



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 117136073 A

(43) 申请公布日 2023. 11. 28

(21) 申请号 202280027834.4

(22) 申请日 2022.02.11

(30) 优先权数据

63/149,359 2021.02.14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.10.11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/016105 2022.02.11

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/174026 EN 2022.08.18

(71) 申请人 普罗塞纳生物科学有限公司

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 菲利普·詹姆斯三世·多兰

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

专利代理师 秦剑

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

权利要求书2页 说明书80页

序列表92页 附图4页

(54) 发明名称

使用识别TAU的抗体的方法

(57) 摘要

本发明提供了用结合至人tau的抗体治疗诸如阿尔茨海默病的tau蛋白病的方法。所述抗体抑制或延迟tau相关的病理和相关的症状恶化。

1. 一种减少受试者中细胞对tau的内化的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少细胞对tau的内化的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或所述其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

2. 一种降低受试者中tau诱导的毒性的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的降低tau诱导的毒性的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或所述其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

3. 一种减少或延迟受试者的行为缺陷发作的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少或延迟行为缺陷发作的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或所述其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

4. 一种降低受试者中tau病理的标志物水平的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的降低tau病理的标志物的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或所述其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

5. 一种减少受试者中tau病理的发展的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少tau病理的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或所述其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

6. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者具有阿尔茨海默病的病理特征。

7. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者患有阿尔茨海默病。

8. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段的所述CDR-L2包含SEQ ID NO:13。

9. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段的所述CDR-L2包含SEQ ID NO:168。

10. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段的所述重链可变区包含SEQ ID NO:18的成熟重链可变区,并且所述抗体或抗原结合片段的所述轻链可

变区包含SEQ ID NO:122的成熟轻链可变区。

11. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段是小鼠抗体的人源化型式,其特征在于SEQ ID NO:7的成熟重链可变区和SEQ ID NO:11的成熟轻链可变区。

12. 如前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体包含轻链,所述轻链包含与轻链恒定区融合的成熟轻链可变区;和重链,所述重链包含与重链恒定区融合的成熟重链可变区。

13. 如权利要求12所述的方法,其中所述抗体的所述重链恒定区包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列,具有或不具有C末端赖氨酸。

14. 如权利要求12所述的方法,其中与所述重链恒定区融合的所述成熟重链可变区包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列,具有或不具有C末端赖氨酸。

15. 如权利要求12所述的方法,其中所述抗体还包含与所述成熟重链和/或轻链可变区融合的信号肽。

16. 如权利要求15所述的方法,其中所述重链包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列,具有或不具有C末端赖氨酸。

17. 如权利要求12所述的方法,其中所述抗体的所述轻链恒定区包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列。

18. 如权利要求12所述的方法,其中与轻链恒定区融合的所述成熟轻链可变区包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列。

19. 如权利要求18所述的方法,其中所述轻链包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列。

20. 如权利要求14所述的方法,其中所述重链包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列,具有或不具有C末端赖氨酸,并且所述轻链包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列。

21. 如权利要求16所述的方法,其中所述重链包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列,具有或不具有C末端赖氨酸,并且所述轻链包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列。

22. 如权利要求12所述的方法,其中所述抗体在所述恒定区中包含至少一个突变。

23. 如权利要求22所述的方法,其中所述抗体在所述恒定区中包含至少一个突变,其中相对于天然人重链恒定区,所述突变减少所述恒定区的补体固定或活化或减少与Fc γ 受体的结合。

24. 如权利要求23所述的方法,其中所述抗体包含在根据EU编号的位置241、264、265、270、296、297、318、320、322、329和331中的一个或多个处的突变或在位置318、320和322处的丙氨酸。

使用识别TAU的抗体的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2021年2月14日提交的美国临时申请63/149,359的权益,所述临时申请出于所有目的以引用的方式整体并入。本申请涉及2020年3月3日提交的美国申请第16/808,209号,其要求2019年3月3日提交的美国临时申请第62/813,126号、2019年3月3日提交的美国临时申请第62/813,137号和2019年4月24日提交的美国临时申请第62/838,159号的优先权,所述临时申请各自出于所有目的以引用的方式整体并入。

[0003] 对序列表的引用

[0004] 本申请包括2022年2月11日创建的名称为574677SEQLIST.TXT并含有168,698字节的文件的电子序列表,所述电子序列表特此出于所有目的以引用的方式整体并入。

[0005] 发明背景

[0006] Tau是可以磷酸化形式存在的众所周知的人蛋白(参见,例如,Goedert, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85:4051-4055(1988);Goedert,EMBO J.8:393-399(1989); Lee,Neuron 2:1615-1624(1989);Goedert,Neuron 3:519-526(1989);Andreadis, Biochemistry 31:10626-10633(1992)。据报道,Tau在稳定微管方面、尤其是在中枢神经系统中发挥作用。总tau(t-tau,即磷酸化和非磷酸化形式)和磷酸化-tau(p-tau,即磷酸化tau)由大脑响应于神经元损伤和神经变性而释放,并且据报道,相对于普通人群其在阿尔茨海默病患者的CSF中的水平升高(Jack等人,Lancet Neurol 9:119-28(2010))。

[0007] Tau是神经原纤维缠结的主要成分,其与斑块一起是阿尔茨海默病的标志性特征。缠结构成直径测量为10nm的异常原纤维,其成对出现,以螺旋方式缠绕,具有80nm的规则周期性。神经原纤维缠结内的tau被异常磷酸化(过度磷酸化),其中磷酸酯基团附接于分子上的特定位置。在阿尔茨海默病中的内嗅皮质的II层神经元、海马的CA1和钩回下区、杏仁核以及新皮质的深层(III层、V层和表层VI)中观察到神经原纤维缠结的严重受累。另外已有报道,过度磷酸化的tau干扰微管组装,这可能加速神经元网络的破坏。

[0008] Tau包涵体是几种神经变性疾病的决定性神经病理学的一部分,所述疾病包括阿尔茨海默病、额颞叶变性、进行性核上性麻痹和皮克氏病(Pick's disease)。

发明内容

[0009] 在一个方面,本发明提供了一种减少受试者中细胞对tau的内化的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少细胞对tau的内化的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0010] 在另一个方面,本发明提供一种降低受试者中tau诱导的毒性的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的降低tau诱导的毒性的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:

8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0011] 在另一个方面,本发明提供了一种减少或延迟受试者的行为缺陷发作的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少或延迟行为缺陷发作的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0012] 在另一个方面,本发明提供了一种降低受试者中tau病理的标志物水平的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的降低tau病理的标志物的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0013] 在另一个方面,本发明提供了一种减少受试者中tau病理的发展的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少tau病理的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0014] 在一些方法中,受试者具有阿尔茨海默病的病理特征。在一些方法中,受试者患有阿尔茨海默病。

[0015] 在一些方法中,抗体或抗原结合片段的CDR-L2包含SEQ ID NO:13。在一些方法中,抗体或抗原结合片段的CDR-L2包含SEQ ID NO:168。

[0016] 在一些方法中,抗体或抗原结合片段的轻链可变区包含SEQ ID NO:122的成熟轻链可变区。在一些方法中,抗体或抗原结合片段是小鼠抗体的人源化型式,其特征在于SEQ ID NO:7的成熟重链可变区和SEQ ID NO:11的成熟轻链可变区。

[0017] 在一些方法中,抗体包含轻链,所述轻链包含与轻链恒定区融合的成熟轻链可变区;和重链,所述重链包含与重链恒定区融合的成熟重链可变区。

[0018] 在一些方法中,抗体的重链恒定区包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列(具有或不具有C末端赖氨酸)。在一些方法中,与重链恒定区融合的成熟重链可变区包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列(具有或不具有C末端赖氨酸)。

[0019] 在一些方法中,抗体还包含与成熟重链和/或轻链可变区融合的信号肽。在一些方法中,重链包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列(具有或不具有C末端赖氨酸)。

[0020] 在一些方法中,抗体的轻链恒定区包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列。在一些方法中,与轻链恒定区融合的成熟轻链可变区包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列。在一些方法中,轻链包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列。

[0021] 在一些方法中,重链包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列(具有或不具有C末端赖氨酸),并且轻链包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列。在一些方法中,重链包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列(具有或不具有C末端赖氨酸),并且轻链包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列。

[0022] 在一些方法中,抗体在恒定区中包含至少一个突变。在一些方法中,抗体在恒定区中包含至少一个突变,其中相对于天然人重链恒定区,所述突变减少恒定区的补体固定或活化或减少与Fc γ 受体的结合。在一些方法中,抗体包含在根据EU编号的位置241、264、265、270、296、297、318、320、322、329和331中的一个或多个处的突变或在位置318、320和322处的丙氨酸。

附图说明

[0023] 图1示出小鼠3D6和hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4的tau内化测定的结果。

[0024] 图2A和2B示出小鼠3D6中断阿尔茨海默病的体内疾病模型中的tau接种。

[0025] 图3示出小鼠3D6处理减少转基因tau模型中的病理性tau并改善行为缺陷。

[0026] 图4示出小鼠3D6保护小鼠原代皮层神经元免受tau诱导的毒性。

[0027] 序列简要说明

[0028] SEQ ID NO:1列出了人tau的同种型的氨基酸序列(Swiss-Prot P10636-8)。

[0029] SEQ ID NO:2列出了人tau的同种型的氨基酸序列(Swiss-Prot P10636-7)。

[0030] SEQ ID NO:3列出了人tau的同种型的氨基酸序列(Swiss-Prot P10636-6), (4R0N人tau)。

[0031] SEQ ID NO:4列出了人tau的同种型的氨基酸序列(Swiss-Prot P10636-5)。

[0032] SEQ ID NO:5列出了人tau的同种型的氨基酸序列(Swiss-Prot P10636-4)。

[0033] SEQ ID NO:6列出了人tau的同种型的氨基酸序列(Swiss-Prot P10636-2)。

[0034] SEQ ID NO:7列出了小鼠3D6抗体的重链可变区的氨基酸序列。

[0035] SEQ ID NO:8列出了小鼠3D6抗体的Kabat/Chothia复合物CDR-H1的氨基酸序列。

[0036] SEQ ID NO:9列出了小鼠3D6抗体的Kabat CDR-H2的氨基酸序列。

[0037] SEQ ID NO:10列出了小鼠3D6抗体的Kabat CDR-H3的氨基酸序列。

[0038] SEQ ID NO:11列出了小鼠3D6抗体和小鼠6A10抗体的轻链可变区的氨基酸序列。

[0039] SEQ ID NO:12列出了小鼠3D6抗体和小鼠6A10抗体的Kabat CDR-L1的氨基酸序列。

[0040] SEQ ID NO:13列出了小鼠3D6抗体和小鼠6A10抗体的Kabat CDR-L2的氨基酸序列。

[0041] SEQ ID NO:14列出了小鼠3D6抗体和小鼠6A10抗体的Kabat CDR-L3的氨基酸序列。

[0042] SEQ ID NO:15列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1的重链可变区的氨基酸序列。

[0043] SEQ ID NO:16列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv2的重链可变区的氨基酸序列。

[0044] SEQ ID NO:17列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1b的重链可变区的氨基酸序列。

[0045] SEQ ID NO:18列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1bA11的重链可变区的氨基酸序列。

[0046] SEQ ID NO:19列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv5的重链可变区的氨基酸序列。

