

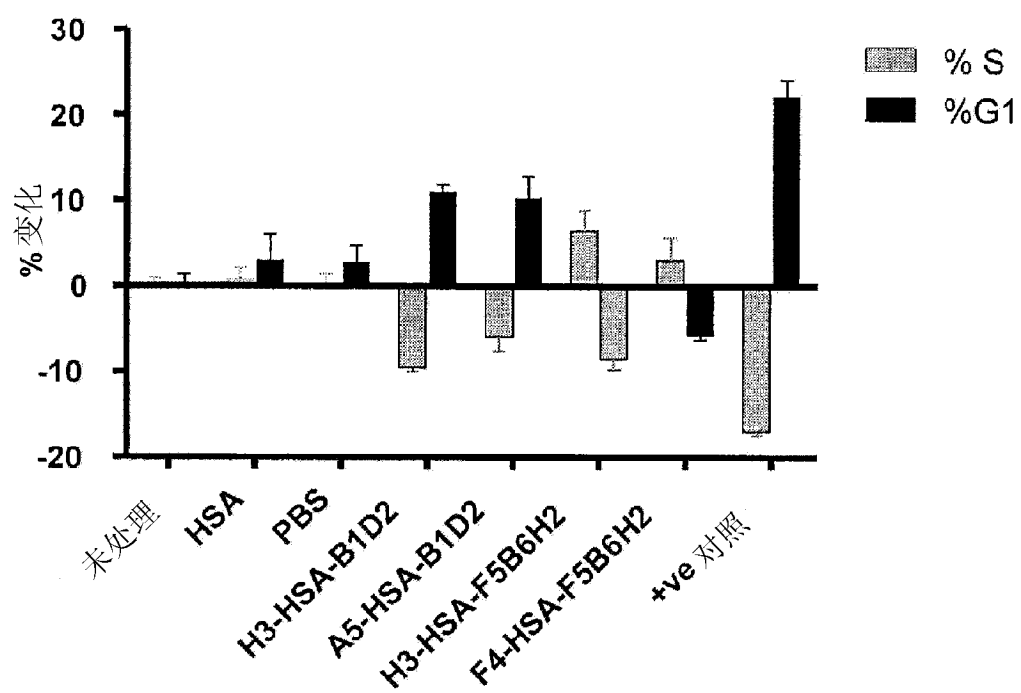


图 6

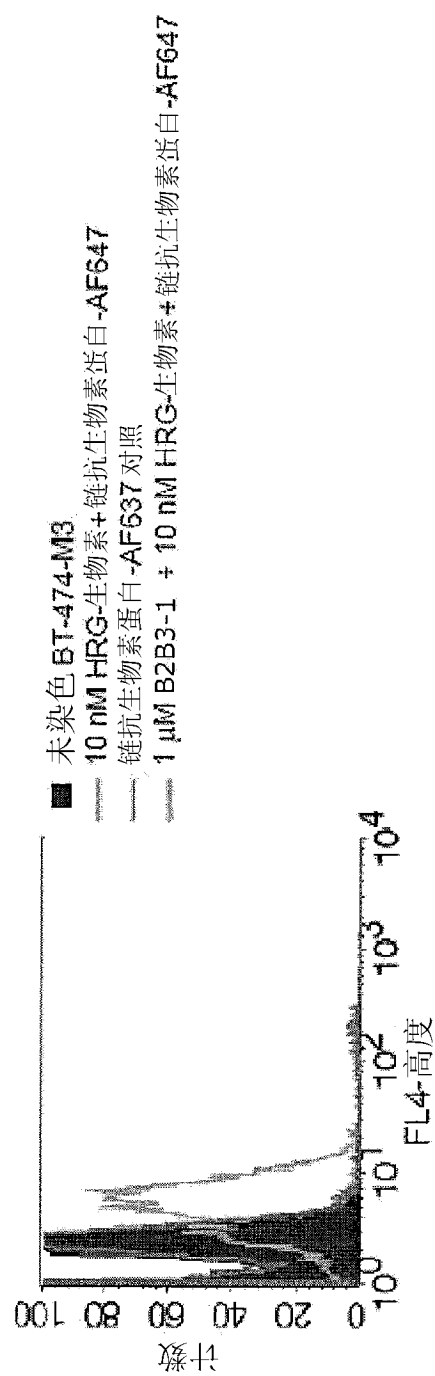


图 7

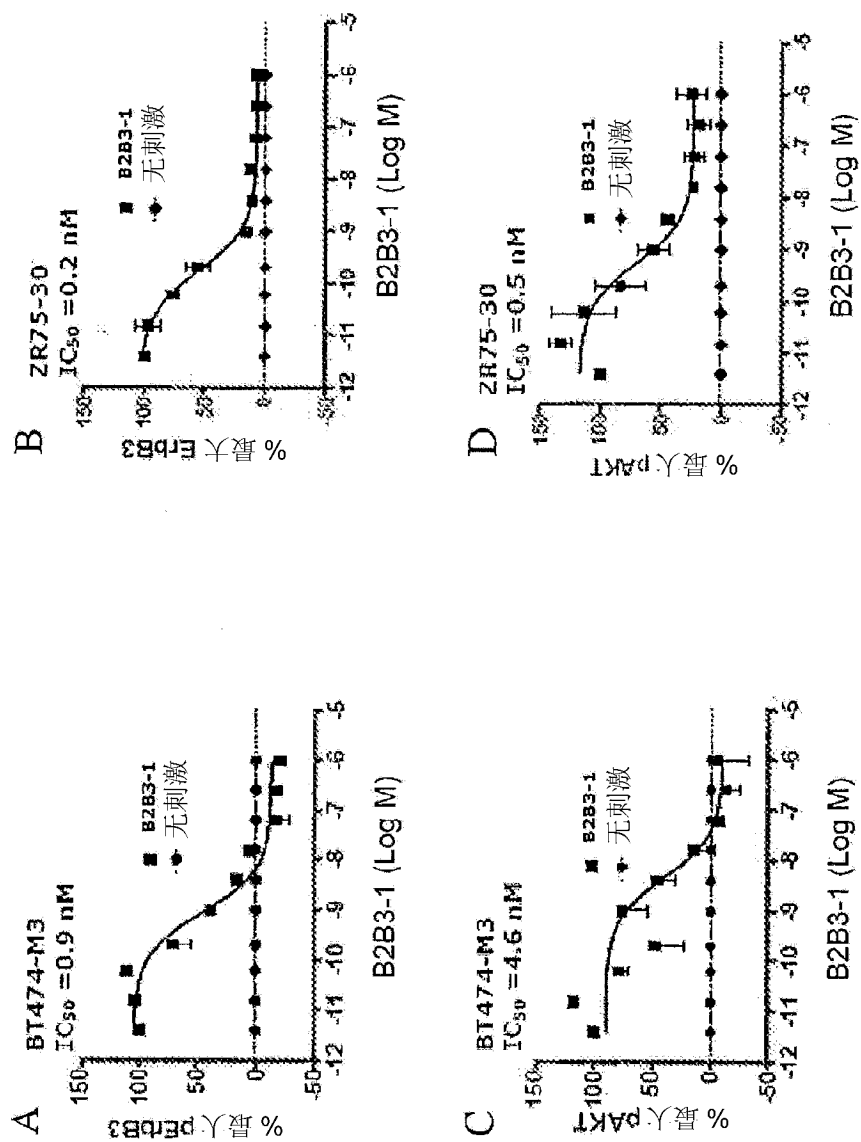


图 8

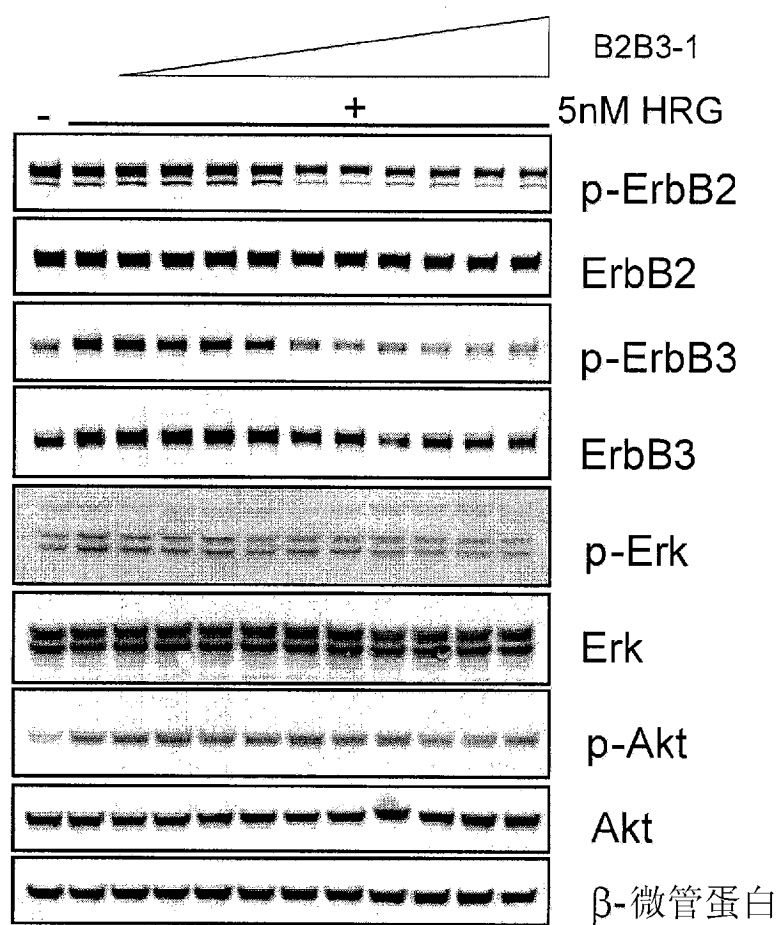


图 9

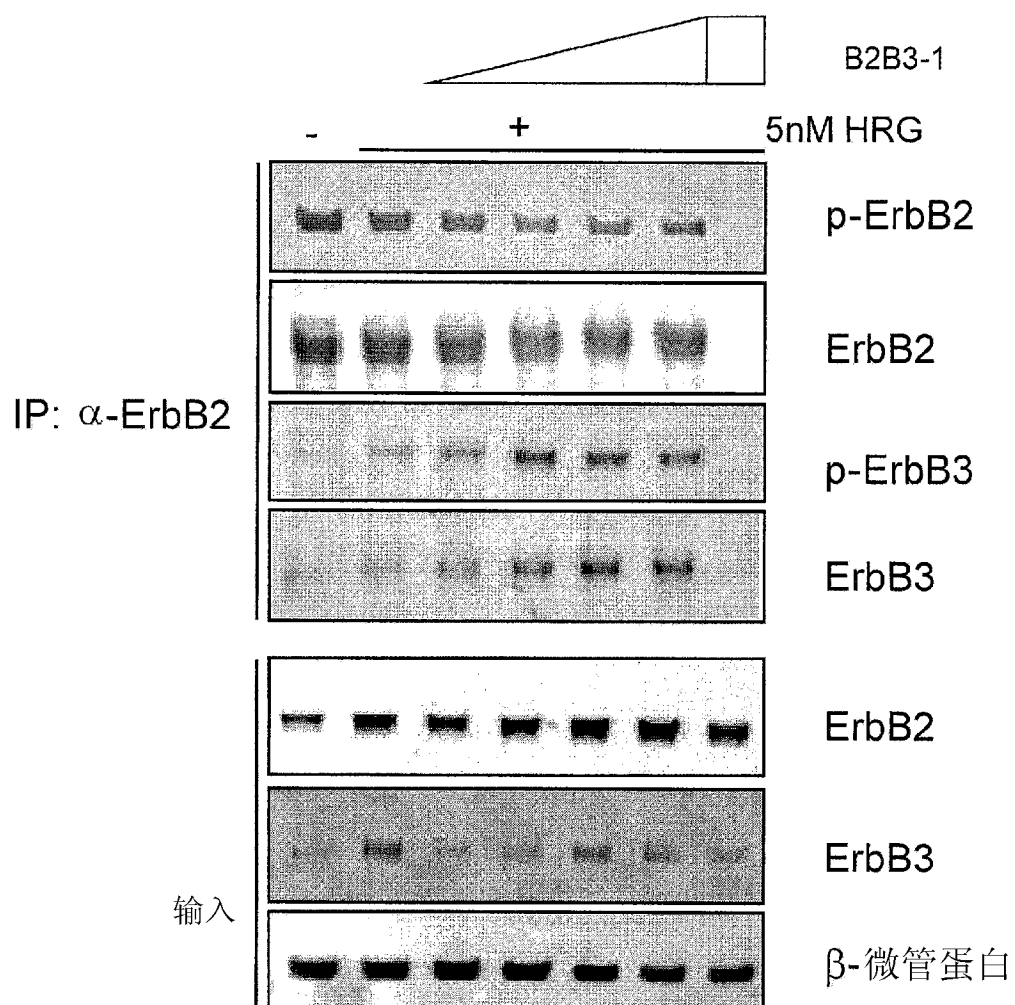