[0047] SEQ ID NO:20列出了人源化3D6抗体hu3D6VLv1的轻链可变区的氨基酸序列。

- [0048] SEQ ID NO:21列出了人源化3D6抗体hu3D6VLv2的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0049] SEQ ID NO:22列出了人源化3D6抗体hu3D6VLv3的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0050] SEQ ID NO:23列出了人源化3D6抗体hu3D6VLv4的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0051] SEQ ID NO:24列出了重链可变受体登录号BAC01986.1的氨基酸序列。
- [0052] SEQ ID NO:25列出了重链可变受体登录号IMGT#IGHV1-69-2*01的氨基酸序列。
- [0053] SEQ ID NO:26列出了重链可变受体登录号IMGT#IGKJ1*01的氨基酸序列。
- [0054] SEQ ID NO:27列出了轻链可变受体登录号IMGT#IGKV2-30*02的氨基酸序列。
- [0055] SEQ ID NO:28列出了轻链可变受体登录号IMGT#IGKJ2*01的氨基酸序列。
- [0056] SEQ ID NO:29列出了轻链可变受体登录号AAZ09048.1的氨基酸序列。
- [0057] SEQ ID NO:30列出了编码小鼠3D6抗体的重链可变区的核酸序列。
- [0058] SEQ ID NO:31列出了编码小鼠3D6抗体的轻链可变区的核酸序列。
- [0059] SEQ ID NO:32列出了小鼠3D6抗体的Kabat CDR-H1的氨基酸序列。
- [0060] SEQ ID NO:33列出了小鼠3D6抗体的Chothia CDR-H1的氨基酸序列。
- [0061] SEQ ID NO:34列出了小鼠3D6抗体的Chothia CDR-H2的氨基酸序列。
- [0062] SEQ ID NO:35列出了小鼠3D6抗体的AbM CDR-H2的氨基酸序列。
- [0063] SEQ ID NO:36列出了小鼠3D6抗体的Contact CDR-L1的氨基酸序列。
- [0064] SEQ ID NO:37列出了小鼠3D6抗体的Contact CDR-L2的氨基酸序列。
- [0065] SEQ ID NO:38列出了小鼠3D6抗体的Contact CDR-L3的氨基酸序列。
- [0066] SEQ ID NO:39列出了小鼠3D6抗体的Contact CDR-H1的氨基酸序列。
- [0067] SEQ ID NO:40列出了小鼠3D6抗体的Contact CDR-H2的氨基酸序列。
- [0068] SEQ ID NO:41列出了小鼠3D6抗体的Contact CDR-H3的氨基酸序列。
- [0069] SEQ ID NO:42列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat-Chothia复合物CDR-H1 (如在hu3D6VHv5、hu3D6VHv1bA11B6G2、hu3D6VHv1bA11B6H3、hu3D6VHv1e和hu3D6VHv1f中)的氨基酸序列。
- [0070] SEQ ID NO:43列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHv5和hu3D6VHv1bA11B6H3中)的氨基酸序列。
- [0071] SEQ ID NO:44列出了小鼠3D6和所选人源化3D6抗体的重链可变区 (VHv1、VHv2、VHv1b、VHv1bA11和VHv5) 之间的共有氨基酸序列 (在PCT/IB2017/052544的图2中标记为“大多数”)。
- [0072] SEQ ID NO:45列出了小鼠3D6和所选人源化3D6抗体的轻链可变区之间的共有氨基酸序列 (在PCT/IB2017/052544的图3中标记为“大多数”)。
- [0073] SEQ ID NO:46列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1bA11B6G2的重链可变区的氨基酸序列。
- [0074] SEQ ID NO:47列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1bA11B6H3的重链可变区的氨基酸序列。
- [0075] SEQ ID NO:48列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1c的重链可变区的氨基酸序列。
- [0076] SEQ ID NO:49列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1d的重链可变区的氨基酸序列。
- [0077] SEQ ID NO:50列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1e的重链可变区的氨基酸序列。
- [0078] SEQ ID NO:51列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv1f的重链可变区的氨基酸序列。

- [0079] SEQ ID NO:52列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv3的重链可变区的氨基酸序列。
- [0080] SEQ ID NO:53列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv3b的重链可变区的氨基酸序列。
- [0081] SEQ ID NO:54列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv3c的重链可变区的氨基酸序列。
- [0082] SEQ ID NO:55列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv4的重链可变区的氨基酸序列。
- [0083] SEQ ID NO:56列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv4b的重链可变区的氨基酸序列。
- [0084] SEQ ID NO:57列出了人源化3D6抗体hu3D6VHv4c的重链可变区的氨基酸序列。
- [0085] SEQ ID NO:58列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat-Chothia复合物CDR-H1 (如在hu3D6VH1c中)的氨基酸序列。
- [0086] SEQ ID NO:59列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat-Chothia复合物CDR-H1 (如在hu3D6VHv1d、hu3D6VHv3c和hu3D6VHv4c中)的氨基酸序列。
- [0087] SEQ ID NO:60列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat-Chothia复合物CDR-H1 (如在hu3D6VHv3b和hu3D6VHv4b中)的氨基酸序列。
- [0088] SEQ ID NO:61列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHv1bA11B6G2中)的氨基酸序列。
- [0089] SEQ ID NO:62列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHv1c、hu3D6VHv3b、AND hu3D6VHv4b中)的氨基酸序列。
- [0090] SEQ ID NO:63列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHv1d、hu3D6VHv1f、hu3D6VHv3c和hu3D6VHv4c中)的氨基酸序列。
- [0091] SEQ ID NO:64列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHv1e中)的氨基酸序列。
- [0092] SEQ ID NO:65列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H3 (如在hu3D6VHv1f中)的氨基酸序列。
- [0093] SEQ ID NO:66列出了小鼠6A10抗体的重链可变区的氨基酸序列。
- [0094] SEQ ID NO:67列出了小鼠6A10抗体的Kabat/Chothia复合物CDR-H1的氨基酸序列。
- [0095] SEQ ID NO:68列出了小鼠6A10抗体的Kabat CDR-H2的氨基酸序列。
- [0096] SEQ ID NO:69列出了小鼠6A10抗体的Kabat CDR-H3的氨基酸序列。
- [0097] SEQ ID NO:70列出了用作重链人源化的结构模板的小鼠抗体 (pdb代码1CR9) 的VH区的氨基酸序列。
- [0098] SEQ ID NO:71列出了所选人源化3D6抗体的重链可变区 (VHv1、VHv1b、VHv1bA11、VHv1bA11B6G2、VHv1bA11B6H3、VHv1c、VHv1d、VHv1e、VHv1f、VHv2、VHv3、VHv3b、VHv3c、VHv4、VHv4b、VHv4c和VHv5) 之间的共有氨基酸序列 (在PCT/IB2017/052544的图4A和4B中标记为“大多数”)。
- [0099] SEQ ID NO:72列出了嵌合3D6抗体的重链的氨基酸序列。
- [0100] SEQ ID NO:73列出了嵌合3D6抗体的轻链的氨基酸序列。
- [0101] SEQ ID NO:74列出了重链可变结构模型登录号5MYX-VH_mSt的氨基酸序列。
- [0102] SEQ ID NO:75列出了重链可变受体登录号2RCS-VH_huFrwk的氨基酸序列。
- [0103] SEQ ID NO:76列出了人源化3D6抗体hu3D6VHvb1的重链可变区的氨基酸序列。
- [0104] SEQ ID NO:77列出了人源化3D6抗体hu3D6VHvb2的重链可变区的氨基酸序列。

- [0105] SEQ ID NO:78列出了人源化3D6抗体hu3D6VHvb3的重链可变区的氨基酸序列。
- [0106] SEQ ID NO:79列出了人源化3D6抗体hu3D6VHvb4的重链可变区的氨基酸序列。
- [0107] SEQ ID NO:80列出了人源化3D6抗体hu3D6VHvb5的重链可变区的氨基酸序列。
- [0108] SEQ ID NO:81列出了轻链可变结构模型登录号5MYX-VL_mSt的氨基酸序列。
- [0109] SEQ ID NO:82列出了轻链可变受体登录号ARX71335-VL_huF_rwk的氨基酸序列。
- [0110] SEQ ID NO:83列出了人源化3D6抗体hu3D6VLvb1的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0111] SEQ ID NO:84列出了人源化3D6抗体hu3D6VLvb2的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0112] SEQ ID NO:85列出了人源化3D6抗体hu3D6VLvb3的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0113] SEQ ID NO:86列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat-Chothia复合物CDR-H1 (如在hu3D6VHvb4和hu3D6VHvb5中)的氨基酸序列。
- [0114] SEQ ID NO:87列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHvb3和hu3D6VHvb4中)的氨基酸序列。
- [0115] SEQ ID NO:88列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHvb5中)的氨基酸序列。
- [0116] SEQ ID NO:89列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L1 (如在hu3D6VLvb3中)的氨基酸序列。
- [0117] SEQ ID NO:90列出了人源化3D6抗体hu3D6VHvb6的重链可变区的氨基酸序列。
- [0118] SEQ ID NO:91列出了人源化3D6抗体hu3D6VHvb7的重链可变区的氨基酸序列。
- [0119] SEQ ID NO:92列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHvb6和hu3D6VHvb7中)的氨基酸序列。
- [0120] SEQ ID NO:93列出了hu3D6VLv2变体L54D的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0121] SEQ ID NO:94列出了hu3D6VLv2变体L54G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0122] SEQ ID NO:95列出了hu3D6VLv2变体L45N的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0123] SEQ ID NO:96列出了hu3D6VLv2变体L54E的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0124] SEQ ID NO:97列出了hu3D6VLv2变体L50E的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0125] SEQ ID NO:98列出了hu3D6VLv2变体L54Q的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0126] SEQ ID NO:99列出了hu3D6VLv2变体L50D的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0127] SEQ ID NO:100列出了hu3D6VLv2变体L54K的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0128] SEQ ID NO:101列出了hu3D6VLv2变体L54R的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0129] SEQ ID NO:102列出了hu3D6VLv2变体L54T的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0130] SEQ ID NO:103列出了hu3D6VLv2变体L50G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0131] SEQ ID NO:104列出了hu3D6VLv2变体I48G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0132] SEQ ID NO:105列出了hu3D6VLv2变体I48D的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0133] SEQ ID NO:106列出了hu3D6VLv2变体L47G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0134] SEQ ID NO:107列出了hu3D6VLv2变体Y49E的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0135] SEQ ID NO:108列出了hu3D6VLv2变体L54V的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0136] SEQ ID NO:109列出了hu3D6VLv2变体L54S的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0137] SEQ ID NO:110列出了hu3D6VLv2变体S52G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0138] SEQ ID NO:111列出了hu3D6VLv2变体L47N的轻链可变区的氨基酸序列。

- [0139] SEQ ID NO:112列出了hu3D6VLv2变体L47D的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0140] SEQ ID NO:113列出了hu3D6VLv2变体L47E的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0141] SEQ ID NO:114列出了hu3D6VLv2变体L47P的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0142] SEQ ID NO:115列出了hu3D6VLv2变体L47T的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0143] SEQ ID NO:116列出了hu3D6VLv2变体L47S的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0144] SEQ ID NO:117列出了hu3D6VLv2变体L47A的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0145] SEQ ID NO:118列出了hu3D6VLv2变体L50V的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0146] SEQ ID NO:119列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50G_L54R的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0147] SEQ ID NO:120列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50G_L54G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0148] SEQ ID NO:121列出了hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0149] SEQ ID NO:122列出了hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0150] SEQ ID NO:123列出了hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54T的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0151] SEQ ID NO:124列出了hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54D的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0152] SEQ ID NO:125列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L54R的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0153] SEQ ID NO:126列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L54G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0154] SEQ ID NO:127列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L54D的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0155] SEQ ID NO:128列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0156] SEQ ID NO:129列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50D的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0157] SEQ ID NO:130列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L54T的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0158] SEQ ID NO:131列出了hu3D6VLv2变体L37Q_S52G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0159] SEQ ID NO:132列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50D_L54G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0160] SEQ ID NO:133列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50D_L54R的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0161] SEQ ID NO:134列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50E_L54G的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0162] SEQ ID NO:135列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50E_L54R的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0163] SEQ ID NO:136列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50G_L54R_G100Q的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0164] SEQ ID NO:137列出了hu3D6VLv2变体L37Q_L50G_L54G_G100Q的轻链可变区的氨基酸序列。
- [0165] SEQ ID NO:138列出了hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R_G100Q的轻链可变区的氨

基酸序列。

[0166] SEQ ID NO:139列出了hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54D_G100Q的轻链可变区的氨基酸序列。

[0167] SEQ ID NO:140列出了Hu3D6VLv2变体L37Q_L50D_L54G_G100Q的轻链可变区的氨基酸序列。

[0168] SEQ ID NO:141列出了Hu3D6VLv2变体L37Q_L50D_L54R_G100Q的轻链可变区的氨基酸序列。

[0169] SEQ ID NO:142列出了Hu3D6VLv2变体L37Q_L50V_L54D_G100Q的轻链可变区的氨基酸序列。

[0170] SEQ ID NO:143列出了Hu3D6VLv2变体L37Q的轻链可变区的氨基酸序列。

[0171] SEQ ID NO:144列出了Hu3D6VLv2变体G100Q的轻链可变区的氨基酸序列。

[0172] SEQ ID NO:145列出了Hu3D6VLv2变体L37Q_L54E的轻链可变区的氨基酸序列。

[0173] SEQ ID NO:146列出了hu3D6VHv1bA11变体D60E(也称为h3D6VHvb8)的重链可变区的氨基酸序列。

[0174] SEQ ID NO:147列出了hu3D6VHv1bA11变体L82cV的重链可变区的氨基酸序列。

[0175] SEQ ID NO:148列出了hu3D6VHv1bA11变体D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R(也称为h3D6VHvb9)的重链可变区的氨基酸序列。

[0176] SEQ ID NO:149列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2(如在h3D6VHvb8和h3D6VHvb9中)的氨基酸序列。

[0177] SEQ ID NO:150列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L54D和hu3D6VLv2 L37Q_L54D中)的氨基酸序列。

[0178] SEQ ID NO:151列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L54G和hu3D6VLv2 L37Q_L54G中)的氨基酸序列。

[0179] SEQ ID NO:152列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L54N中)的氨基酸序列。

[0180] SEQ ID NO:153列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L54E和hu3D6VLv2 L37Q_L54E中)的氨基酸序列。

[0181] SEQ ID NO:154列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L50E中)的氨基酸序列。

[0182] SEQ ID NO:155列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L54Q中)的氨基酸序列。

[0183] SEQ ID NO:156列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L50D和hu3D6VLv2 L37Q_L50D中)的氨基酸序列。

[0184] SEQ ID NO:157列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L54K中)的氨基酸序列。

[0185] SEQ ID NO:158列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L54R和hu3D6VLv2 L37Q_L54R中)的氨基酸序列。

[0186] SEQ ID NO:159列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2(如在hu3D6VLv2 L54T和hu3D6VLv2 L37Q_L54T中)的氨基酸序列。

[0187] SEQ ID NO:160列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L50G和hu3D6VLv2 L37Q_L50G中)的氨基酸序列。

[0188] SEQ ID NO:161列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54V中)的氨基酸序列。

[0189] SEQ ID NO:162列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54S中)的氨基酸序列。

[0190] SEQ ID NO:163列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 S52G和hu3D6VLv2 L37Q_S52G中)的氨基酸序列。

[0191] SEQ ID NO:164列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L50V中)的氨基酸序列。

[0192] SEQ ID NO:165列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R和hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q中)的氨基酸序列。

[0193] SEQ ID NO:166列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G和hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q中)的氨基酸序列。

[0194] SEQ ID NO:167列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G中)的氨基酸序列。

[0195] SEQ ID NO:168列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R和hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q中)的氨基酸序列。

[0196] SEQ ID NO:169列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T中)的氨基酸序列。

[0197] SEQ ID NO:170列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D和hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q中)的氨基酸序列。

[0198] SEQ ID NO:171列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G和hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q中)的氨基酸序列。

[0199] SEQ ID NO:172列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R和hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q中)的氨基酸序列。

[0200] SEQ ID NO:173列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G中)的氨基酸序列。

[0201] SEQ ID NO:174列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R中)的氨基酸序列。

[0202] SEQ ID NO:175列出了人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q中)的氨基酸序列。

[0203] SEQ ID NO:176列出了重链恒定区 (IgG1:同种异型G1m17,1)的氨基酸序列。

[0204] SEQ ID NO:177列出了轻链恒定区 (κ)的氨基酸序列。

[0205] SEQ ID NO:178列出了3D6人源化变体的成熟重链 (hu3D6VHv 1bA11 IgG1 G1m17 同种异型)的氨基酸序列。

[0206] SEQ ID NO:179列出了3D6人源化变体的成熟轻链 (hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R,L2-DIM4κ)的氨基酸序列。

[0207] SEQ ID NO:180列出了3D6人源化变体的重链 (hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17同种异

型)的氨基酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽。

[0208] SEQ ID NO:181列出了3D6人源化变体的轻链(hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 κ)的氨基酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽。

[0209] SEQ ID NO:182列出了编码3D6人源化变体的重链(hu3D6VHv 1bA11 IgG1 G1m17 同种异型)的核苷酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽。

[0210] SEQ ID NO:183列出了编码3D6人源化变体的轻链(hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 κ)的核苷酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽。

[0211] SEQ ID NO:184列出了tau微管结合重复序列1的区域的氨基酸序列(SEQ ID NO:1 的氨基酸残基255-271)。

[0212] SEQ ID NO:185列出了tau微管结合重复序列2的区域的氨基酸序列(SEQ ID NO:1 的氨基酸残基286-302)。

[0213] SEQ ID NO:186列出了tau微管结合重复序列3的区域的氨基酸序列(SEQ ID NO:1 的氨基酸残基317-333)。

[0214] SEQ ID NO:187列出了tau微管结合重复序列4的区域的氨基酸序列(SEQ ID NO:1 的氨基酸残基349-365)。

[0215] SEQ ID NO:188列出了由3D6结合的MBTR 1中tau的核心基序的氨基酸序列。

[0216] SEQ ID NO:189列出了由3D6结合的MBTR 1中tau的核心基序N末端的tau序列的氨基酸序列。

[0217] SEQ ID NO:190列出了由3D6结合的MBTR 1中tau的核心基序C末端的tau序列的氨基酸序列。

[0218] SEQ ID NO:191列出了3D6的表位的氨基酸序列。

[0219] SEQ ID NO:192列出了由3D6结合的MBTR 2中tau的核心基序的氨基酸序列。

[0220] SEQ ID NO:193列出了由3D6结合的MBTR 3中tau的核心基序的氨基酸序列。

[0221] SEQ ID NO:194列出了由3D6结合的MBTR 3中tau的核心基序的氨基酸序列。

[0222] 定义

[0223] 单克隆抗体或其他生物学实体通常以分离形式提供。这意味着抗体或其他生物学实体通常至少50%w/w不含由其生产或纯化产生的干扰性蛋白质和其他污染物,但不排除单克隆抗体与过量的一种或多种药学上可接受的载体或旨在便于其使用的其他媒介物组合的可能性。有时单克隆抗体至少60%、70%、80%、90%、95%或99%w/w不含由其生产或纯化产生的干扰性蛋白质和污染物。通常,分离的单克隆抗体或其他生物学实体是其纯化后剩余的主要大分子物质。

[0224] 抗体与其靶抗原的特异性结合意指至少 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 或 $10^{12}M^{-1}$ 的亲合力和/或亲合力。特异性结合的量级可检测地更高,并且可区别于对至少一种不相关的靶标发生的非特异性结合。特异性结合可以是特定官能团之间形成键或特定空间配合(例如,锁钥型)的结果,而非特异性结合通常是范德华力的结果。然而,特异性结合不一定意味着抗体仅仅结合一个靶标。

[0225] 基本抗体结构单元是亚基的四聚体。每个四聚体包括两对同一的多肽链,每对具有一条“轻”链(约25kDa)和一条“重”链(约50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括主要负责抗原识别的约100至110或更多个氨基酸的可变区。此可变区最初被表达为与可切割的信

号肽连接。没有信号肽的可变区有时被称为成熟可变区。因此,例如,轻链成熟可变区意指没有轻链信号肽的轻链可变区。每条链的羧基末端部分限定主要负责效应子功能的恒定区。

[0226] 轻链分为 κ 或 λ 。重链分为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ ,并将抗体的同种型分别定义为IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。在轻链和重链内,可变区和恒定区通过约12或更多个氨基酸的“J”区连接,其中重链还包括约10或更多个氨基酸的“D”区。大致参见Fundamental Immunology, Paul, W. 编辑,第2版Raven Press, N.Y., 1989, 第7章(出于所有目的以引用方式整体并入)。

[0227] 免疫球蛋白轻链或重链可变区(在本文中分别称为“轻链可变结构域”(“VL结构域”)或“重链可变结构域”(“VH结构域”))由被三个“互补决定区”或“CDR”间隔开的“框架”区组成。框架区用于对齐CDR,以用于与抗原的表位特异性结合。CDR包括主要负责抗原结合的抗体的氨基酸残基。从氨基末端到羧基末端,VL和VH结构域均包含以下框架(FR)和CDR区:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。VL结构域的CDR 1、2和3在本文中分别称为CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3;VH结构域的CDR 1、2和3在本文中分别称为CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3。当本申请公开了以R作为C末端残基的VL序列时,R也可被认为是轻链恒定区的N末端残基。因此,本申请也应当理解为公开了没有C末端R的VL序列。

[0228] 每个VL和VH结构域的氨基酸的分配与CDR的任何常规定义一致。常规定义包括Kabat定义(Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987和1991)、Chothia定义(Chothia&Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987; Chothia等人, Nature 342:878-883, 1989); Chothia Kabat CDR的复合物,其中CDR-H1是Chothia和Kabat CDR的复合物;Oxford Molecular的抗体建模软件使用的AbM定义;以及Martin等人的contact定义(bioinfo.org.uk/abs)(参见表1)。Kabat提供了广泛使用的编号惯例(Kabat编号),其中不同重链之间或不同轻链之间的对应残基被指定相同的编号。当通过CDR的某一定义(例如,Kabat)说抗体包含CDR时,该定义指明抗体中存在的CDR残基(即Kabat CDR)的最小数目。这不排除同时存在属于另一常规CDR定义但在指定定义之外的其他残基。举例来说,除其他可能性之外,包含由Kabat定义的CDR的抗体包括其中CDR含有Kabat CDR残基且不含有其他CDR残基的抗体,以及其中CDR H1是复合物Chothia-Kabat CDR H1并且其他CDR含有Kabat CDR残基且不含有基于其他定义的另外的CDR残基的抗体。

[0229] 表1:使用Kabat编号的CDR的常规定义

[0230]

环	Kabat	Chothia	Chothia & Kabat 的复合物	AbM	Contact
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
H1	H31--H35B	H26--H32..H34*	H26--H35B*	H26--H35B	H30--H35B
H2	H50--H65	H52--H56	H50--H65	H50--H58	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

[0231] *根据Chothia的CDR-H1可以在H32、H33或H34处结束(取决于环的长度)。这是因为Kabat编号方案在35A和35B处布置额外残基的插入,而Chothia编号将它们布置在31A和31B处。如果既不存在H35A也不存在H35B(Kabat编号),那么Chothia CDR-H1环在H32处结束。如果仅存在H35A,那么它在H33处结束。如果H35A和H35B都存在,那么它在H34处结束。