图 10

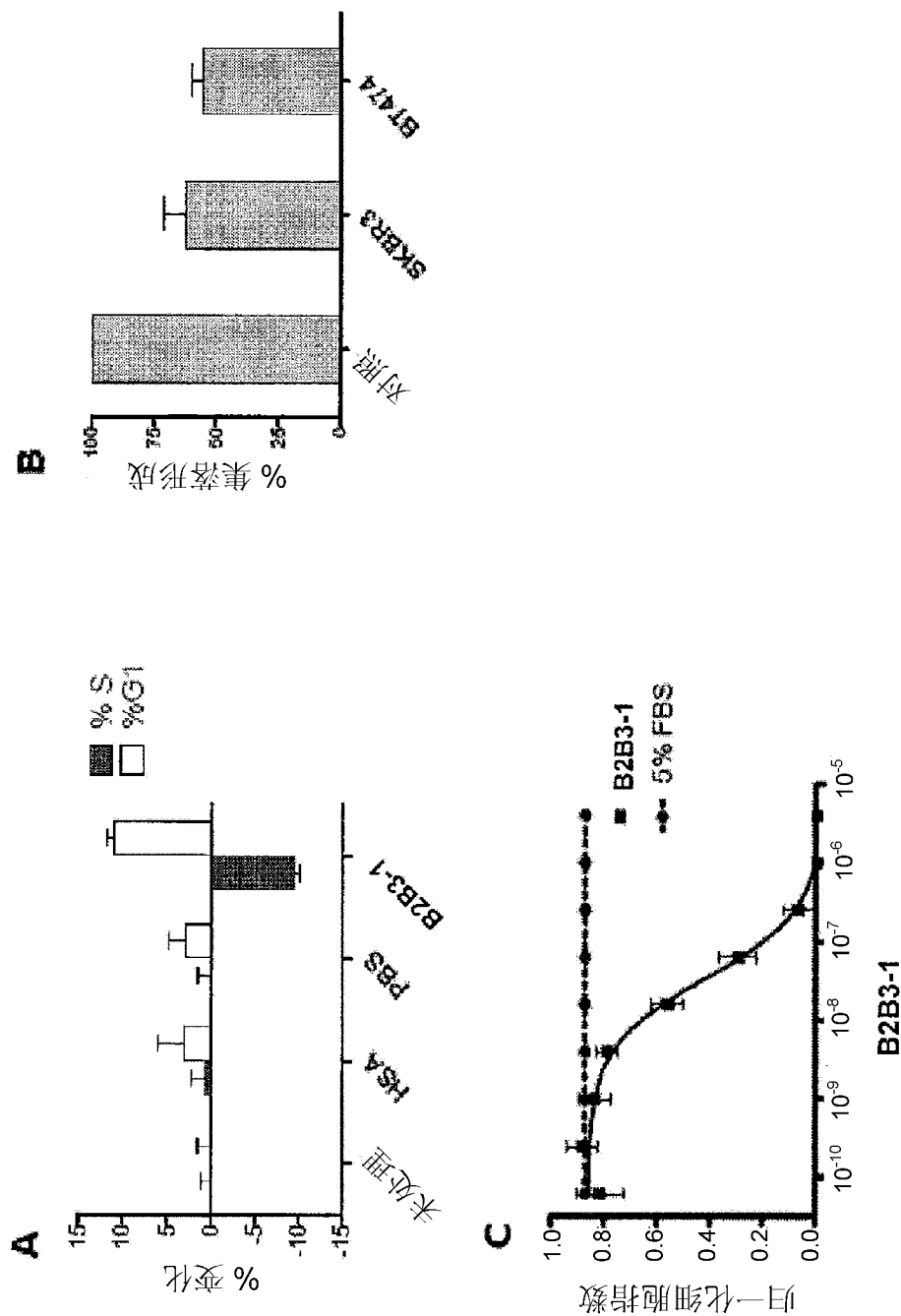


图 11

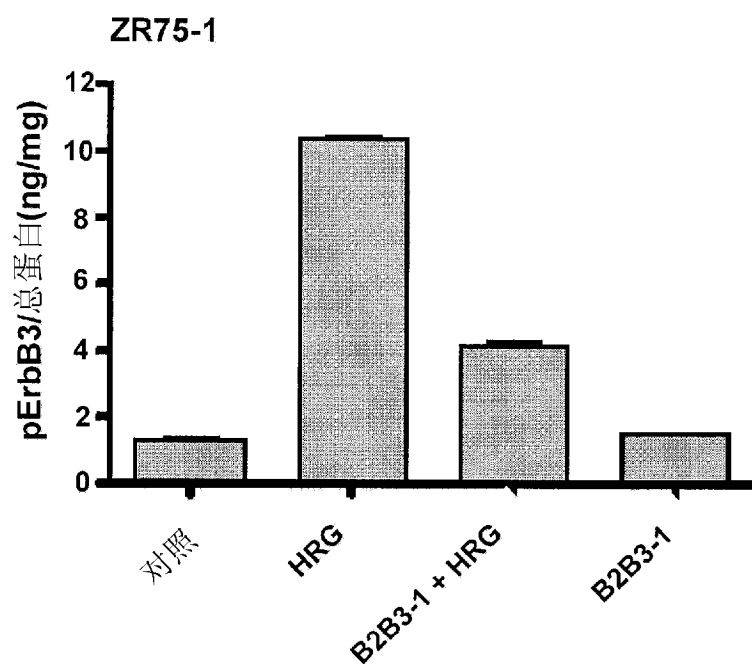


图 12

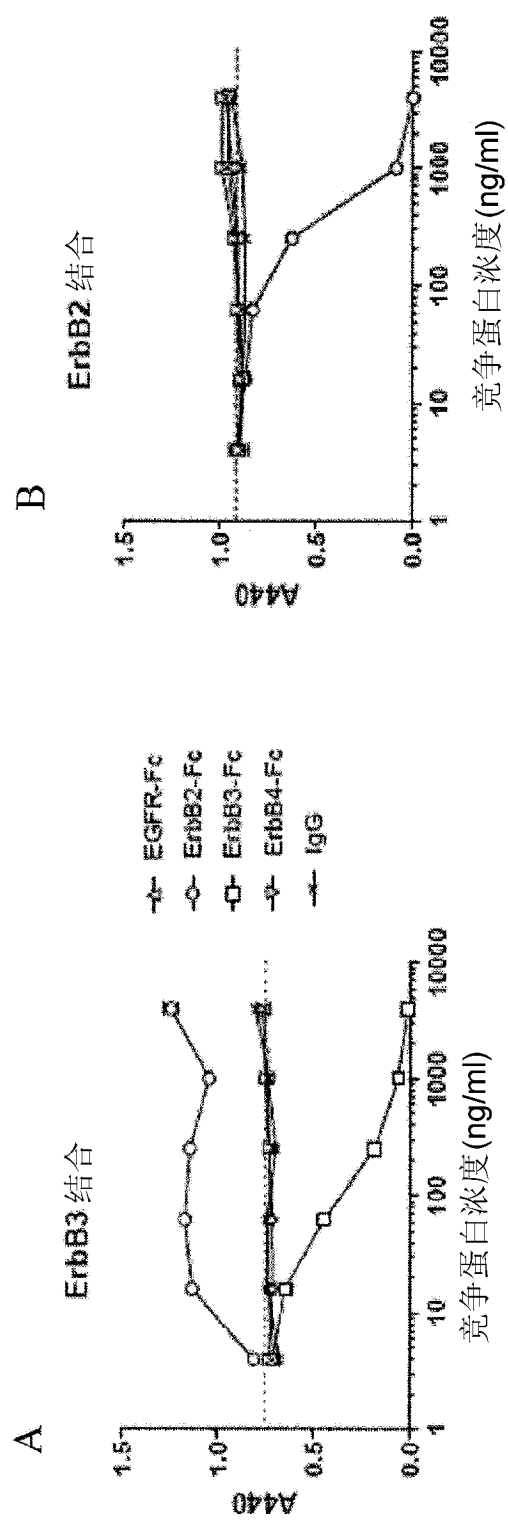


图 13

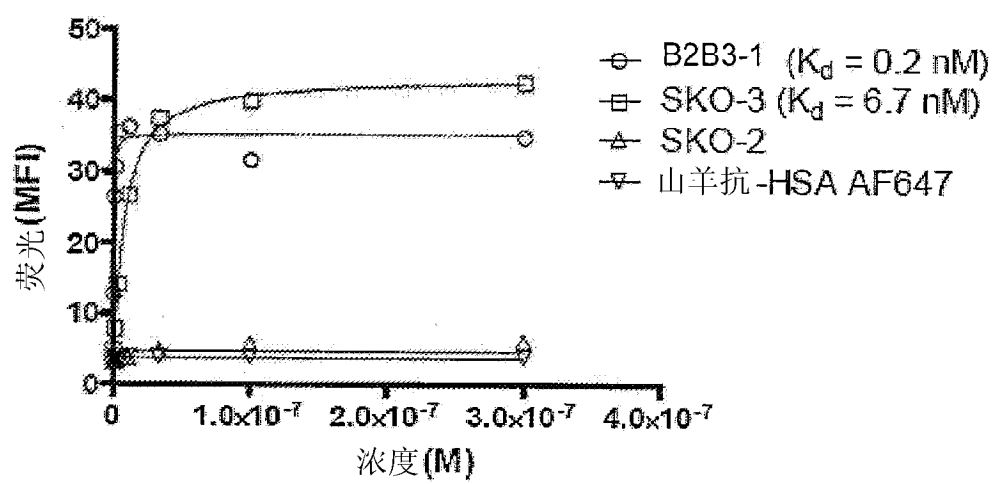


图 14

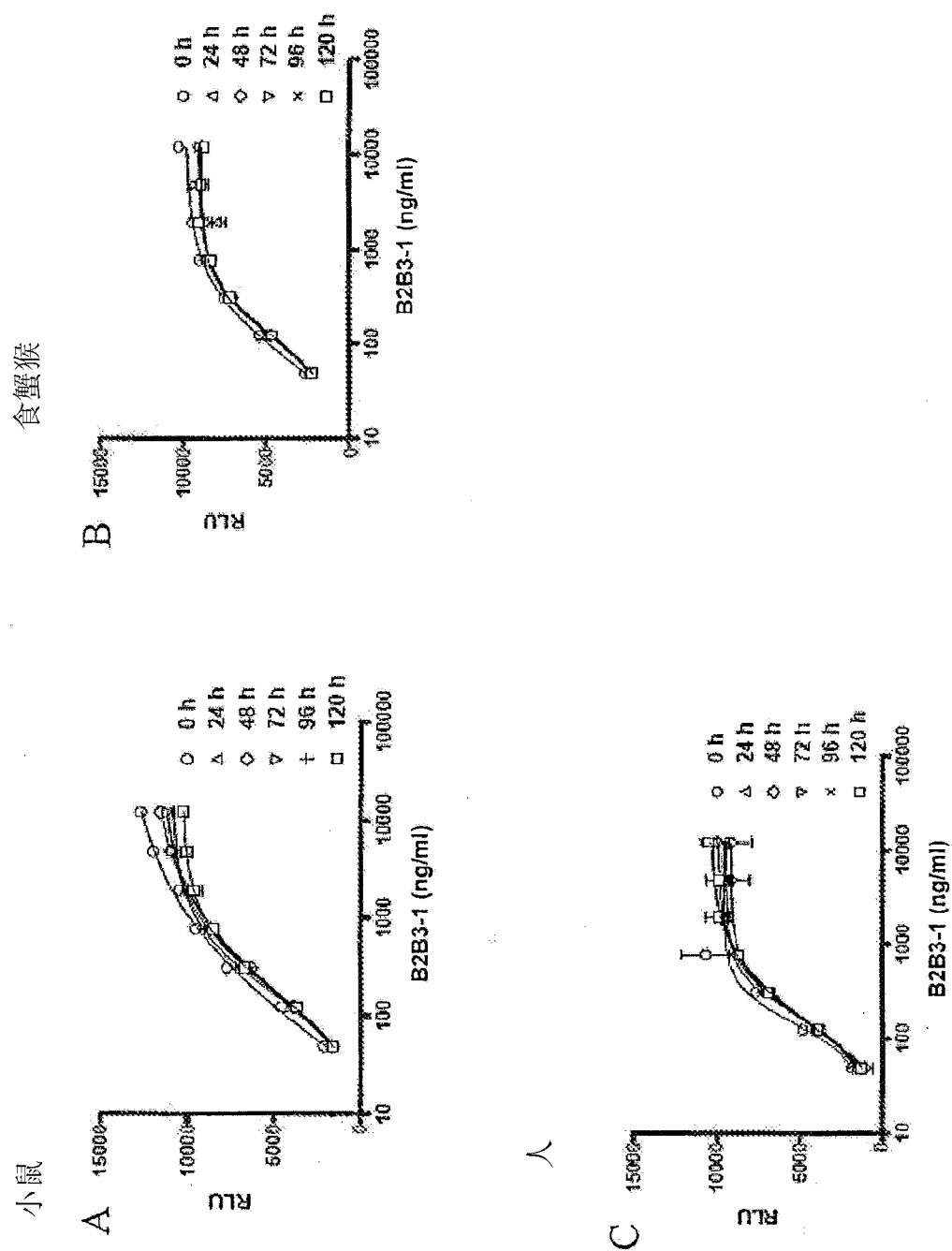


图 15

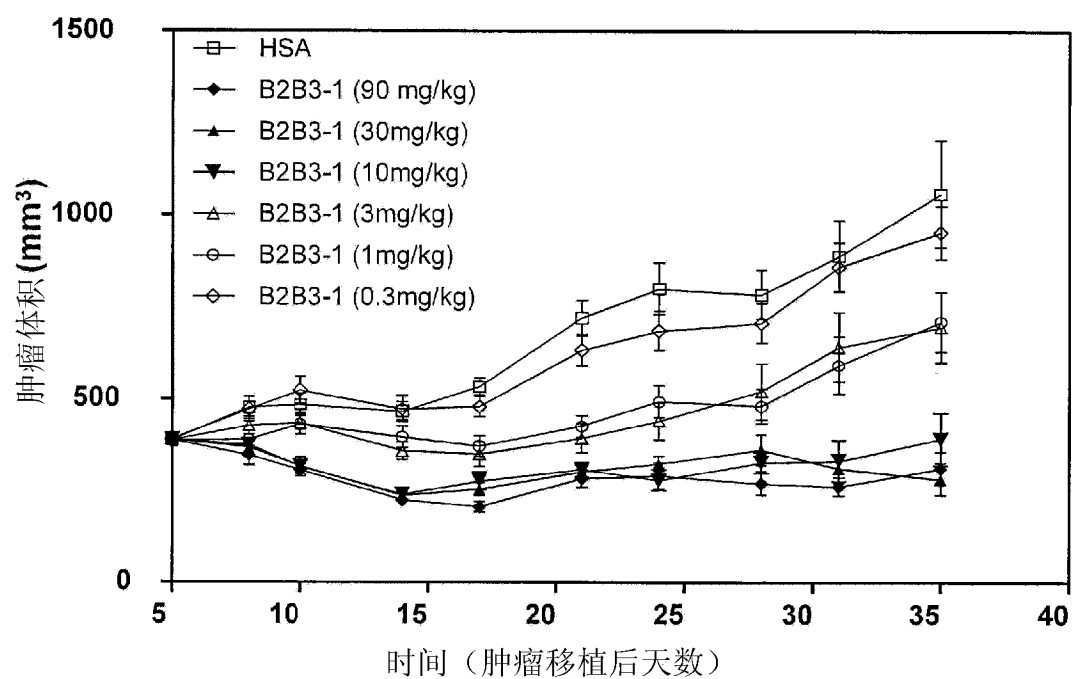


图 16

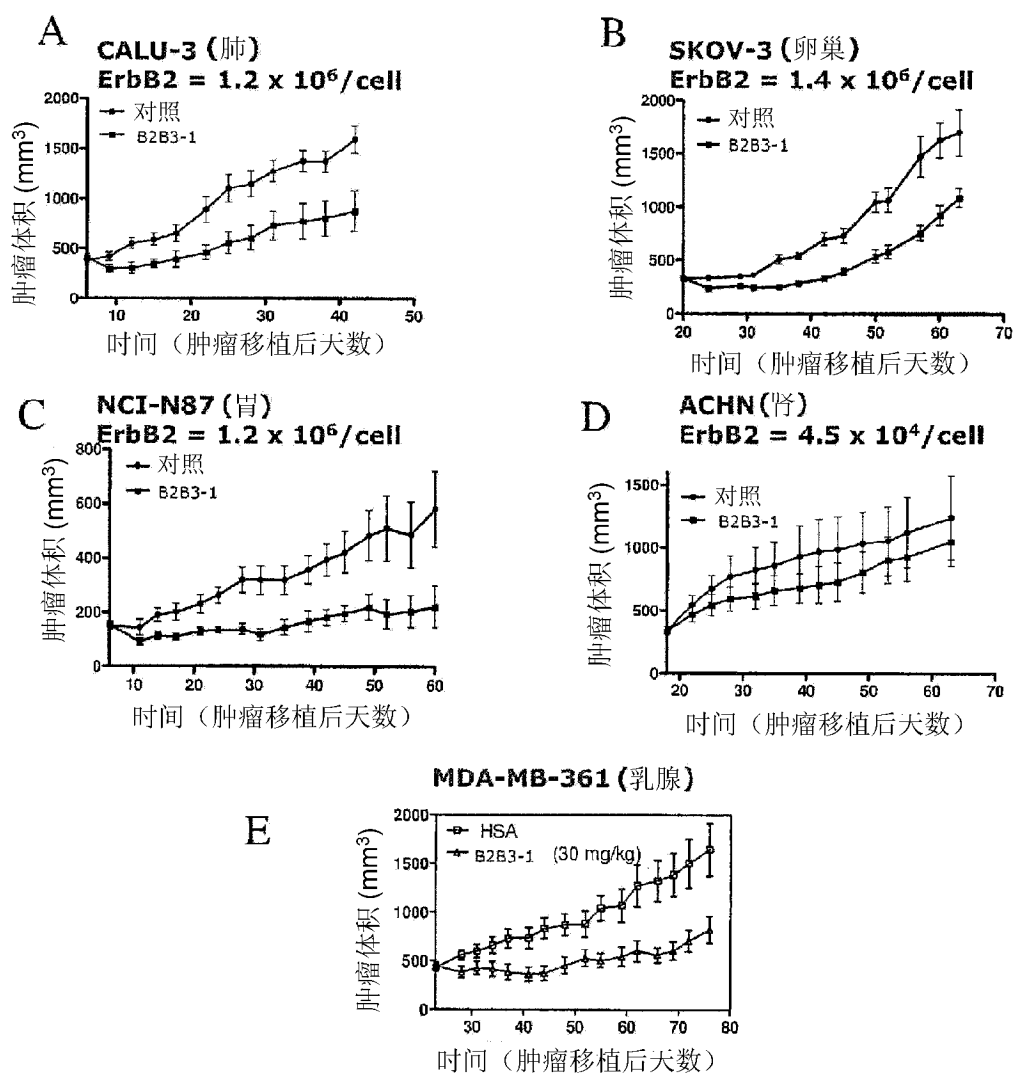


图 17

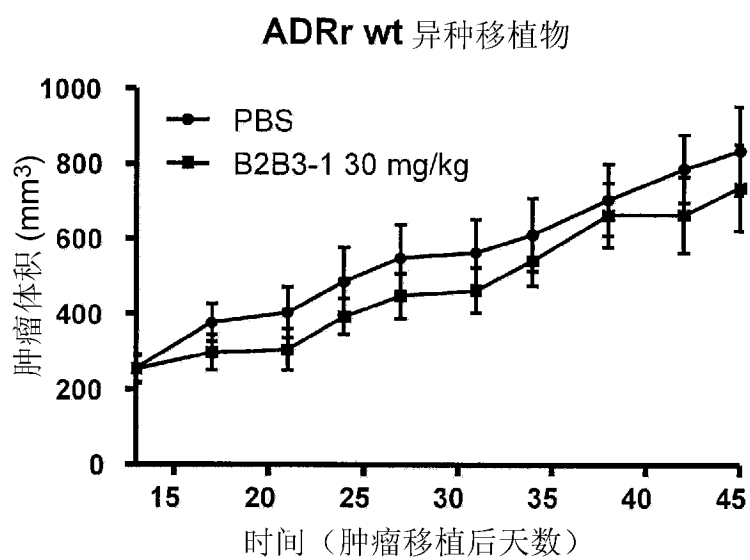


图 18A

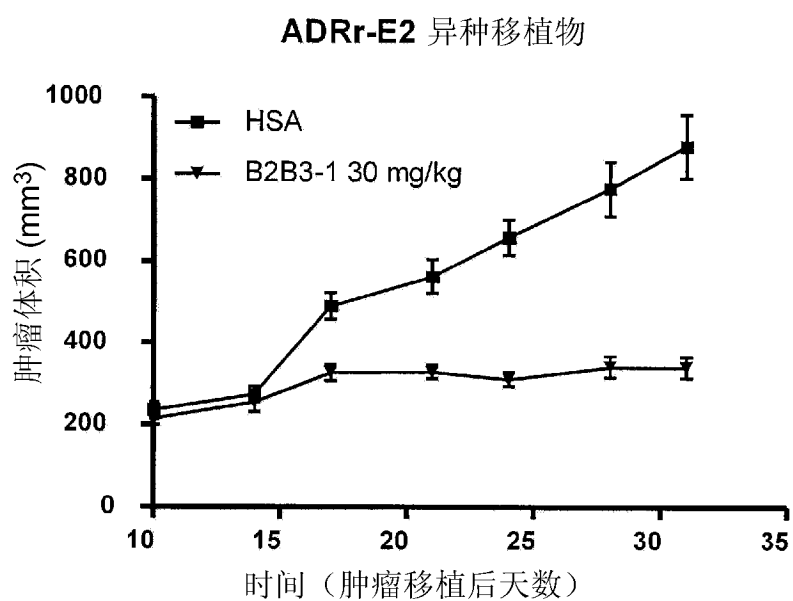


图 18B

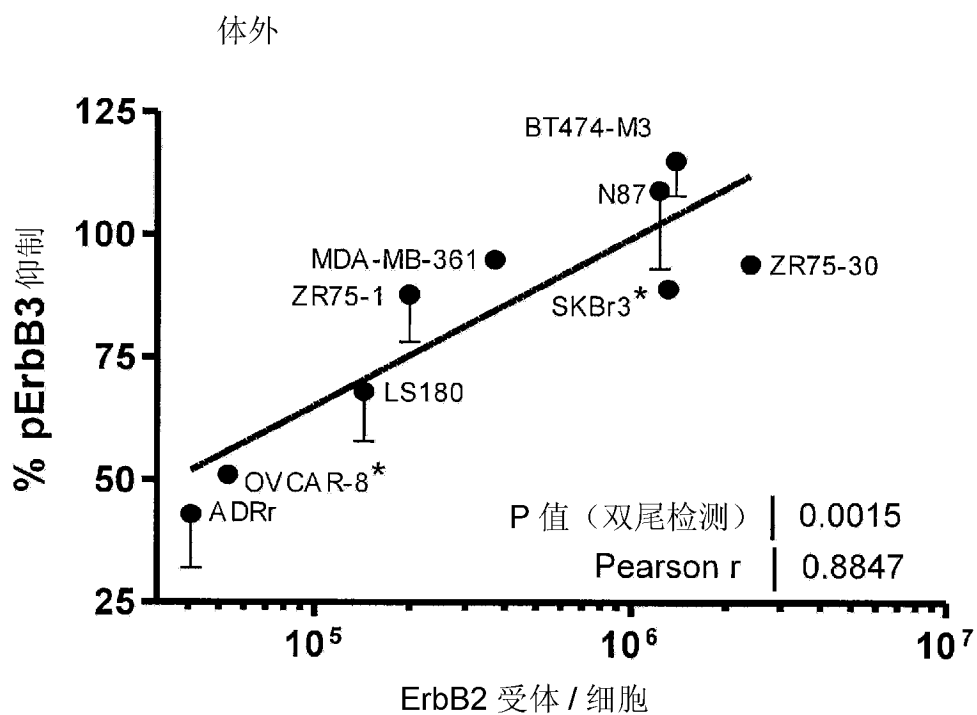