[0232] 术语“抗体”包括完整抗体及其结合片段。通常,片段与衍生它们的完整抗体竞争与靶标的特异性结合,包括单独的重链、轻链Fab、Fab'、F(ab')₂、F(ab)c、Dab、纳米抗体和Fv。片段可以通过重组DNA技术产生,或通过完整免疫球蛋白的酶促或化学分离产生。术语“抗体”还包括双特异性抗体和/或人源化抗体。双特异性或双功能抗体是具有两个不同的重/轻链对和两个不同结合位点的人工杂交抗体(参见,例如,Songsivilai and Lachmann, Clin. Exp. Immunol., 79:315-321 (1990); Kostelny等人, J. Immunol., 148:1547-53 (1992))。在一些双特异性抗体中,两个不同的重链/轻链对包括人源化3D6重链/轻链对和对于tau上不同于3D6所结合的表位的表位具有特异性的重链/轻链对。

[0233] 在一些双特异性抗体中,一个重链/轻链对是如下文进一步公开的人源化3D6抗体,并且另一个重链/轻链对来自与在血脑屏障上表达的受体结合的抗体,所述受体诸如胰岛素受体、胰岛素样生长因子(IGF)受体、瘦素受体或脂蛋白受体或转铁蛋白受体(Friden等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4771-4775, 1991; Friden等人, Science 259:373-377, 1993)。这种双特异性抗体可以通过受体介导的胞转穿过血脑屏障转移。可通过工程化双特异性抗体以减小其与血脑屏障受体的亲和力来进一步增强双特异性抗体的脑部摄取。对受体的亲和力降低导致在脑部中更广泛的分布(参见,例如, Atwal等人, Sci. Trans. Med. 3, 84ra43, 2011; Yu等人, Sci. Trans. Med. 3, 84ra44, 2011)。

[0234] 示例性双特异性抗体还可以是:(1)双可变结构域抗体(DVD-Ig),其中每条轻链和重链含有两个通过短肽键串联的可变结构域(Wu等人, Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-IgTM) Molecule, Antibody Engineering, Springer Berlin Heidelberg (2010)); (2) Tandab, 其为两个单链双抗体的融合体,从而得到四价双特异性抗体,其对于每种靶抗原具有两个结合位点;(3)柔性体(flexibody),其为scFv与双抗体的组合,从而得到多价分子;(4)所谓的“对接并锁定(dock and lock)”分子,其基于蛋白激酶A中的“二聚化和对接结构域”,当应用于Fab时,可以得到由连接于不同的Fab片段的两个同一的Fab片段组成的三价双特异性结合蛋白;或(5)所谓

的Scorpion分子,其包含例如融合至人Fc区的两个末端的两个scFv。可用于制备双特异性抗体的平台的实例包括BiTE(Micromet)、DART(MacroGenics)、Fcab and Mab2(F-star)、Fc工程化IgG1(Xencor)或DuoBody(基于Fab臂交换,Genmab)。

[0235] 术语“表位”是指抗原上与抗体结合的位点。表位可由连续氨基酸或通过一个或多个蛋白质的三级折叠而并置的非连续氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位(也称为线性表位)通常在暴露于变性溶剂时保留,而通过三级折叠形成的表位(也称为构象表位)通常在用变性溶剂处理时丢失。表位通常包括处于独特空间构象的至少3个、且更通常至少5或8-10个氨基酸。确定表位的空间构象的方法包括,例如,x射线晶体学和2维核磁共振。参见,例如,Epitope Mapping Protocols,在Methods in Molecular Biology中,第66卷,Glenn E.Morris编辑(1996)。

[0236] 识别相同或重叠表位的抗体可以在显示出一种抗体与另一种抗体竞争结合靶抗原的能力的简单的免疫测定中鉴定。抗体的表位还可以通过与其抗原结合以鉴定接触残基的抗体的X射线晶体学来定义。或者,如果抗原中减少或消除一种抗体的结合的所有氨基酸突变减少或消除另一种抗体的结合,那么两种抗体具有相同的表位。如果减少或消除一种抗体的结合的一些氨基酸突变减少或消除另一种抗体的结合,那么两种抗体具有重叠表位。

[0237] 抗体之间的竞争通过测定来确定,在所述测定中,待测抗体抑制参考抗体与共同抗原的特异性结合(参见,例如,Junghans等人,Cancer Res.50:1495,1990)。如果过量的测试抗体(例如,至少2x、5x、10x、20x或100x)抑制至少50%的参考抗体的结合(如在竞争性结合测定中所测量的),那么测试抗体与参考抗体竞争。一些测试抗体抑制至少75%、90%或99%的参考抗体的结合。通过竞争测定鉴定的抗体(竞争性抗体)包括与参考抗体结合相同表位的抗体和结合至与参考抗体结合的表位充分接近以产生位阻的相邻表位的抗体。

[0238] 术语“药学上可接受的”是指载体、稀释剂、赋形剂或辅助剂与制剂的其他成分相容并且对其接受者基本上无害。

[0239] 术语“患者”包括接受预防性或治疗性治疗的人和其他哺乳动物受试者。

[0240] 如果受试者具有至少一个已知的风险因素(例如,遗传、生化、家族史和情境暴露),从而将具有所述风险因素的个体置于与没有该风险因素的个体相比在统计学上显著更大的发展该疾病的风险中,那么个体患病风险增加。

[0241] 术语“生物样品”是指生物来源(例如人或哺乳动物受试者)内或可从其获得的生物材料的样品。此类样品可以是器官、细胞器、组织、组织切片、体液、外周血、血浆、血清、细胞、分子(诸如蛋白质和肽)以及由其衍生的任何部分或组合。术语生物样品还可包括通过处理样品衍生的任何材料。衍生材料可包括细胞或其后代。生物样品的处理可包括过滤、蒸馏、提取、浓缩、固定、干扰组分的失活等中的一者或多者。

[0242] 术语“对样品”是指未被已知或怀疑包括tau相关疾病影响区域的生物样品,或至少未被已知或怀疑包括给定类型的患病区域的生物样品。对样品可以从从未患有tau相关疾病的个体获得。或者,对样品可以从患有tau相关疾病的患者获得。此类样品可以与被认为包含tau相关疾病的生物样品同时获得或在不同场合获得。生物样品和对样品都可以从相同的组织获得。优选地,对样品基本上或完全由正常的健康区域组成,并且可用于与被认为包含tau相关疾病影响区域的生物样品的比较。优选地,对样品中的组织与生

物样品中的组织是相同类型。优选地,被认为在生物样品中的tau相关疾病影响细胞来自与对照样品中的细胞类型相同的细胞类型(例如,神经元或神经胶质)。

[0243] 术语“疾病”是指损害生理功能的任何异常疾患。该术语广泛用于涵盖生理功能受损的任何病症、病痛、异常、病理、不适、疾患或综合征,而不论病因的性质如何。

[0244] 术语“症状”是指受试者感知的疾病的主观证据,诸如步态改变。“体征”是指医生观察到的疾病的客观证据。

[0245] 术语“对治疗的阳性应答”是指相对于未接受治疗的对照群体中的平均应答,个体患者中更有利的应答或患者群体中的平均应答。

[0246] 为了将氨基酸取代分为保守或非保守取代,将氨基酸分组如下:第I组(疏水性侧链):met、ala、val、leu、ile;第II组(中性亲水性侧链):cys、ser、thr;第III组(酸性侧链):asp、glu;第IV组(碱性侧链):asn、gln、his、lys、arg;第V组(影响链取向的残基):gly、pro;以及第VI组(芳香族侧链):trp、tyr、phe。保守取代包括相同类别的氨基酸之间的取代。非保守取代包括将这些类别中的一个的成员交换为另一个类别的成员。

[0247] 用通过Kabat编号惯例最大限度地对齐的抗体序列确定序列同一性百分比。比对应后,如果将受试者抗体区域(例如,重链或轻链的整个成熟可变区)与参考抗体的相同区域进行比较,受试者抗体区域与参考抗体区域之间的序列同一性百分比是在受试者抗体区域和参考抗体区域中相同氨基酸占据的位置的数目除以两个区域的对齐位置的总数,其中空位不计数,乘以100以转换为百分比。

[0248] “包含”或“包括”一种或多种所列举的元素的组合物或方法可包括未具体列举的其他元素。举例来说,“包含”或“包括”抗体的组合物可含有单独或与其他成分组合的抗体。当本公开涉及包括指定元件的特征时,本公开应替代地理解为涉及基本上由指定元件组成或由指定元件组成的特征。

[0249] 值的范围的指定包括该范围内或限定该范围的所有整数,以及通过该范围内的整数限定的所有子范围。

[0250] 除非从上下文中另外显而易见,否则术语“约”涵盖非实质性变型,诸如在指定值的测量误差(例如,SEM)的标准容限之内的值。

[0251] 统计显著性意指 $p \leq 0.05$ 。

[0252] 除非上下文另外明确规定,否则冠词“一个”、“一种”和“该”的单数形式包括多个指代物。举例来说,术语“化合物”或“至少一种化合物”可包括多种化合物,包括其混合物。

具体实施方式

[0253] I. 总则

[0254] 本发明提供了用结合人tau的抗体治疗诸如阿尔茨海默病的tau蛋白病的方法。

[0255] II. 靶分子

[0256] 除非从上下文中另外显而易见,否则对tau的提及意指tau的天然人形式,包括所有同种型,而不管是否存在翻译后修饰(例如,磷酸化、糖化或乙酰化)。在人脑中存在六种主要的tau同种型(剪接变体)。这些变体中最长的具有441个氨基酸,其中起始met残基被切割。根据441同种型对残基编号。因此,例如,对位置404处的磷酸化的提及意指441同种型的位置404,或当与441同种型最大限度地对齐时任何其他同种型的对应位置。同种型的氨基

酸序列和Swiss-Prot编号如下文所指示。

[0257] P10636-8 (SEQ ID NO:1)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKESPLQT	PTEDGSEEPG
70	80	90	100	110	120
SETSDAKSTP	TAEDVTAPLV	DEGAPGKQAA	AQPHTEIPEG	TTAEEAGIGD	TPSLEDEAAG
130	140	150	160	170	180
HVTQARMVSK	SKDGTGSDDK	KAKGADGKTK	IATPRGAAPP	GQKGQANATR	IPAKTPPAPK

[0258]

190	200	210	220	230	240
TPPSSGEPPK	SGDRSGYSSP	GSPGTPGSR	RTPSLPTPPT	REPKKVAVVR	TPPKSPSSAK
250	260	270	280	290	300
SRLQTAPVPM	PDLKNVSKIK	GSTENLKHQP	GGGKVQIINK	KLDLSNVQSK	CGSKDNIKHV
310	320	330	340	350	360
PGGGSVQIVY	KPVDLSKVT	KCGSLGNIH	KPGGGQVEVK	SEKLDFKDRV	QSKIGSLDNI
370	380	390	400	410	420
THVPGGGNKK	IETHKLTFRE	NAKAKTDHGA	EIVYKSPVVS	GDTSPRHLSN	VSSTGSIDMV
430	440				
DSPQLATLAD	EVSASLAKQG	L			

[0259] P10636-7 (SEQ ID NO:2)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKESPLQT	PTEDGSEEPG
70	80	90	100	110	120
SETSDAKSTP	TAEAEAGIG	DTPSLEDEAA	GHVTQARMVS	KSKDGTGSDD	KKAKGADGKT
130	140	150	160	170	180
KIATPRGAAP	PGQKGQANAT	RIPAKTPPAP	KTPPSSGEPP	KSGDRSGYSS	PGSPGTPGSR
190	200	210	220	230	240
SRTPSLPTPP	TREPCKVAVV	RTPPKSPSSA	KSRLQTAPVP	MPDLKNVSK	IGSTENLKHQ
250	260	270	280	290	300
PGGGKVQIIN	KKLDLSNVQS	KCGSKDNIKH	VPGGGSVQIV	YKPVDLSKVT	SKCGSLGNIH
310	320	330	340	350	360
HKPGGGQVEV	KSEKLDFKDR	VQSKIGSLDN	ITHVPGGGNK	KIETHKLTFR	ENAKAKTDHG
370	380	390	400	410	
AEIVYKSPVV	SGDTSPRHLS	NVSSTGSIDM	VDSPQLATLA	DEVSASLAKQ	GL