图 19A

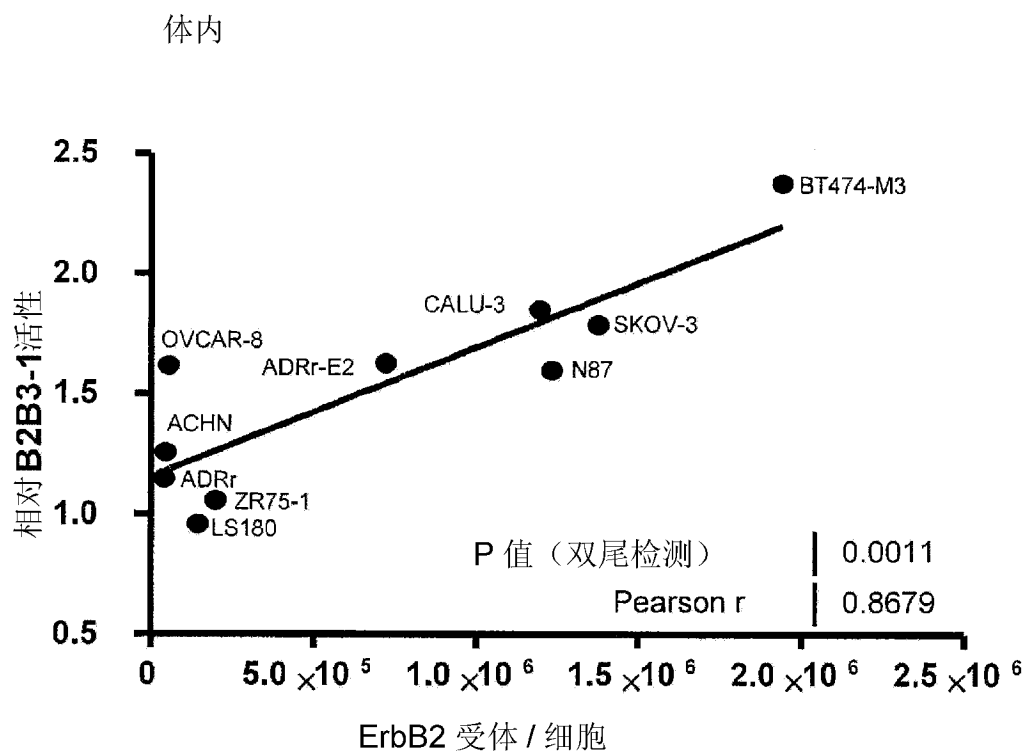


图 19B

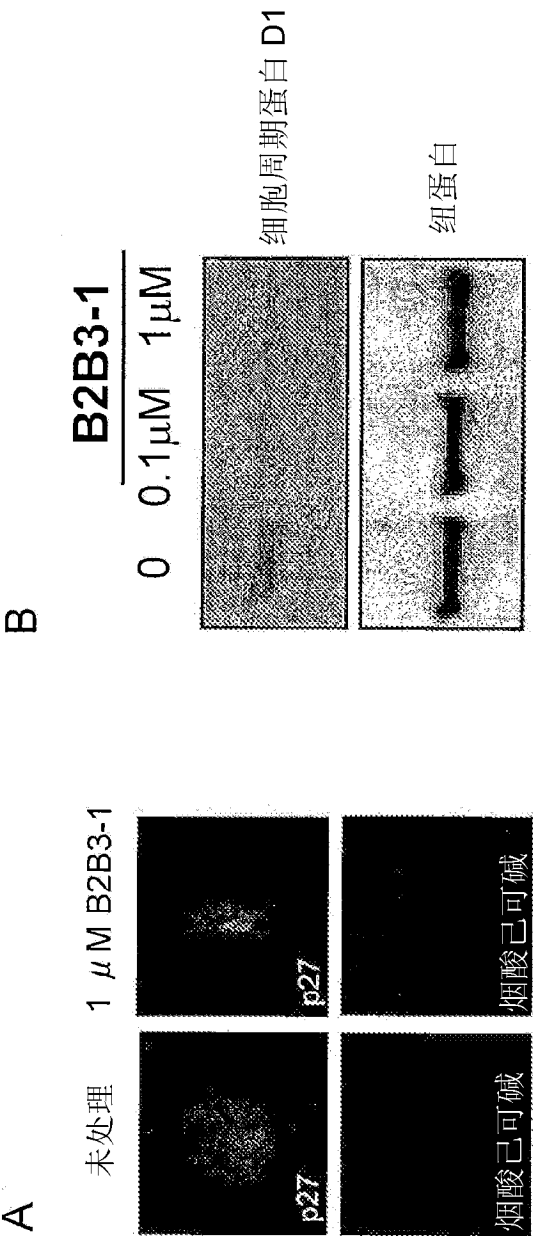


图 20

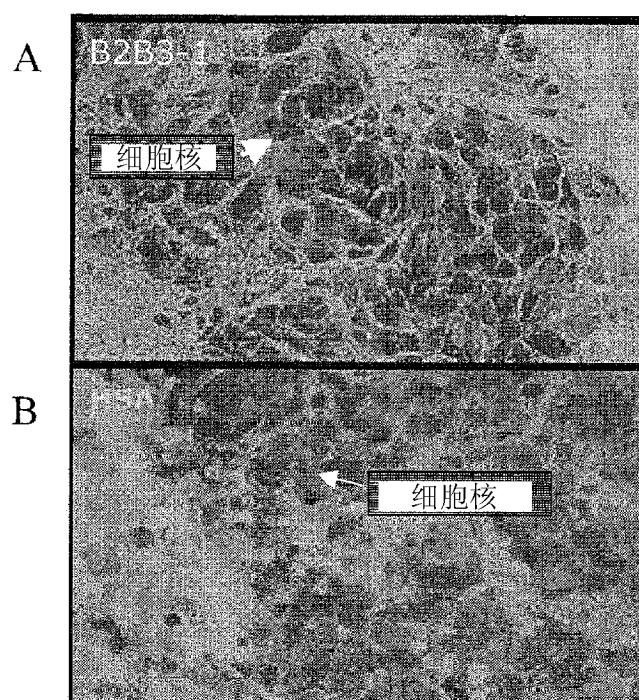


图 21

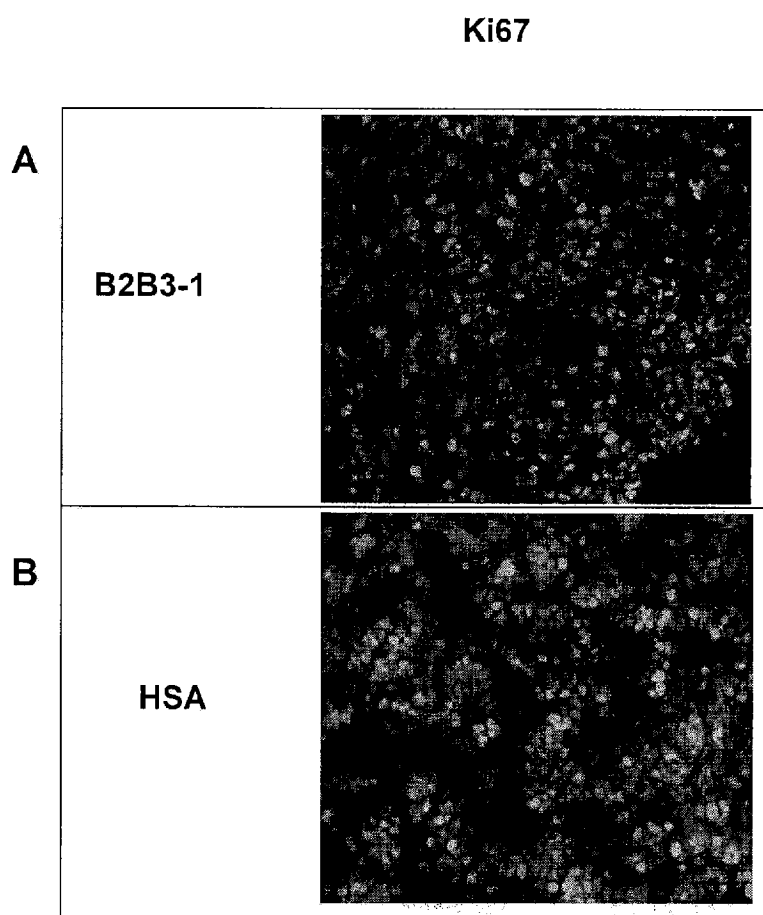


图 22