[0261] P10636-6 (4R0N人tau) (SEQ ID NO:3)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKAEEAGI	GDTPSLEDEA
70	80	90	100	110	120
AGHVTQARMV	SKSKDGTGSD	DKKAKGADGK	TKIATPRGAA	PPGQKGQANA	TRIPAKTPPA
130	140	150	160	170	180
PKTPPSSGEP	PKSGDRSGYS	SPGSPGTPGS	RSRTPSLPTP	PTREPCKVAV	VRTPPKSPSS
190	200	210	220	230	240
AKSRLQTAPV	PMPDLKNVKS	KIGSTENLKH	QPGGGKVQII	NKKLDLSNVQ	SKCGSKDNIK
250	260	270	280	290	300
HVPGGGSVQI	VYKPVDLSKV	TSKCGSLGNI	HHKPGGGQVE	VKSEKLDFKD	RVQSKIGSLD
310	320	330	340	350	360
NITHVPGGGN	KKIETHKLTF	RENAKAKTDH	GAEIVYKSPV	VSGDTSPRHL	SNVSSTGSID
370	380				
MVDSPQLATL	ADEVASLAK	QGL			

[0263] P10636-5 (SEQ ID NO:4)

	10	20	30	40	50	60
	MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKESPLQT	PTEDGSEEPG
	70	80	90	100	110	120
[0264]	SETSDAKSTP	TAEDVTAPLV	DEGAPGKQAA	AQPHTEIPEG	TTAEEAGIGD	TPSLEDEAAG
	130	140	150	160	170	180
	HVTQARMVSK	SKDGTGSDDK	KAKGADGKTK	IATPRGAAPP	GQKGQANATR	IPAKTPPAPK
	190	200	210	220	230	240
	TPPSSGEPPK	SGDRSGYSSP	GSPGTPGSR	RTPSLPTPPT	REPKKVAVVR	TPPKSPSSAK
	250	260	270	280	290	300
	SRLQTAPVPM	PDLKNVSKI	GSTENLKHQP	GGGKVQIVYK	PVDLSKVTSK	CGSLGNIHHK
	310	320	330	340	350	360
[0265]	PGGGQVEVKS	EKLDFKDRVQ	SKIGSLDNIT	HVPGGGNKKI	ETHKLTFREN	AKAKTDHGAE
	370	380	390	400	410	
	IVYKSPVVS	DTSPRHLSNV	SSTGSIDMVD	SPQLATLADE	VSASLAKQGL	
[0266]	P10636-4 (SEQ ID NO:5)					
	10	20	30	40	50	60
	MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKESPLQT	PTEDGSEEPG
	70	80	90	100	110	120
	SETSDAKSTP	TAEAEAGIG	DTPSLEDEAA	GHVTQARMVS	KSKDGTGSDD	KKAKGADGKT
	130	140	150	160	170	180
	KIATPRGAAP	PGQKGQANAT	RIPAKTPPAP	KTPPSSGEPP	KSGDRSGYSS	PGSPGTPGSR
	190	200	210	220	230	240
[0267]	SRTPSLPTPP	TREPCKVAVV	RTPPKSPSSA	KSRLQTAPVP	MPDLKNVSK	IGSTENLKHQ
	250	260	270	280	290	300
	PGGGKVQIVY	KPVDLSKVT	KCGSLGNIHH	KPGGGQVEVK	SEKLDFKDRV	QSKIGSLDNI
	310	320	330	340	350	360
	THVPGGGNKK	IETHKLTFRE	NAKAKTDHGA	EIVYKSPVVS	GDTSPRHLSN	VSSTGSIDMV
	370	380				
	DSPQLATLAD	EVSASLAKQG	L			
[0268]	P10636-2 (SEQ ID NO:6)					
	10	20	30	40	50	60
	MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKAEEAGI	GDTPSLEDEA
	70	80	90	100	110	120
	AGHVTQARMV	SKSKDGTGSD	DKKAKGADGK	TKIATPRGAA	PPGQKGQANA	TRIPAKTPPA
	130	140	150	160	170	180
	PKTPPSSGEP	PKSGDRSGYS	SPGSPGTPGS	RSRTPSLPTP	PTREPCKVAV	VRTPPKSPSS
[0269]	190	200	210	220	230	240
	AKSRLQTAPV	PMPDLKNVKS	KIGSTENLKH	QPGGGKVQIV	YKVDLSKVT	SKCGSLGNIH
	250	260	270	280	290	300
	HKPGGGQVEV	KSEKLDFKDR	VQSKIGSLDN	ITHVPGGGNK	KIETHKLTFR	ENAKAKTDHG
	310	320	330	340	350	
	AEIVYKSPVV	SGDTSPRHLS	NVSSTGSIDM	VDSPQLATLA	DEVASLAKQ	GL

[0270] 对tau的提及包括已知的自然变型,其中约30种列于Swiss-Prot数据库及其排列中,以及与tau病理相关联的突变,所述病理诸如痴呆、皮克氏病、核上性麻痹等(参见,例如,Swiss-Prot数据库和Poorkaj等人,Ann Neurol.43:815-825(1998))。通过441同种型编号的tau突变的一些实例为氨基酸残基257处的赖氨酸至苏氨酸突变(K257T);氨基酸位置260处的异亮氨酸至缬氨酸突变(I260V);氨基酸位置272处的甘氨酸至缬氨酸突变(G272V);氨基酸位置279处的天冬酰胺至赖氨酸突变(N279K);氨基酸位置296处的天冬酰胺至组氨酸突变(N296H);氨基酸位置301处的脯氨酸至丝氨酸突变(P301S);氨基酸301处

的脯氨酸至亮氨酸突变 (P301L); 氨基酸位置303处的甘氨酸至缬氨酸突变 (G303V); 位置305处的丝氨酸至天冬酰胺突变 (S305N); 氨基酸位置335处的甘氨酸至丝氨酸突变 (G335S); 位置337处的缬氨酸至甲硫氨酸突变 (V337M); 位置342处的谷氨酸至缬氨酸突变 (E342V); 氨基酸位置369处的赖氨酸至异亮氨酸突变 (K369I); 氨基酸位置389处的甘氨酸至精氨酸突变 (G389R); 以及氨基酸位置406处的精氨酸至色氨酸突变 (R406W)。

[0271] Tau可以在一个或多个氨基酸残基处被磷酸化, 所述氨基酸残基包括氨基酸位置18、29、97、310和394处的酪氨酸; 氨基酸位置184、185、198、199、202、208、214、235、237、238、262、293、324、356、396、400、404、409、412、413和422处的丝氨酸; 以及氨基酸位置175、181、205、212、217、231和403处的苏氨酸。除非从上下文另外显而易见, 否则对tau或其片段的提及包括天然人氨基酸序列, 包括其同种型、突变体和等位基因变体。

[0272] III. 抗体

[0273] A. 结合特异性和功能特性

[0274] 本发明提供了与tau结合的抗体。一些抗体与KXXSXXNX (K/H) H (SEQ ID NO:191) 内的表位特异性结合。一些抗体与包含441个氨基酸tau蛋白 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基259-268、基本上由其组成或由其组成的肽结合。一些抗体与包含441个氨基酸tau蛋白 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基290-299、基本上由其组成或由其组成的肽结合。一些抗体与包含441个氨基酸tau蛋白 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基321-330、基本上由其组成或由其组成的肽结合。一些抗体与包含441个氨基酸tau蛋白 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸残基353-362、基本上由其组成或由其组成的肽结合。一些抗体结合与这些肽中的两者、三者或所有四者结合。一些抗体与383个氨基酸4R0N人tau蛋白 (SEQ ID NO:3) 的残基199-213 (对应于SEQ ID NO:1的残基257-271) 内的表位特异性结合。一些抗体与383个氨基酸4R0N人tau蛋白 (SEQ ID NO:3) 的残基262-276 (对应于SEQ ID NO:1的残基320-334) 内的表位特异性结合。本发明的一些抗体与由441个氨基酸tau蛋白 (SEQ ID NO:1) 的残基257-271组成的肽特异性结合。本发明的一些抗体与由441个氨基酸tau蛋白 (SEQ ID NO:1) 的残基320-334组成的肽特异性结合。本发明的一些抗体与由441个氨基酸tau蛋白SEQ ID NO:1的残基259-268, 即KIGSTENLKH (SEQ ID NO:188) 组成的肽特异性结合。本发明的一些抗体与由441个氨基酸tau蛋白SEQ ID NO:1的残基290-299, 即KCGSKDNIKH (SEQ ID NO:192) 组成的肽特异性结合。本发明的一些抗体与由441个氨基酸tau蛋白SEQ ID NO:1的残基321-330, 即KCGSLGNIHH (SEQ ID NO:193) 组成的肽特异性结合。本发明的一些抗体与由441个氨基酸tau蛋白SEQ ID NO:1的残基353-362, 即KIGSLDNITH (SEQ ID NO:194) 组成的肽特异性结合。本发明的一些抗体与由共有基序KXXSX XNX (K/H) H (SEQ ID NO:191) 组成的肽特异性结合。一些抗体与包含441个氨基酸tau蛋白SEQ ID NO:1的残基259、262、265、267、268, 残基290、293、296、298、299, 残基321、324、327、329、330, 或残基353、356、359、362的表位结合。一些抗体与tau结合而不考虑磷酸化状态。一些抗体与不包括经受磷酸化的残基的表位结合。这些抗体可通过用从天然来源纯化或重组表达的tau多肽免疫来获得。可以筛选结合处于非磷酸化形式以及其中易于磷酸化的一个或多个残基被磷酸化的形式的tau的抗体。与非磷酸化tau相比, 此类抗体优选以不可区分的亲和力结合或至少在1.5、2或3倍的因子内结合磷酸化tau (即, 是“泛特异性的”)。3D6是泛特异性单克隆抗体的实例。本发明还提供了与任何前述抗体结合相同表位, 例如3D6的表位的抗体。还包括与任何前述抗体竞争结合

tau的抗体,例如与3D6竞争。

[0275] 上述抗体可通过用包含SEQ ID NO:3的残基199-213或262-276(分别对应于SEQ ID NO:1的残基257-271或320-334)、基本上由其组成或由其组成的肽进行免疫或通过用包含SEQ ID NO:1的残基259-268、290-299、321-330或353-362、基本上由其组成或由其组成的肽进行免疫、或通过用全长tau多肽或其包含此类残基的片段进行免疫,并针对与包括此类残基的肽的特异性结合进行筛选来重新生成。此类肽优选附接于有助于引发对肽的抗体应答的异源缀合物分子。附接可以是直接的或通过间隔肽或氨基酸进行。使用半胱氨酸作为间隔氨基酸,因为其游离SH基团有利于载体分子的附接。还可使用在甘氨酸与肽之间具有或不具有半胱氨酸残基的聚甘氨酸接头(例如,2-6个甘氨酸)。载体分子用于提供T细胞表位,其有助于引发针对肽的抗体应答。通常使用几种载体,具体为匙孔虫凝集素蛋白(KLH)、卵清蛋白和牛血清白蛋白(BSA)。肽间隔物可以作为固相肽合成的一部分添加到肽免疫原中。载体通常通过化学交联添加。可使用的化学交联剂的一些实例包括交联-N-马来酰亚胺基-6-氨基己酰基酯或间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)(参见例如,Harlow,E.等人,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.1988;Sinigaglia等人,Nature,336:778-780(1988);Chicz等人,J.Exp.Med.,178:27-47(1993);Hammer等人,Cell 74:197-203(1993);Falk K.等人,Immunogenetics,39:230-242(1994);WO 98/23635;以及Southwood等人J.Immunology,160:3363-3373(1998))。如果存在,载体和间隔物可附接于免疫原的任一端。