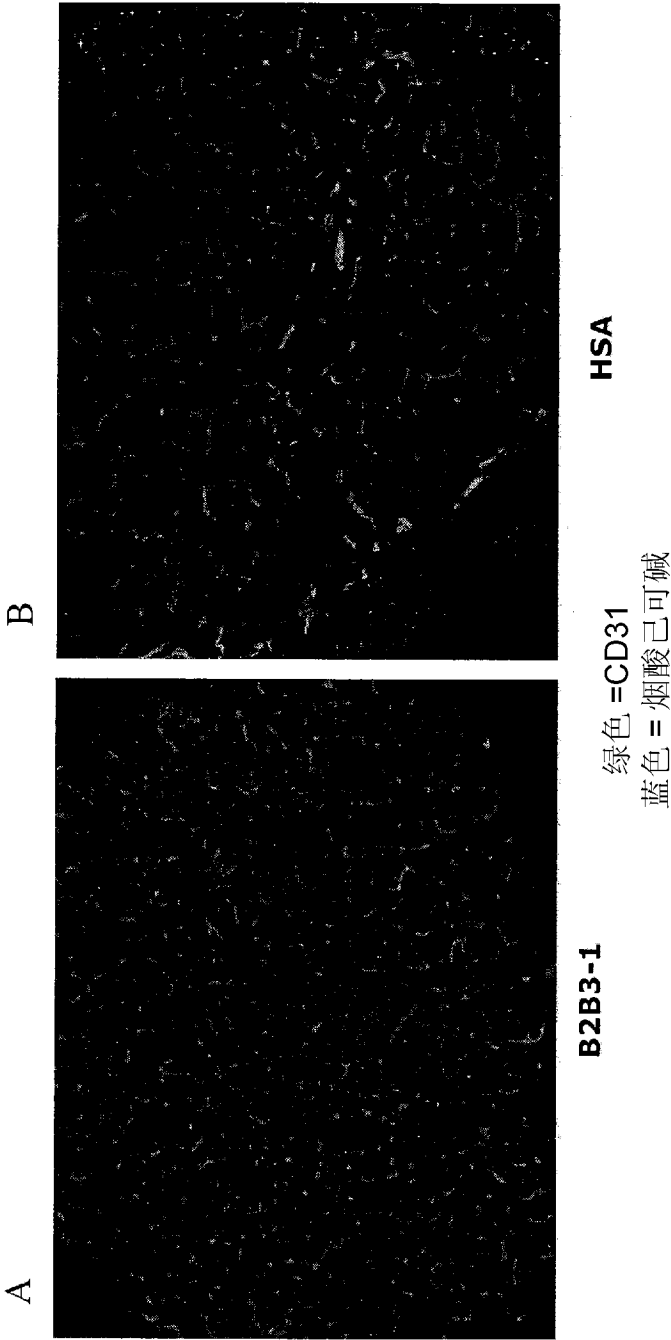


图 23



图 24

BT-474-M3对照

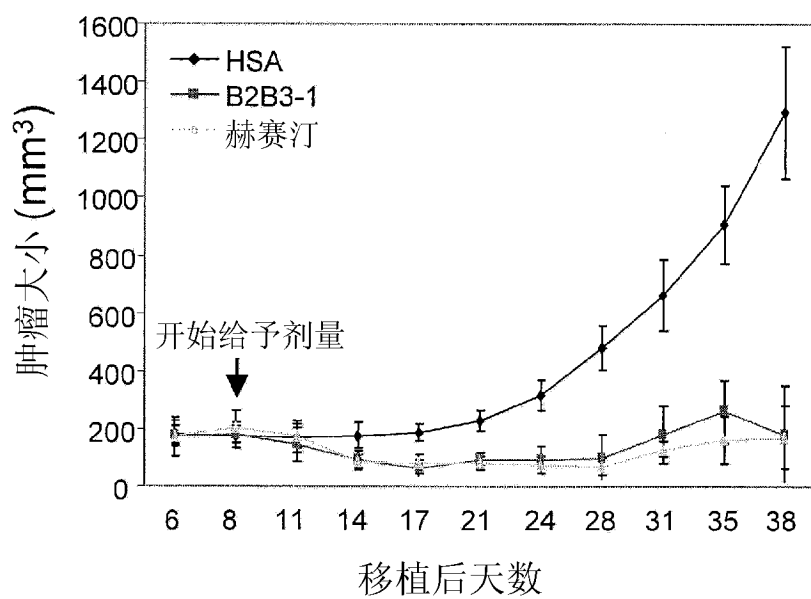


图 25A

BT-474-M3 PTEN 敲低

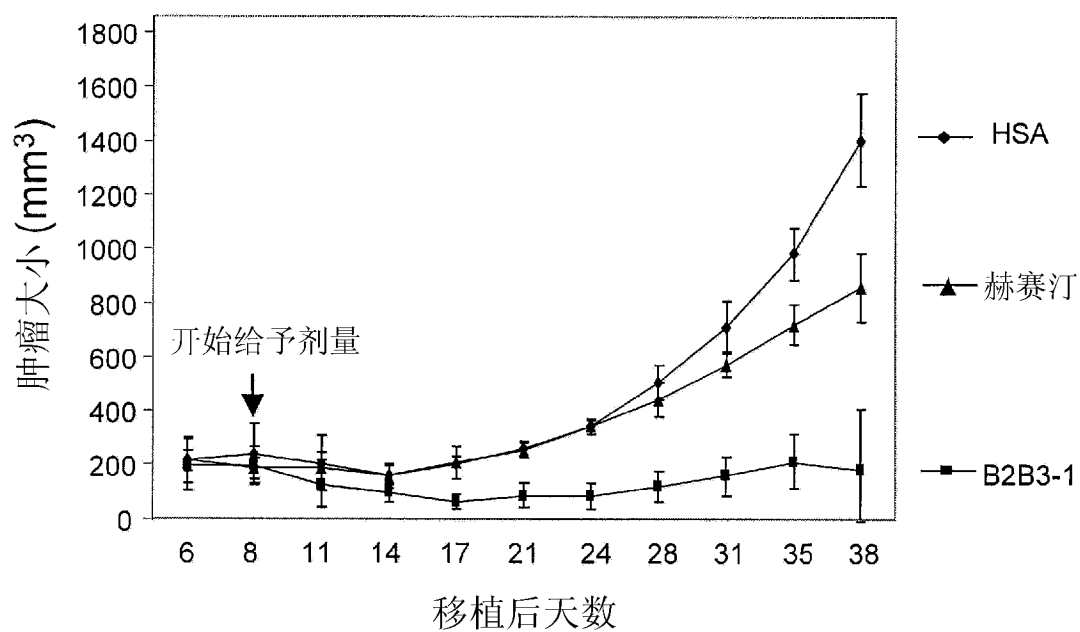


图 25B

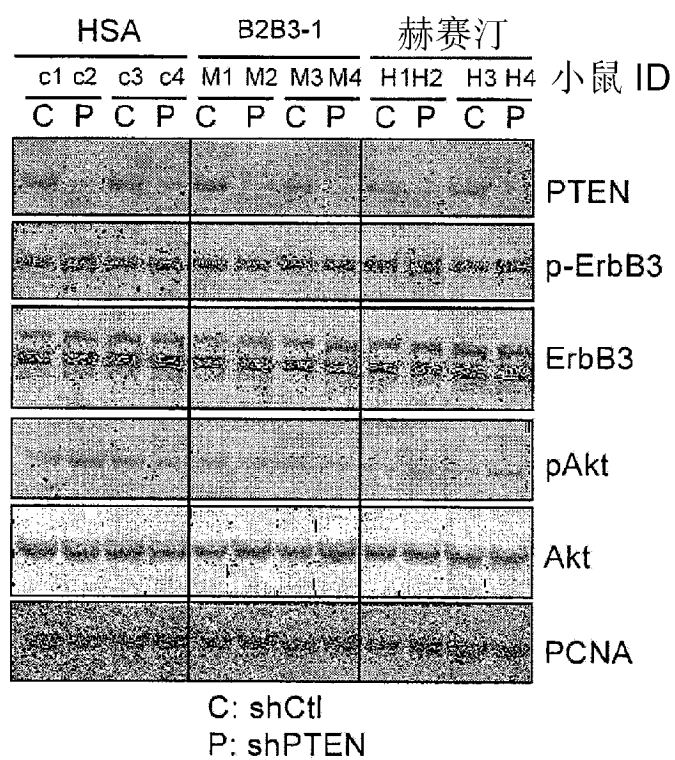


图 26A