[0276] 具有任选间隔物和载体的肽可用于对实验室动物或B细胞进行免疫,如下文更详细描述。可测试杂交瘤上清液结合以下项的能力:包含SEQ ID NO:3的残基199-213或262-276(分别对应于SEQ ID NO:1的残基257-271或320-334)、基本上由其组成或由其组成、或包含SEQ ID NO:1的残基259-268、290-299、321-330或353-362、基本上由其组成或由其组成的一个或多个肽和/或tau的磷酸化和非磷酸化形式,例如具有处于磷酸化形式的位置404的tau的全长同种型。可将肽附接于载体或其他标签以有利于筛选测定。在这种情况下,载体或标签优先不同于用于免疫的间隔物和载体分子的组合,以消除对间隔物或载体而不是tau肽具有特异性的抗体。可使用任何tau同种型。

[0277] 本发明提供了结合tau内的表位的单克隆抗体。被命名为3D6的抗体是一种这样的示例性小鼠抗体。除非从上下文中另外显而易见,否则对3D6的提及应理解为是指这种抗体的小鼠、嵌合、饰面和人源化形式中的任一者。抗体已经以[保藏号]被保藏。该抗体特异性结合KXXSXXNX(K/H)H(SEQ ID NO:191)的表位。该抗体特异性结合在383个氨基酸4R0N人tau蛋白(SEQ ID NO:3)的氨基酸残基199-213和/或262-276(分别对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271和/或320-334)内。抗体特异性结合在SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268或290-299或321-330或353-362内,以及其任何2者、3者或所有四者的组合。该抗体的特征进一步在于其结合磷酸化和未磷酸化tau、tau的非病理和病理形式和构象以及tau的错误折叠/聚集形式的能力。人源化抗体hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4等同地结合磷酸化和非磷酸化tau,结合tau的所有剪接同种型,并结合来自所测试的六个阿尔茨海默病供体样品中的每一个的组织切片中的神经原纤维缠结和营养不良性神经突。被命名为6A10的抗体是一种这样的示例性小鼠抗体。除非从上下文中另外显而易见,否则对6A10的提及应理解为是指这

种抗体的小鼠、嵌合、饰面和人源化形式中的任一者。6A10的重链的Kabat/Chothia复合物CDR分别被命名为SEQ ID NO:67、68和69,并且6A10的轻链的Kabat CDR分别被命名为SEQ ID NO:12、13和14。小鼠6A10分别与小鼠3D6的VH链和VL链共有82.1% VH序列同一性和100% VL序列同一性。

[0278] 本发明的一些抗体与被命名为3D6的抗体结合相同或重叠的表位。该抗体的重链和轻链成熟可变区的序列分别被命名为SEQ ID NO:7和11。具有这种结合特异性的其他抗体可通过以下方式产生:用tau或其包括所需表位、基本上由其组成或由其组成的部分(例如SEQ ID NO:3的199-213和/或262-276,分别对应于SEQ ID NO:1的残基257-271和/或320-334;或例如SEQ ID NO:1的259-268或290-299或321-330或353-362,其2者、3者或所有4者的任何组合)对小鼠进行免疫并且针对任选地与具有小鼠3D6(IgG1κ)的可变区的抗体竞争结合tau而对所得抗体进行筛选。包括所需表位的tau片段可以与有助于引发对片段的抗体应答的载体连接和/或与有助于引发这种应答的佐剂组合。与特定残基的突变体相比,可以针对与tau或其片段的差异结合对此类抗体进行筛选。针对此类突变体的筛选更精确地定义了结合特异性,以允许鉴定其结合受到特定残基的诱变的抑制并且可能共享其他所例示抗体的功能特性的抗体。突变可以是在整个靶标或已知表位驻留在其中的整个区段中用丙氨酸(或丝氨酸,如果丙氨酸已经存在的话)进行系统性替换取代,一次一个残基,或间隔更宽的间隔。如果同一组突变显著降低两种抗体的结合,那么这两种抗体结合相同的表位。

[0279] 具有所选鼠抗体(例如,3D6)的结合特异性的抗体也可使用噬菌体展示方法的变体产生。参见Winter,WO 92/20791。该方法尤其适用于产生人抗体。在该方法中,使用所选鼠抗体的重链或轻链可变区作为起始材料。如果例如选择轻链可变区作为起始材料,构建噬菌体文库,其中成员展示出相同的轻链可变区(即,鼠起始材料)和不同的重链可变区。重链可变区可以例如由重排的人重链可变区的文库获得。选择对于tau或其片段显示出强特异性结合(例如,至少 10^8 且优选地至少 10^9M^{-1})的噬菌体。然后来自该噬菌体的重链可变区用作构建另一噬菌体文库的起始材料。在该文库中,每个噬菌体展示出相同的重链可变区(即,从第一展示文库中鉴定的区域)和不同的轻链可变区。轻链可变区可以例如由重排的人可变轻链区的文库获得。再一次,选择对于tau或其片段显示出强特异性结合的噬菌体。所得抗体通常具有与鼠起始材料相同或相似的表位特异性。

[0280] 3D6的重链的Kabat/Chothia复合物CDR分别被命名为SEQ ID NO:8、9和10,并且3D6的轻链的Kabat CDR分别被命名为SEQ ID NO:12、13和14。

[0281] 表2指示如由Kabat、Chothia、Chothia和Kabat的复合物(在本文中也称为“Kabat/Chothia复合物”)、AbM和Contact所定义的3D6CDR。

[0282] 表2:如由Kabat、Chothia、Chothia和Kabat的复合物、AbM和Contact所定义的3D6 CDR

[0283]

环	Kabat	Chothia	Chothia & Kabat 的复合物	AbM	Contact
L1	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L30--L36 SEQ ID NO:36
L2	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L46--L55 SEQ ID NO:37
L3	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L96 SEQ ID NO:38
H1	H31--H35B SEQ ID NO:32	H26--H32 SEQ ID NO:33	H26--H35B SEQ ID NO:8	H26--H35B SEQ ID NO:8	H30--H35B SEQ ID NO:39
H2	H50--H65 SEQ ID NO:9	H52--H56 SEQ ID NO:34	H50--H65 SEQ ID NO:9	H50--H58 SEQ ID NO:35	H47--H58 SEQ ID NO:40
H3	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H93--H101 SEQ ID NO:41

[0284] 其他抗体可以通过编码示例性抗体(诸如3D6)的重链和轻链的cDNA的诱变获得。在成熟重链和/或轻链可变区的氨基酸序列中与3D6至少70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一且维持其功能特性,和/或与相应抗体的差别在于少量功能上不重要的氨基酸取代(例如,保守取代)、缺失或插入的单克隆抗体也包括在本发明中。还包括具有至少一个或所有六个CDR的单克隆抗体,所述CDR如由任何常规定义所定义,但优选Kabat,其与3D6的对应CDR具有90%、95%、99%或100%的同一性。

[0285] 本发明还提供了具有完全或基本上来自3D6的一些或全部(例如,3、4、5和6个)CDR的抗体。此类抗体可包括重链可变区,其具有完全或基本上来自3D6的重链可变区的至少两个且通常全部三个CDR;和/或轻链可变区,其具有完全或基本上来自3D6的轻链可变区的至少两个且通常全部三个CDR。抗体可包括重链和轻链。当CDR包含不超过4、3、2或1个取代、插入或缺失时,所述CDR基本上来自对应的3D6 CDR,不同的是CDR-H2(当由Kabat定义时)可具有不超过6、5、4、3、2或1个取代、插入或缺失。此类抗体可在成熟重链和/或轻链可变区的氨基酸序列中与3D6具有至少70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性且维持其功能特性,和/或与3D6的差别在于少量功能上不重要的氨基酸取代(例如,保守取代)、缺失或插入。

[0286] 通过此类测定鉴定的一些抗体可与tau的单体、错误折叠、聚集、磷酸化或非磷酸化形式或其他形式结合。同样,一些抗体对tau的非病理和病理形式和构象具有免疫反应性。

[0287] B. 非人抗体

[0288] 针对tau或其片段(例如,SEQ ID NO:3的氨基酸残基199-213或262-276,分别对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271或320-334;或SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268或290-299或321-330或353-362)的其他非人抗体(例如鼠、豚鼠、灵长类动物、兔或大鼠)的产生可以通过例如用tau或其片段对动物进行免疫来实现。参见Harlow&Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (CSHP NY, 1988) (出于所有目的以引用的方式并入)。这种免疫原可以从天然来源、通过肽合成或通过重组表达获得。任选地,免疫原可以与载体蛋白融合或以其他方式复合进行施用。任选地,免疫原可以与佐剂一起施用。可以如下所述使用几种类型的佐剂。对于实验室动物的免疫,优选完全弗氏佐剂,然后是不完全佐剂。兔或豚鼠通常用于制备多克隆抗体。小鼠通常用于制备单克隆抗体。针对与tau或tau内的表位(例如,包含SEQ ID NO:3的氨基酸残基199-213或262-276;分别对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271或320-334中的一个或多个的表位,或包含SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268或290-299或321-330或353-362中的一个或多个的表位)的特异性结合对抗体进行筛选。这种筛选可以通过以下方式实现:确定抗体与tau变体的集合的结合,所述tau变体诸如含有SEQ ID NO:3的氨基酸残基199-213或262-276(分别对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271或320-334)的tau变体或含有SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268或290-299或321-330或353-362或这些残基内的突变的tau变体;并且确定哪些tau变体与抗体结合。可以例如通过蛋白质印迹、FACS或ELISA评估结合。

[0289] C. 人源化抗体

[0290] 人源化抗体是遗传工程化的抗体,其中将来自非人“供体”抗体的CDR接枝到人“受体”抗体序列中(参见,例如,Queen, US 5,530,101和5,585,089; Winter, US 5,225,539; Carter, US 6,407,213; Adair, US 5,859,205; 以及 Foote, US 6,881,557)。受体抗体序列可以是,例如,成熟人抗体序列、此类序列的复合物、人抗体序列的共有序列或种系区序列。因此,人源化抗体是具有完全或基本上来自供体抗体的至少三个、四个、五个或全部CDR,以及完全或基本上来自人抗体序列的可变区框架序列和恒定区(如果存在的话)的抗体。类似地,人源化重链具有完全或基本上来自供体抗体重链的至少一个、两个且通常全部三个CDR,以及基本上来自人重链可变区框架和恒定区序列的重链可变区框架序列和重链恒定区(如果存在的话)。类似地,人源化轻链具有完全或基本上来自供体抗体轻链的至少一个、两个且通常全部三个CDR,以及基本上来自人轻链可变区框架和恒定区序列的轻链可变区框架序列和轻链恒定区(如果存在的话)。除纳米抗体和dAb之外,人源化抗体包括人源化重链和人源化轻链。当相应CDR之间至少85%、90%、95%或100%的对应残基(如由任何常规定义所定义,但优选地由Kabat定义)同一时,人源化抗体中的CDR基本上来自非人抗体中的对应CDR。当至少85%、90%、95%或100%的由Kabat定义的对应该残基同一时,抗体链的可变区框架序列或抗体链的恒定区分别基本上来自人可变区框架序列或人恒定区。为了根据2014年世界卫生组织(WHO)国际非专有名称(INN)对人源化抗体的定义被归为人源化的,抗体必须与人种系抗体序列(即,在体细胞高频突变(somatic hypermutation)之前)具有至少85%的同一性。混合抗体是一条抗体链(例如,重链)满足阈值但另一条链(例如,轻链)不满足阈值的抗体。如果任一条链都不满足阈值,那么抗体被归为嵌合体,即使两条链的可变框架区是基本上人的,具有一些鼠回复突变。参见Jones等人(2016) *The INNs and outs of antibody nonproprietary names*, mAbs 8:1, 1-9, DOI:10.1080/

19420862.2015.1114320。还可参见“WHO-INN:International nonproprietary names (INN)for biological and bi otechnological substances(a review)”(互联网)2014。可获自:<http://www.who.int/medicines/services/inn/BioRev2014.pdf>),其以引用方式并入本文。为避免疑义,如本文所用的术语“人源化”不旨在限制人源化抗体的2014WHO INN定义。本文所提供的一些人源化抗体与人种系序列具有至少85%的序列同一性,并且本文所提供的一些人源化抗体与人种系序列具有小于85%的序列同一性。本文所提供的人源化抗体的一些重链与人种系序列具有约60%至100%的序列同一性,例如,在约60%至69%、70%至79%、80%至84%或85%至89%的范围内。一些重链不满足2014WHO INN定义,并且与人种系序列具有,例如,约64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%或82%、83%或84%的序列同一性,而其他重链满足2014WHO INN定义并且与人种系序列具有约85%、86%、87%、88%、89%或更高的序列同一性。本文所提供的人源化抗体的一些轻链与人种系序列具有约60%至100%的序列同一性,例如,在约80%至84%或85%至89%的范围内。一些轻链不满足2014WHO INN定义,并且与人种系序列具有,例如,约81%、82%、83%或84%的序列同一性,而其他轻链满足2014WHO INN定义并且与人种系序列具有约85%、86%、87%、88%、89%或更高的序列同一性。根据2014WHO INN定义为“嵌合”的本文所提供的一些人源化抗体具有与人种系序列具有小于85%同一性的重链,所述重链和与人种系序列具有小于85%同一性的轻链配对。根据2014WHO INN定义为“混合”的本文所提供的一些人源化抗体,例如,具有与人种系序列具有至少85%序列同一性的重链,所述重链和与人种系序列具有小于85%序列同一性的轻链配对,或反之亦然。本文所提供的一些人源化抗体满足2014WHO INN“人源化”定义并且具有与人种系序列具有至少85%序列同一性的重链,所述重链和与人种系序列具有至少85%序列同一性的轻链配对。本发明的另外人源化抗体符合2014WHO INN“混合”定义。

[0291] 尽管人源化抗体通常掺入来自小鼠抗体的全部六个CDR(由任何常规定义所定义,但优选由Kabat定义),但它们也可以用少于来自小鼠抗体的全部CDR(例如,至少3个、4个或5个CDR)制备(例如,Pascalis等人,J.Immunol.169:3076,2002;Vajdos等人,J.of Mol.Biol.,320:415-428,2002;Iwahashi等人,Mol.Immunol.36:1079-1091,1999;Tamura等人,J.Immunol.,164:1432-1441,2000)。

[0292] 在一些抗体中,仅需要部分CDR,即结合所需的CDR残基的子集,称为SDR,保持结合在人源化抗体中。可以基于先前的研究(例如,通常不需要CDR H2中的残基H60-H65)从位于Chothia高变环外的Kabat CDR区域(Chothia,J.Mol.Biol.196:901,1987)中,通过分子建模和/或经验性地,或如Gonzales等人,Mol.Immunol.41:863,2004中所述鉴定不接触抗原且不在SDR中的CDR残基。在此类人源化抗体中,在一个或多个供体CDR残基不存在或省略了整个供体CDR的位置处,占据该位置的氨基酸可以是占据受体抗体序列中的对应位置(通过Kabat编号)的氨基酸。CDR中将包括的受体对供体氨基酸的此类取代的数量反映了竞争考虑的平衡。此类取代可能有利于减少人源化抗体中小鼠氨基酸的数量,并且因此降低潜在的免疫原性和/或满足WHO INN“人源化”定义。然而,取代还可引起亲和力的改变,并且优选避免亲和力的显著降低。CDR内用于取代的位置和用于取代的氨基酸也可经验性地选择。

[0293] 人受体抗体序列可任选地选自许多已知的人抗体序列,以在人受体序列可变区框架与供体抗体链的对应的可变区框架之间提供高度的序列同一性(例如,65%-85%的同一

性)。

[0294] 一些人源化和嵌合抗体具有相同(在实验误差范围内)或改进的功能特性,例如,对人tau的结合亲和力,抑制tau内化到神经元中,其可如US公布2020/0369755 A1的实施例所述如同衍生它们的鼠抗体进行测定。例如,一些人源化和嵌合抗体的结合亲和力是衍生它们的鼠抗体的3、2或1倍,或者亲和力在实验误差内不可区分。一些人源化和嵌合抗体抑制tau内化到神经元中,其抑制程度可如US公布2020/0369755 A1的实施例所述测定,是衍生它们的鼠抗体的3、2或1倍,或者其抑制程度在实验误差范围内与衍生它们的小鼠抗体相同。相对于先前描述的3D6抗体的人源化形式,一些人源化抗体表现出降低的免疫原性、增加的亲和力、增加的热稳定性和/或改善的表达(参见WO 2017/191560和US公布2020/0369755 A1),hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4相对于亲本hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2表现出改善的亲和力,如由缔合速率、解离速率和K_d数所证明。hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4表现出比亲本hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2更高的热稳定性和滴度(参见美国公布2020/0369755 A1)。本发明的一些抗体以高亲和力结合tau的特异性同种型,如通过表面等离子体共振所测量。例如,hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4分别以154pM和206pM的K_D结合3R2N-tau(Swiss-prot ID:P10636-5)和4R2N-tau(Swiss-prot ID:P10636-8)。

[0295] 重链的受体序列的实例是具有PDB登录代码2RCS-VH_huFrwk的人源化48G7 Fab的人成熟重链可变区(SEQ ID NO:75)。3D6的可变结构域和48G7 Fab的CDR-H1、H2环也共享相同的长度。重链的受体序列的实例是人成熟重链可变区IMGT#IGHV1-69-2*01(SEQ ID NO:25)。IMGT#IGHV1-69-2*01(SEQ ID NO:25)共享小鼠3D6重链CDR-H1和H2的规范形式。IMGT#IGHV1-69-2*01(SEQ ID NO:25)属于人重链第1亚组。轻链的受体序列的实例是具有PDB登录代码人抗体ARX71335 VL的人成熟轻链可变区(SEQ ID NO:82)。3D6的轻链可变结构域和ARX71335抗体的CDR-L1、L2和L3环也共享相同的长度。轻链的受体序列的实例是人成熟轻链可变区IMGT#IGKV2-30*02(SEQ ID NO:27)。IMGT#IGKV2-30*02(SEQ ID NO:27)与小鼠3D6具有相同的CDR-L1、CDR-L2和L3规范类别。IMGT#IGKV2-30*02(SEQ ID NO:27)属于人κ第2亚组。

[0296] 如果选择多于一种人受体抗体序列,那么可使用那些受体的复合物或杂交体,并且在人源化轻链和重链可变区中的不同位置使用的氨基酸可以取自所用的任何人受体抗体序列。举例来说,使用IMGT#IGHV1-69-2*01(SEQ ID NO:25)和PDB登录代码#2RCS-VH_huFrwk(SEQ ID NO:75)的人成熟重链可变区作为用于3D6成熟重链可变区的人源化的受体序列。其中这两个受体不相同的位置的实例包括位置H17(T或S)。3D6重链可变区的人源化型式可以在此位置包括任一氨基酸。举例来说,使用IMGT#IGKV2-30*02(SEQ ID NO:27)和PDB代码#ARX71335-VL_huFrwk(SEQ ID NO:82)的人成熟轻链可变区作为用于3D6成熟轻链可变区的人源化的受体序列。其中这两个受体不相同的位置的实例是位置L100(Q或A)。3D6轻链可变区的人源化型式可以在此位置包括任一氨基酸。

[0297] 可以基于来自人可变区框架残基的某些氨基酸对CDR构象和/或与抗原的结合的可能影响来选择它们用于取代。对此类可能影响的研究通过建模、检查特定位置处的氨基酸的特征,或经验观察特定氨基酸的取代或诱变的作用来实现。

[0298] 举例来说,当鼠可变区框架残基与选定的人可变区框架残基之间的氨基酸不同时,当合理地预期氨基酸有以下特征时人框架氨基酸可以被来自小鼠抗体的等效框架氨基

酸取代:

[0299] (1) 直接非共价结合抗原;

[0300] (2) 与CDR区相邻或在由Chothia但不是Kabat所定义的CDR内;

[0301] (3) 或者与CDR区相互作用(例如,在CDR区的约6 Å内), (例如,通过对同源已知免疫球蛋白链的解析结构上的轻链或重链进行建模来鉴定);或

[0302] (4) 是参与VL-VH界面的残基。

[0303] 在一个实施方案中,使用两阶段PCR方案生成人源化序列,其允许使用QuikChange定点诱变引入多个突变、缺失和插入[Wang,W.和Malcolm,B.A. (1999) BioTechniques 26: 680-682]]。

[0304] 来自Queen,US 5,530,101定义的类别(1)至(3)的框架残基有时另选地被称为规范残基和微调残基(vernier residue)。有助于限定CDR环的构象的框架残基有时被称为规范残基(Chothia&Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987);Thornton&Martin,J.Mol.Biol.263:800-815(1996))。支持抗原结合环构象并在精细调节抗体与抗原的配合中发挥作用的框架残基有时被称为微调残基(Foote&Winter,J.Mol.Biol.224:487-499(1992))。

[0305] 作为取代候选的其他框架残基是产生潜在糖基化位点的残基。其他取代候选是受体人框架氨基酸,其在该位置对于人免疫球蛋白不常见。这些氨基酸可以被来自小鼠供体抗体的等同位置或来自更典型的人免疫球蛋白的等同位置的氨基酸取代。

[0306] 作为取代候选的其他框架残基是N末端谷氨酰胺残基(Q),其可以替换为谷氨酸(E)以最小化焦谷氨酸转化的可能性[Y.Diana Liu等人,2011,J.Biol.Chem.,286:11211-11217]。谷氨酸(E)至焦谷氨酸(pE)的转化比从谷氨酰胺(Q)转化更慢地发生。由于在谷氨酰胺至pE转化中失去伯胺,因此抗体变得具有更大酸性。不完全转化产生抗体的异质性,这使用基于电荷的分析方法可以观察为多个峰。异质性差异可能表明缺乏过程控制。

[0307] 示例性人源化抗体是小鼠3D6的人源化形式,命名为Hu3D6。

[0308] 小鼠抗体3D6包括成熟重链和轻链可变区,所述成熟重链和轻链可变区分别具有包含SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:11的氨基酸序列。本发明提供了鼠3D6抗体的人源化形式,包括10个所例示的人源化成熟重链可变区(hu3D6VHvb1(SEQ ID NO:76)、hu3D6VHvb2(SEQ ID NO:77)、hu3D6VHvb3(SEQ ID NO:78)、hu3D6VHvb4(SEQ ID NO:79)、hu3D6VHvb5(SEQ ID NO:80)、hu3D6VHvb6(SEQ ID NO:90)、hu3D6VHvb7(SEQ ID NO:91)、hu3D6VHv1bA11 D60E(h3D6VHvb8,SEQ ID NO:146)、hu3D6VHv1bA11 L82cV(SEQ ID NO:147)和hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R(h3D6VHvb9,SEQ ID NO:148))和56个所例示的人源化成熟轻链可变区(hu3D6VLvb1(SEQ ID NO:83)、hu3D6VLvb2(SEQ ID NO:84)、hu3D6VLvb3(SEQ ID NO:85)、hu3D6VLv2 L54D(SEQ ID NO:93)、hu3D6VLv2 L54G(SEQ ID NO:94)、hu3D6VLv2 L54N(SEQ ID NO:95)、hu3D6VLv2 L54E(SEQ ID NO:96)、hu3D6VLv2 L50E(SEQ ID NO:97)、hu3D6VLv2 L54Q(SEQ ID NO:98)、hu3D6VLv2 L50D(SEQ ID NO:99)、hu3D6VLv2 L54K(SEQ ID NO:100)、hu3D6VLv2 L54R(SEQ ID NO:101)、hu3D6VLv2 L54T(SEQ ID NO:102)、hu3D6VLv2 L50G(SEQ ID NO:103)、hu3D6VLv2 I48G(SEQ ID NO:104)、hu3D6VLv2 I48D(SEQ ID NO:105)、hu3D6VLv2 L47G(SEQ ID NO:106)、hu3D6VLv2 Y49E(SEQ ID NO:107)、hu3D6VLv2 L54V(SEQ ID NO:108)、hu3D6VLv2 L54S(SEQ ID NO:109)、hu3D6VLv2 S52G(SEQ