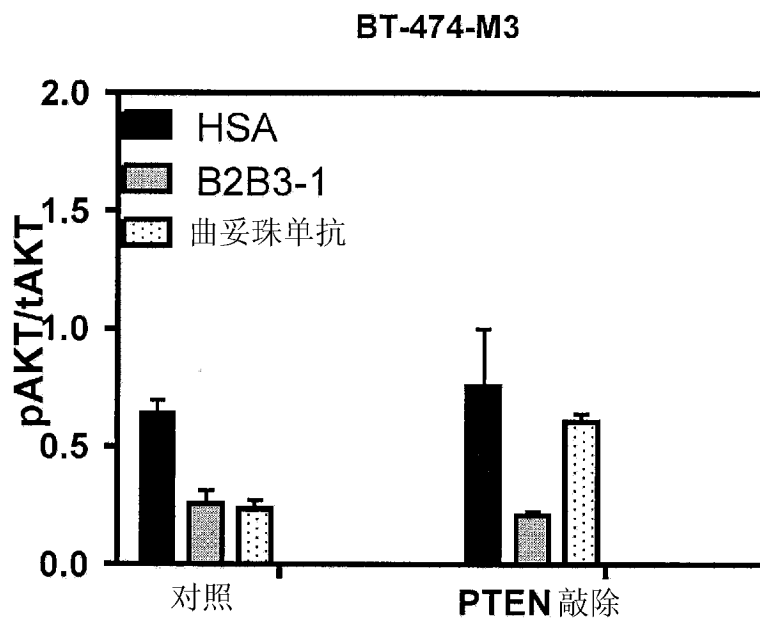


图 26B

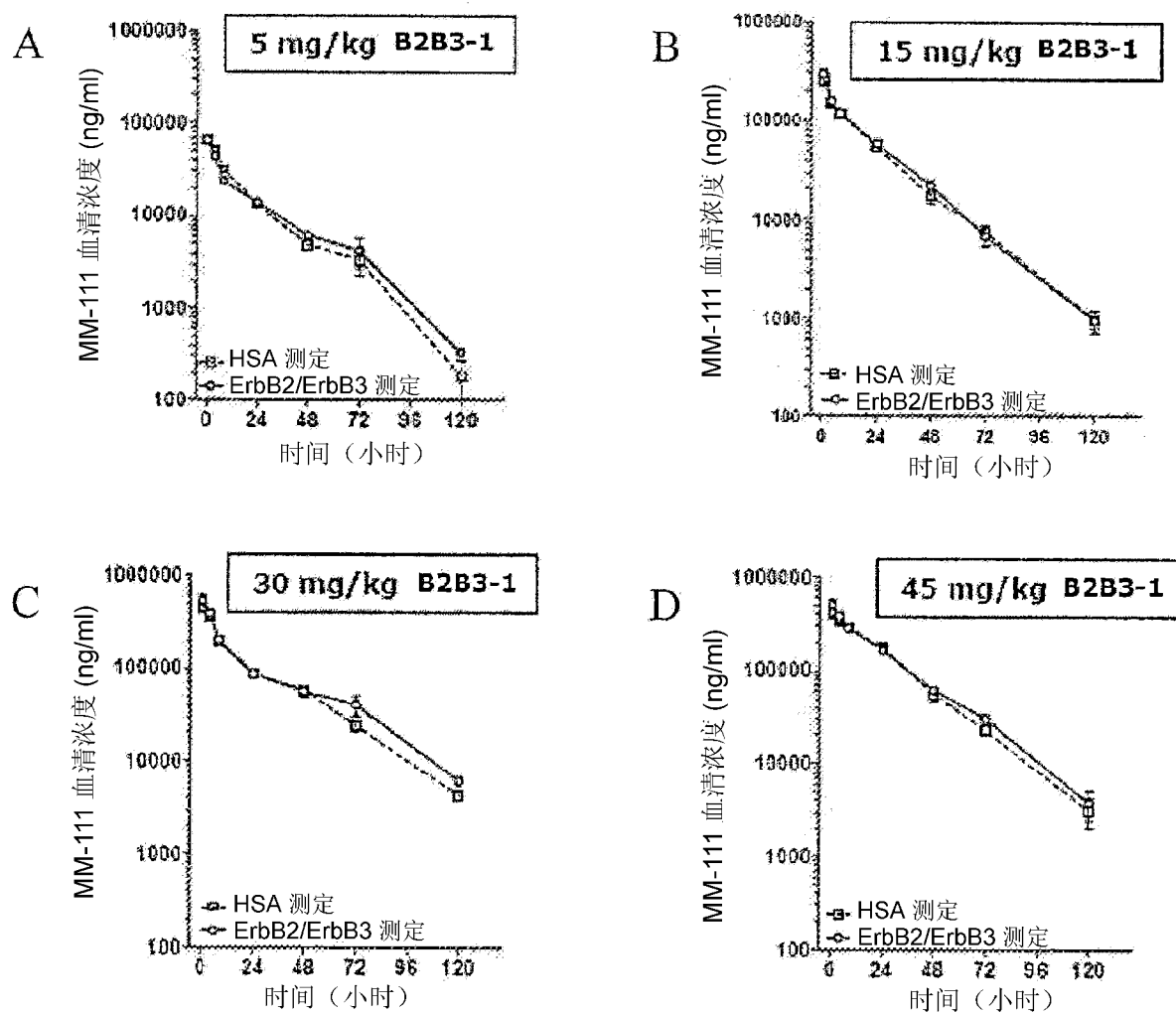


图 27

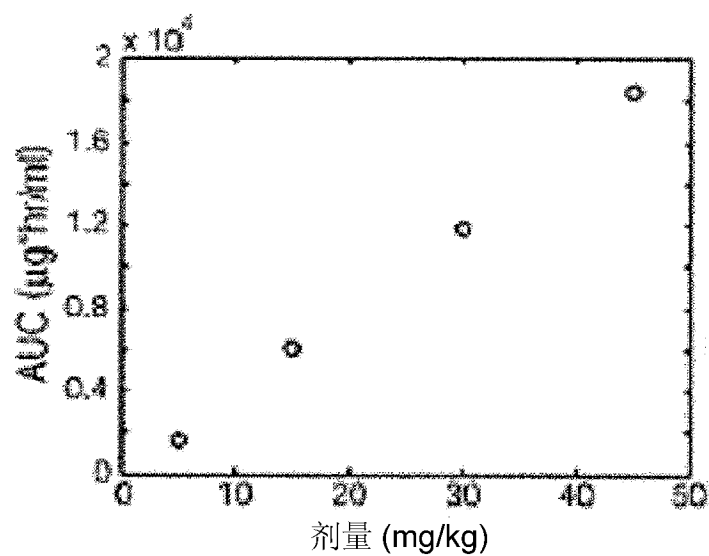


图 28

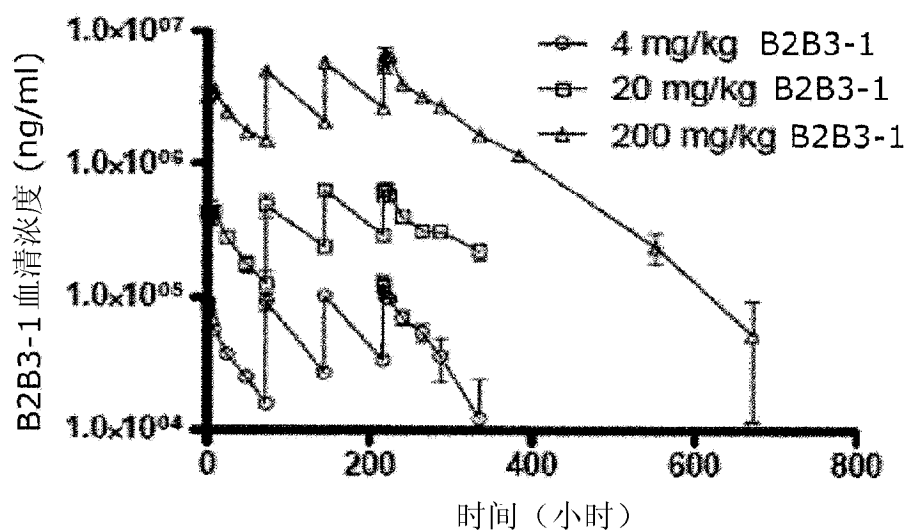


图 29

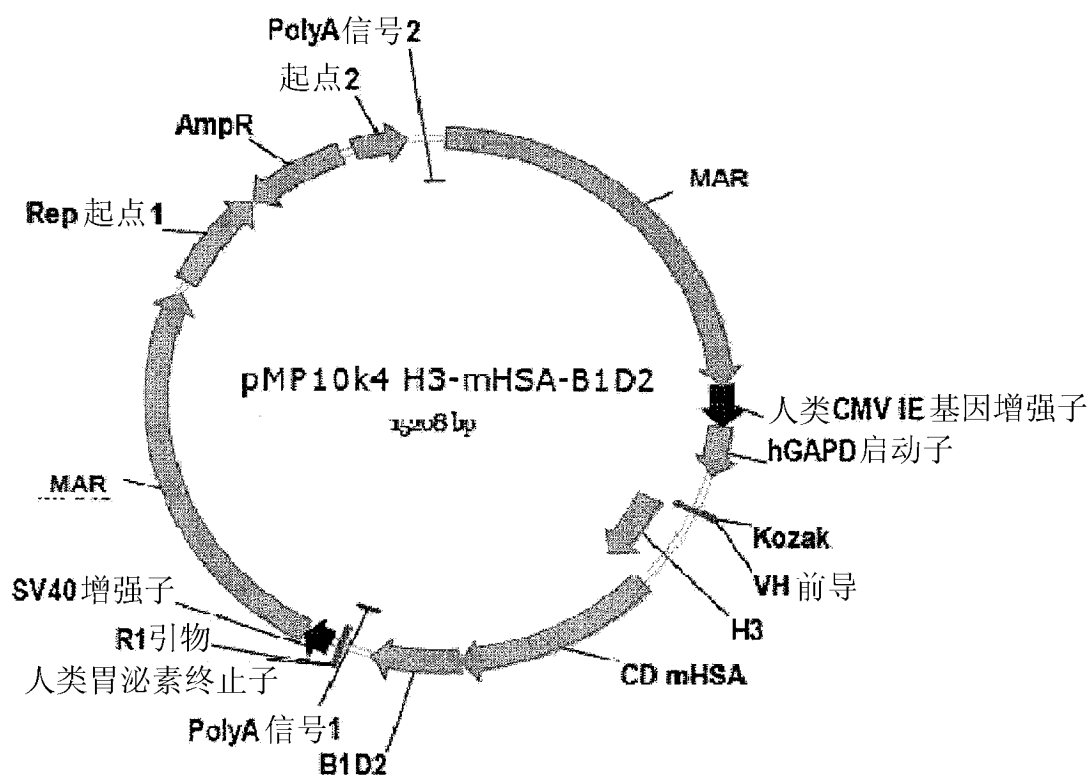


图 30

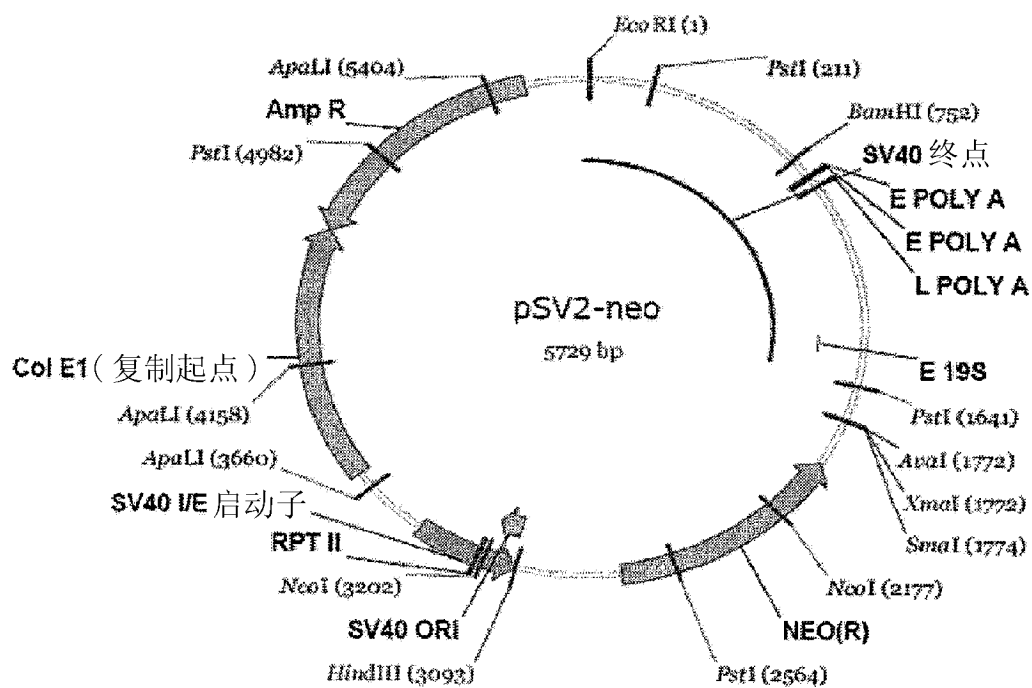


图 31

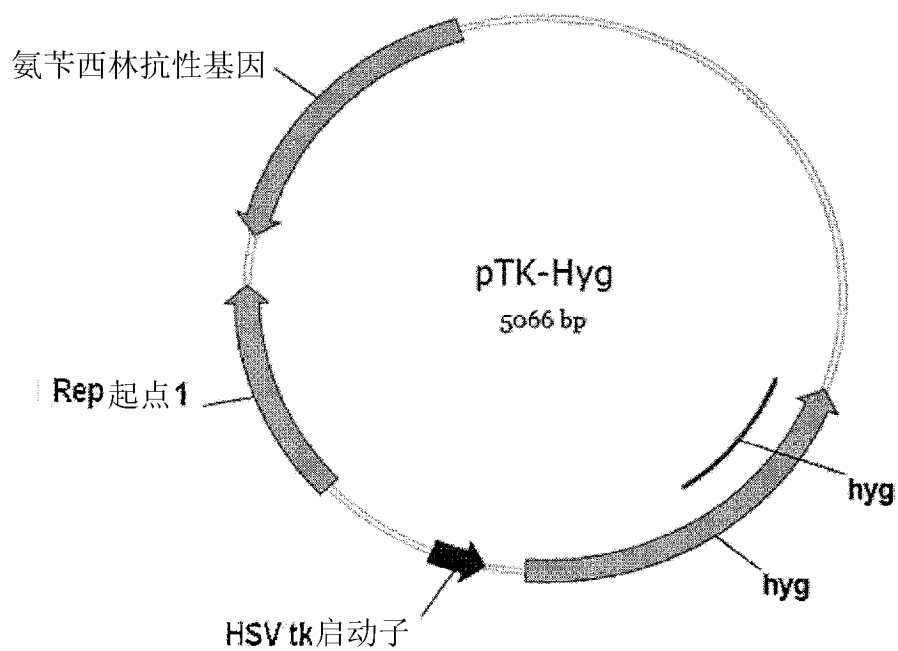


图 32

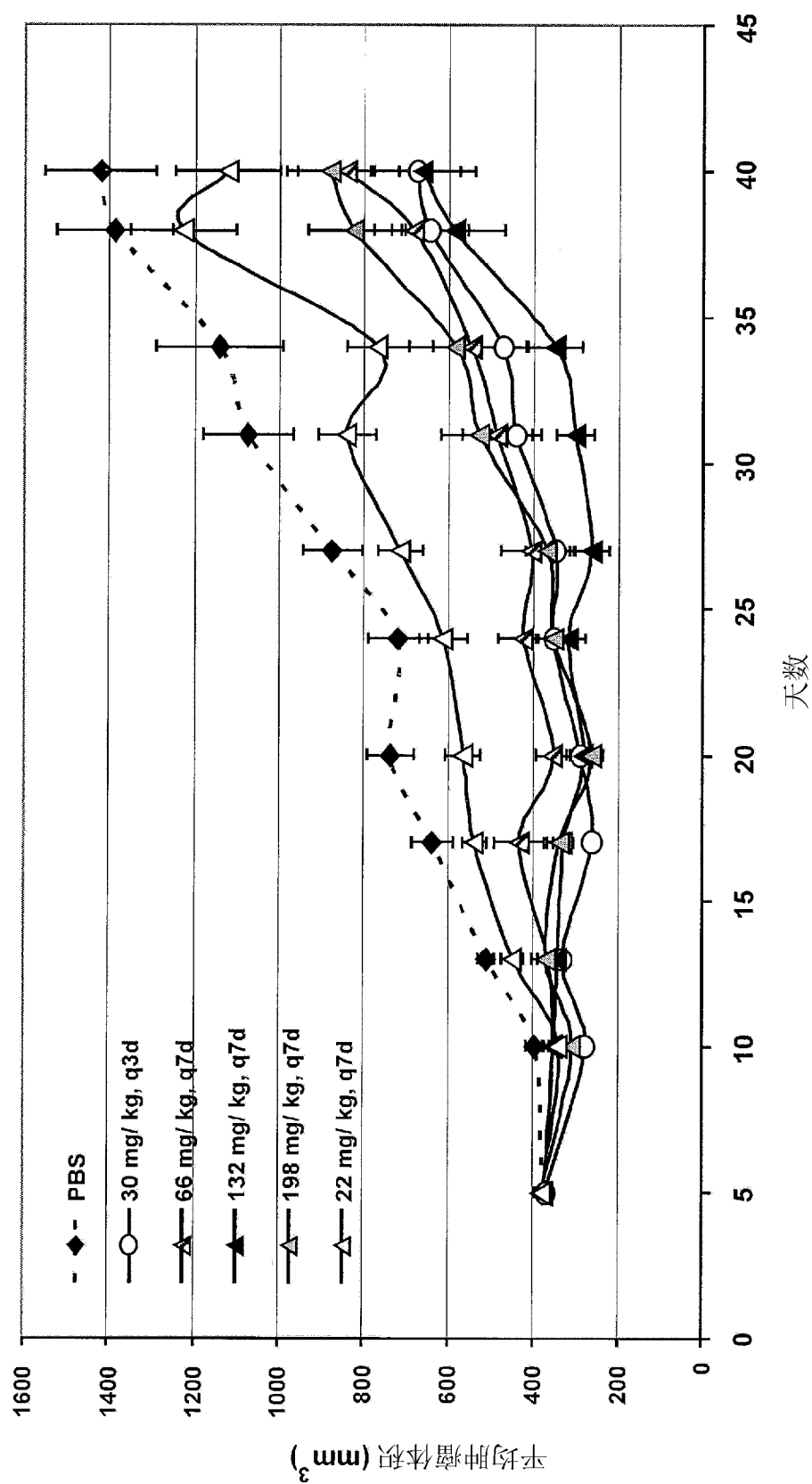


图 33

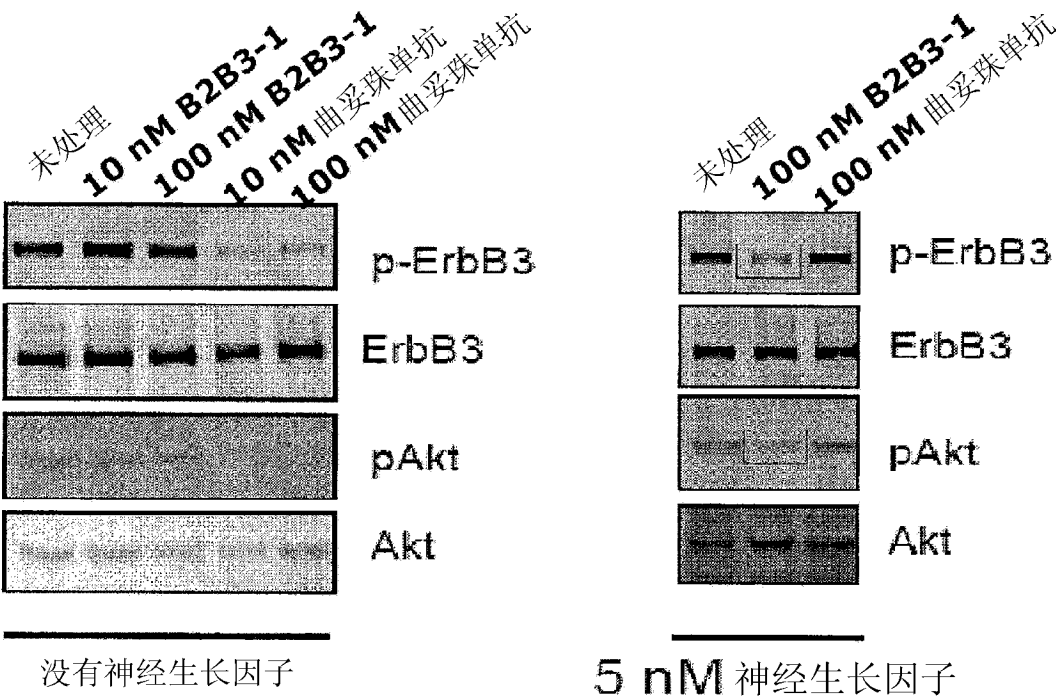


图 34

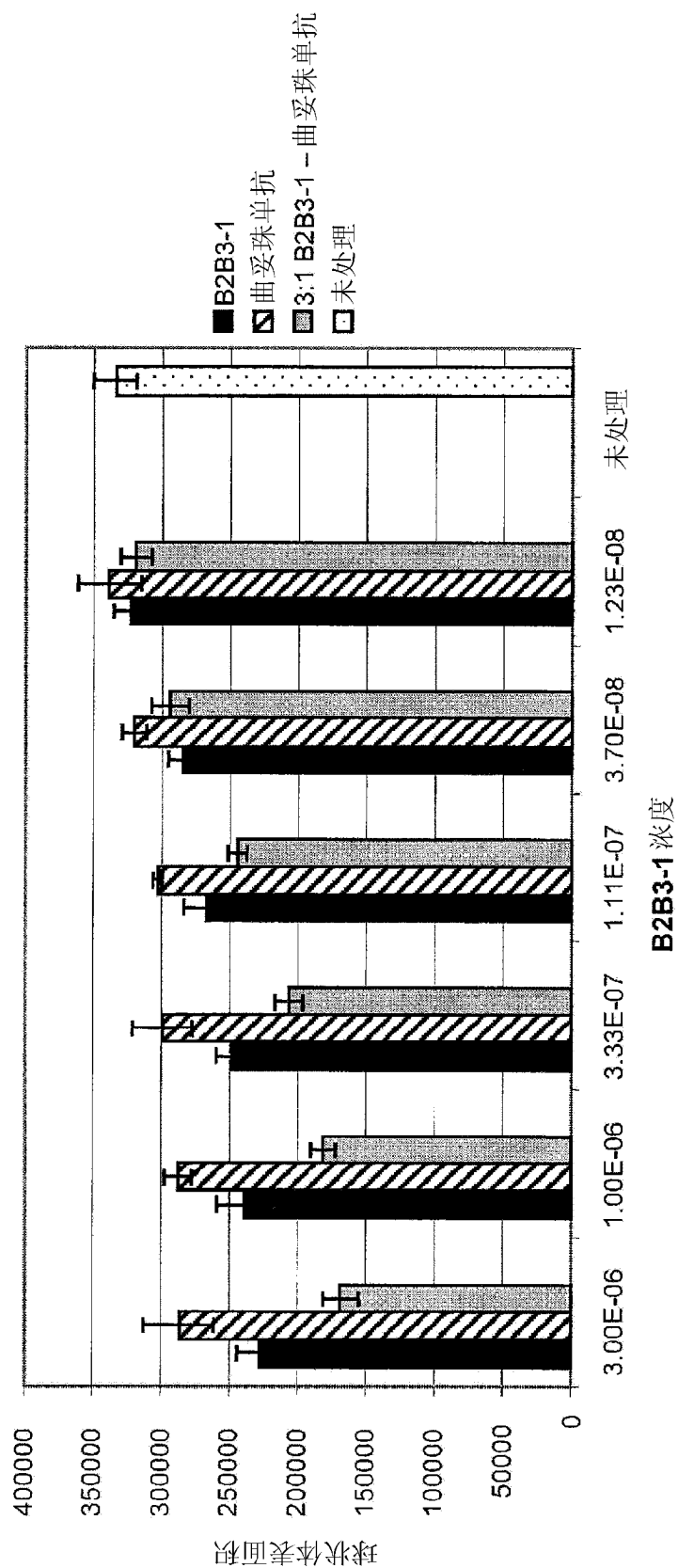


图 35A

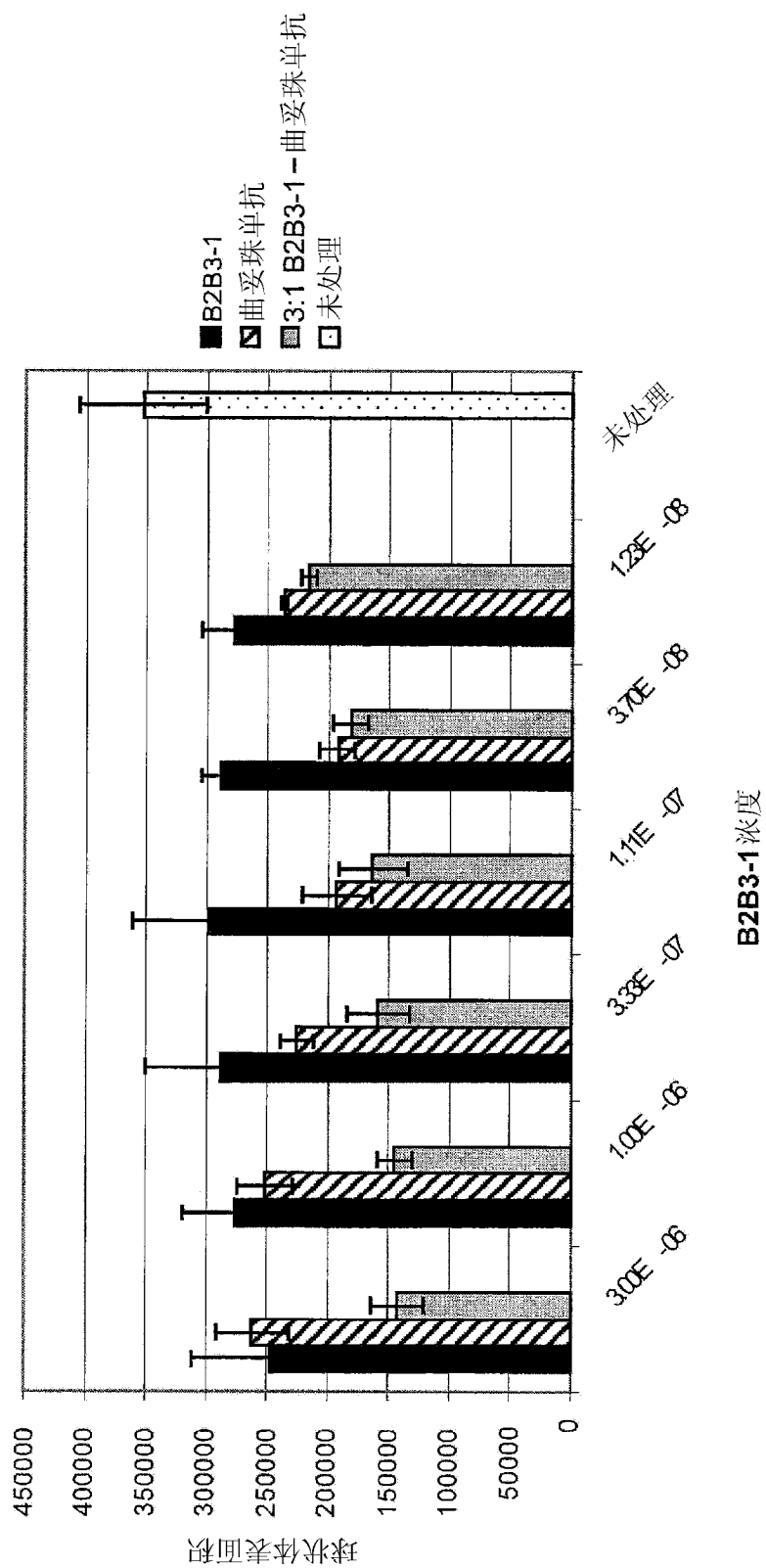


图 35B

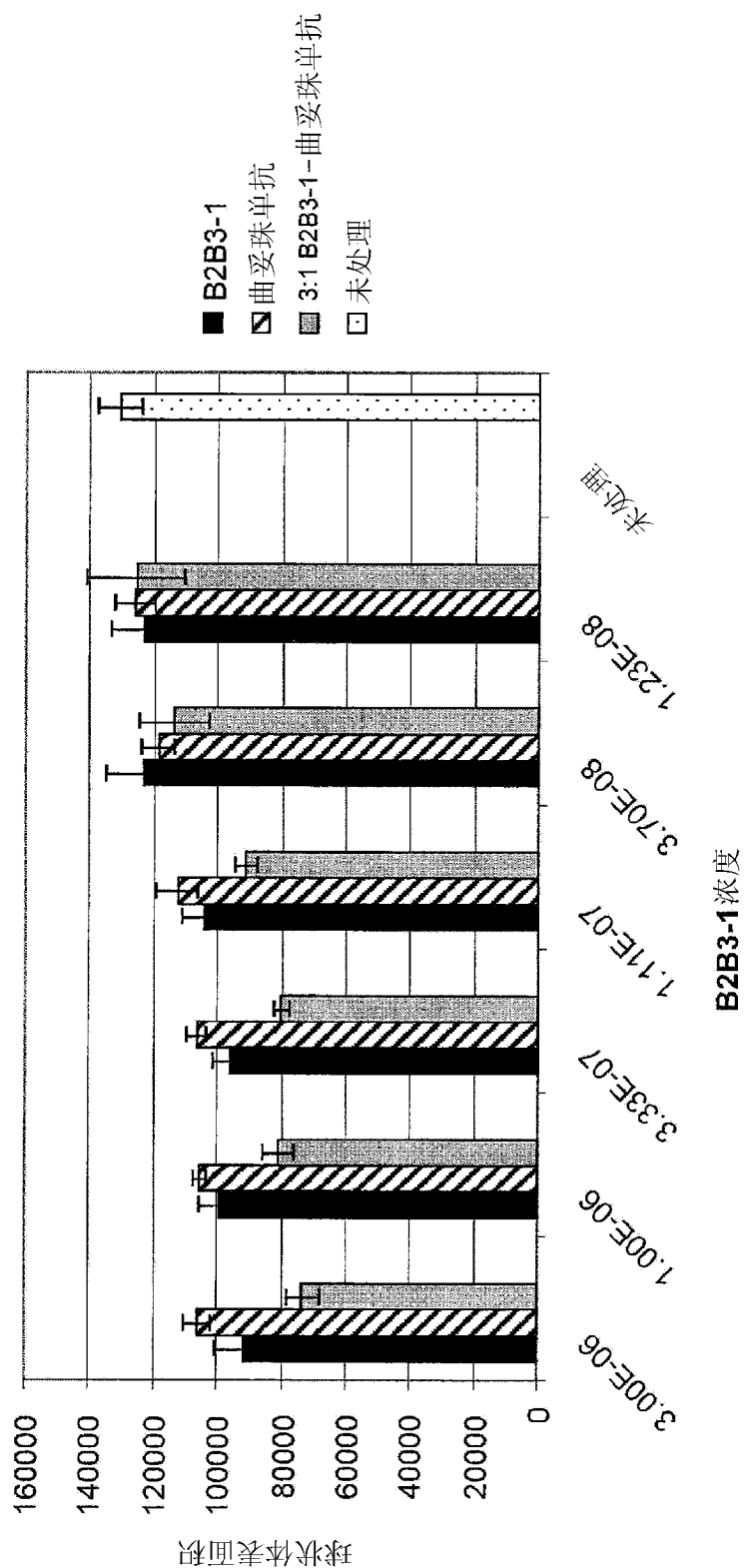


图 35C

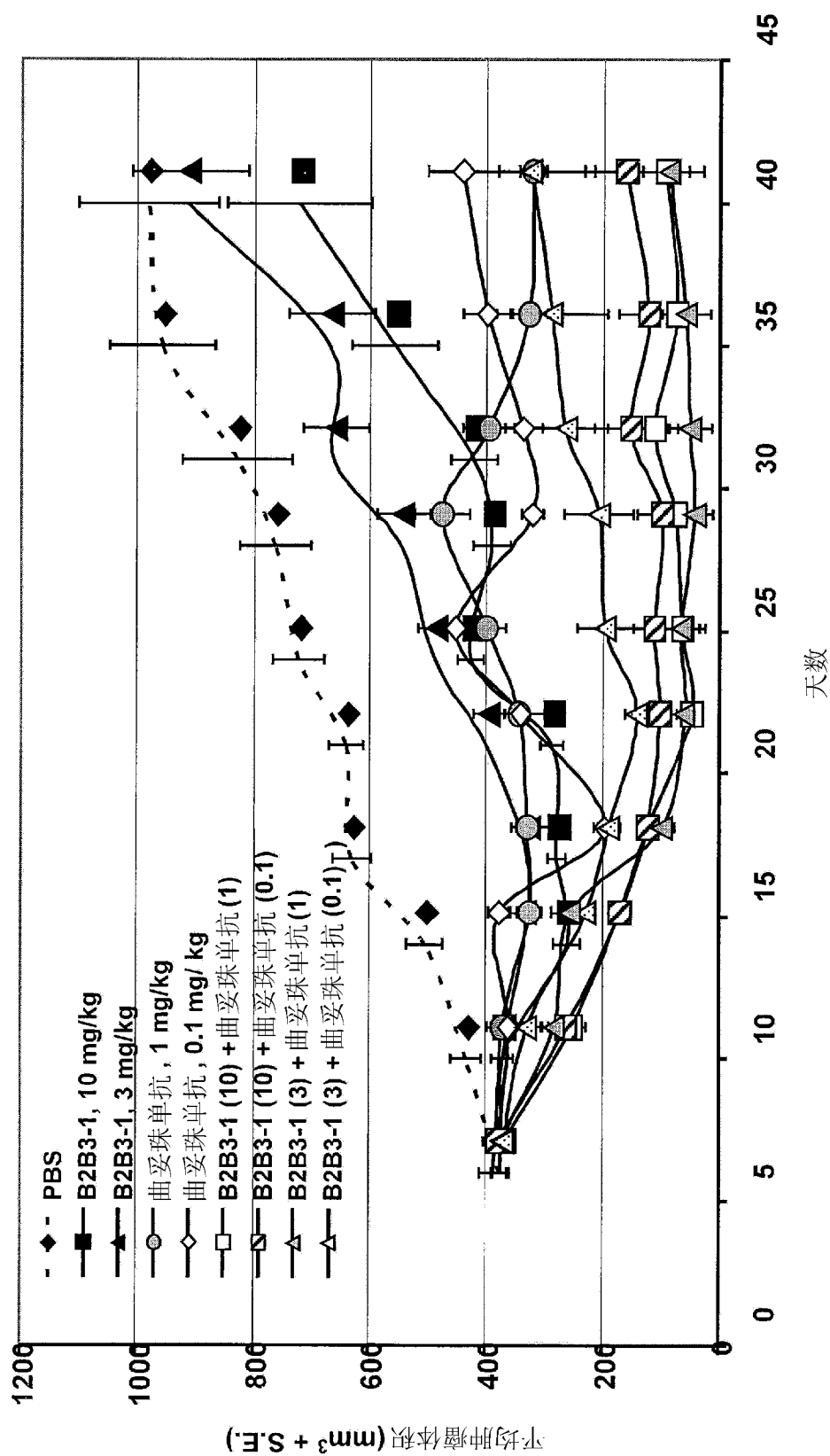


图 36

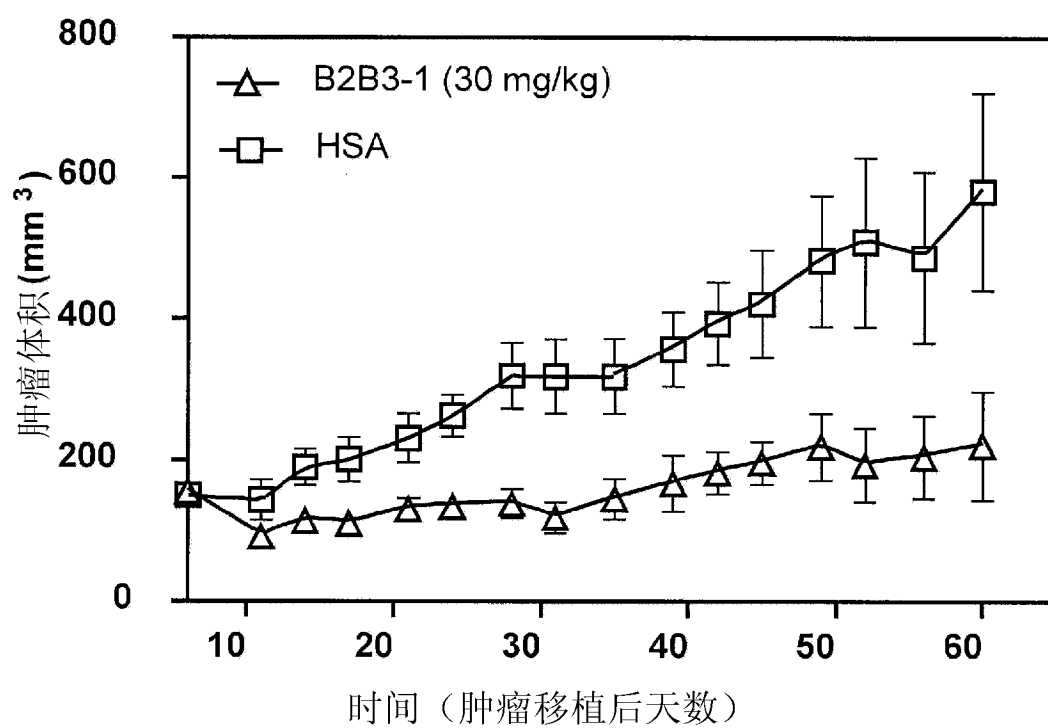


图 37

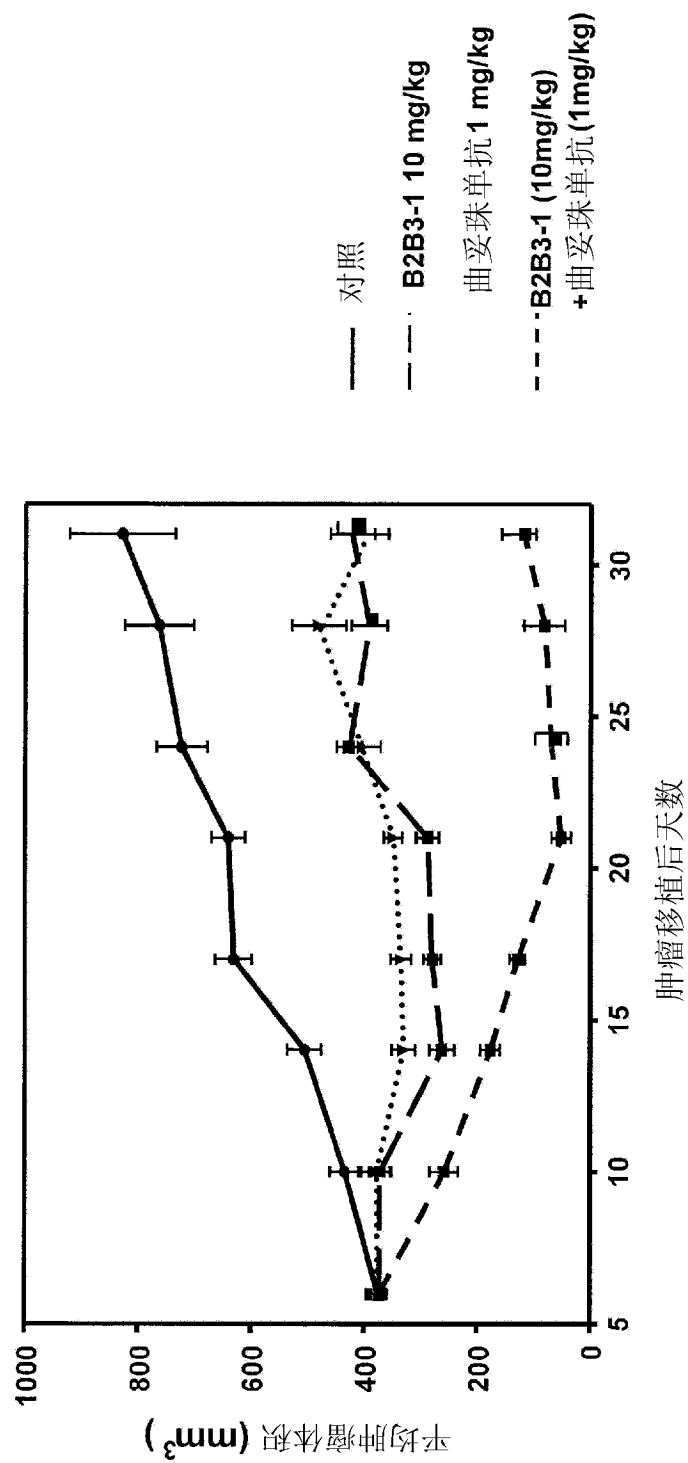


图 38