ID NO:110)、hu3D6VLv2 L47N(SEQ ID NO:111)、hu3D6VLv2 L47D(SEQ ID NO:112)、hu3D6VLv2 L47E(SEQ ID NO:113)、hu3D6VLv2 L47P(SEQ ID NO:114)、hu3D6VLv2 L47T(SEQ ID NO:115)、hu3D6VLv2 L47S(SEQ ID NO:116)、hu3D6VLv2 L47A(SEQ ID NO:117)、hu3D6VLv2 L50V(SEQ ID NO:118)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R(SEQ ID NO:119)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G(SEQ ID NO:120)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G(SEQ ID NO:121)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R(SEQ ID NO:122)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T(SEQ ID NO:123)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D(SEQ ID NO:124)、hu3D6VLv2 L37Q_L54R(SEQ ID NO:125)、hu3D6VLv2 L37Q_L54G(SEQ ID NO:126)、hu3D6VLv2 L37Q_L54D(SEQ ID NO:127)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G(SEQ ID NO:128)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D(SEQ ID NO:129)、hu3D6VLv2 L37Q_L54T(SEQ ID NO:130)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G(SEQ ID NO:131)、hu3D6VLv2 L37Q_L54E(SEQ ID NO:145)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G(SEQ ID NO:132)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R(SEQ ID NO:133)、hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G(SEQ ID NO:134)、hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R(SEQ ID NO:135)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q(SEQ ID NO:136)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q(SEQ ID NO:137)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q(SEQ ID NO:138)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q(SEQ ID NO:139)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q(SEQ ID NO:140)、hu3D6VL v2 L37Q_L50D_L54R_G100Q(SEQ ID NO:141)、hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q(SEQ ID NO:142)、hu3D6VLv2 L37Q(SEQ ID NO:143)和hu3D6VLv2 G100Q(SEQ ID NO:144))。

[0309] US公布2020/0369755 A1的图2和图3分别示出鼠3D6和各种人源化抗体的重链可变区和轻链可变区的比对。US公布2020/0369755 A1的图9A和9B示出鼠3D6的重链可变区与各种人源化抗体的重链可变区的比对。US公布2020/0369755 A1的图10A、10B、10C和10D示出hu3D6VLv2的轻链可变区与各种人源化抗体的轻链可变区的比对。

[0310] 出于诸如可能影响CDR构象和/或与抗原的结合、介导重链与轻链之间的相互作用、与恒定区的相互作用、是期望或不期望的翻译后修饰的位点、是其在人可变区序列中的位置的不常见残基且因此潜在地具有免疫原性、得到聚集潜力以及其他原因之类的原因，以下35个可变区框架位置被认为是用于56个所例示的人成熟轻链可变区和10个所例示的人成熟重链可变区中的取代候选，如US公布2020/0369755 A1的实施例中进一步指定的：L7 (T7S)、L10 (T10S)、L15 (I15L)、L17 (Q17E)、L37 (L37Q)、L45 (K45R)、L47 (L47G、L47N、L47D、L47E、L47P、L47T、L47S或L47A)、L48 (I48G或I48D)、L49 (Y49E)、L83 (L83V)、L86 (H86Y)、L100 (A100Q)、L106 (L106I)、H1 (Q1E)、H5 (Q5V)、H11 (L11V)、H17 (S17T)、H20 (L20I)、H23 (T23K)、H38 (K38R)、H42 (E42G)、H43 (Q43K)、H66 (K66R)、H67 (A67V)、H75 (S75T)、H76 (N76D)、H80 (L80M)、H81 (Q81E)、H82c (L82cV)、H83 (T83R)、H91 (Y91F)、H93 (A93S)、H94 (S94T)、H108 (T108L)和H109 (L109V)。以下9个可变区CDR位置被认为是用于56个所例示的人成熟轻链可变区和10个所例示的人成熟重链可变区中的取代候选，如US公布2020/0369755 A1的实施例中进一步指定的：L24 (K24R)、L50 (L50E、L50D、L50G或L50V)、L52 (S52G)、L54 (L54D、L54G、L54N、L54E、L54Q、L54K、L54R、L54T、L54V或L54S)、H28 (N28T)、H54 (N54D)、H56 (D56E)、H58 (V58I)和H60 (D60E)。在一些人源化3D6抗体中，Kabat CDR-H2具有包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中，Kabat CDR-H2具有包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中，Kabat-Chothia复合物CDR-H1具有包含SEQ ID NO:86的氨基酸序

列,并且Kabat CDR-H2具有包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中,Kabat-Chothia复合物CDR-H1具有包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列,并且Kabat CDR-H2具有包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中,Kabat-Chothia复合物CDR-H1具有包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列,并且Kabat CDR-H2具有包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中,Kabat CDR-L1具有包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中,Kabat CDR-L2包含选自SEQ ID NO:150-175组成的组的氨基酸序列。

[0311] 此处,与其他地方一样,第一个提到的残基是通过将Kabat CDR或复合物Chothia-Kabat CDR (在CDR-H1的情况下)接枝到人受体框架中而形成的人源化抗体的残基,并且第二个提到的残基是考虑替换这一残基的残基。因此,在可变区框架内,第一个提到的残基是人,并且在CDR内,第一个提到的残基是小鼠。

[0312] 所例示的抗体包括所例示的成熟重链和轻链可变区的任何排列或组合:VHvb1/VLvb1、VHvb1/VLvb2、VHvb1/VLvb3、VHvb2/VL vb1、VHvb2/VLvb2、VHvb2/VLvb3、VHvb3/VLvb1、VHvb3/VLvb2、VHvb3/VLvb3、VHvb4/VLvb1、VHvb4/VLvb2、VHvb4/VLvb3、VH vb5/VLvb1、VHvb5/VLvb2、VHvb5/VLvb3、VHvb6/VLvb1、VHvb6/VLvb2、VHvb6/VLvb3、VHvb7/VLvb1、VHvb7/VLvb2、VHvb7/VL vb3。所例示的抗体包括所例示的成熟重链可变区hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76)、hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77)、hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78)、hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79)、hu3D6Hvb5 (SEQ ID NO:80)、hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90)、hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91)、hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91)、hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146)、hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147) 和hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148) 与人源化3D6VL轻链可变区hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)、hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)、hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)、hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93)、hu3D6VLv2L54G (SEQ ID NO:94)、hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95)、hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96)、hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97)、hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98)、hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99)、hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100)、hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101)、hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102)、hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103)、hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104)、hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105)、hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106)、hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107)、hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108)、hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109)、hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110)、hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111)、hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112)、hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113)、hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114)、hu3D6VLv2L47T (SEQ ID NO:115)、hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116)、hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117)、hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124)、hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125)、hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126)、hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129)、hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131)、

hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133)、hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134)、hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138)、hu3D6VL v2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141)、hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142)、hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143) 和 hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144) 中任一者的任何排列或组合。

[0313] 所例示的抗体包括所例示的成熟重链可变区 hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76)、hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77)、hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78)、hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79)、hu3D6Hvb5 (SEQ ID NO:80)、hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90)、hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91)、hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91)、hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146)、hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147) 和 hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VH vb9, SEQ ID NO:148) 与人源化 3D6VL 轻链可变区 hu3D6VLv1 (SEQ ID NO:20)、hu3D6VLv2 (SEQ ID NO:21)、hu3D6VLv3 (SEQ ID NO:22) 和 hu3D6VLv4 (SEQ ID NO:22) 中任一者的任何排列或组合。所例示的抗体包括所例示的成熟轻链可变区 hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)、hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)、hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)、hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93)、hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94)、hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95)、hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96)、hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97)、hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98)、hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99)、hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100)、hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101)、hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102)、hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103)、hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104)、hu3D6VL v2 I48D (SEQ ID NO:105)、hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106)、hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107)、hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108)、hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109)、hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110)、hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111)、hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112)、hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113)、hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114)、hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115)、hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116)、hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117)、hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124)、hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125)、hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126)、hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129)、hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131)、hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133)、hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134)、hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q

(SEQ ID NO:140)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q(SEQ ID NO:141)、hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q(SEQ ID NO:142)、hu3D6VLv2 L37Q(SEQ ID NO:143)和hu3D6VLv2 G100Q(SEQ ID NO:144)与人源化3D6重链可变区hu3D6VHv1(SEQ ID NO:15);hu3D6VHv2(SEQ ID NO:16);hu3D6VHv1b(SEQ ID NO:17);hu3D6VHv1bA11(SEQ ID NO:18);hu3D6VHv5(SEQ ID NO:19);hu3D6VHv1bA11B6G2(SEQ ID NO:46);hu3D6VHv1bA11B6H3(SEQ ID NO:47);hu3D6VHv1c(SEQ ID NO:48);hu3D6VHv1d(SEQ ID NO:49);hu3D6VHv1e(SEQ ID NO:50);hu3D6VHv1f(SEQ ID NO:51);hu3D6VHv3(SEQ ID NO:52);hu3D6VHv3b(SEQ ID NO:53);hu3D6VHv3c(SEQ ID NO:54);hu3D6VHv4(SEQ ID NO:55);hu3D6VHv4b(SEQ ID NO:56);和hu3D6VHv4c(SEQ ID NO:57)中任一者的任何排列或组合。

[0314] 本发明提供了抗体,其中人源化重链可变区hu3D6VHv1bA11,也称为h3D6Hu5,(SEQ ID NO:18)与人源化轻链可变区hu3D6VLv2L37Q_S52G_L54R(L2-DIM4,SEQ ID NO:122)组合。本发明提供了抗体,其中人源化重链可变区hu3D6VHv1bA11,也称为h3D6Hu5,(SEQ ID NO:18)与人源化轻链可变区hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T(L2-DIM5,SEQ ID NO:123)组合。本发明提供了抗体,其中人源化重链可变区h3D6VHvb8(SEQ ID NO:146)与人源化轻链可变区hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R(L2-DIM4,SEQ ID NO:122)组合。本发明提供了抗体,其中人源化重链可变区hu3D6VHv1bA11,也称为h3D6Hu5,(SEQ ID NO:18)与人源化轻链可变区hu3D6VLv2L37Q_S52G_L54G(L2-DIM3,SEQ ID NO:121)组合。本发明提供了抗体,其中人源化重链可变区hu3D6VHv1bA11,也称为h3D6Hu5,(SEQ ID NO:18)与人源化轻链可变区hu3D6VLv2 S52G(L2-DIM9,SEQ ID NO:110)组合。本发明提供了抗体,其中人源化重链可变区h3D6VHvb8(SEQ ID NO:146)与人源化轻链可变区hu3D6VLv2 L54G(L2-DIM7,SEQ ID NO:94)组合。本发明提供了抗体,其中人源化重链可变区hu3D6VHv1bA11,也称为h3D6Hu5,(SEQ ID NO:18)与人源化轻链可变区hu3D6VLv2 L50G(L2-DIM22,SEQ ID NO:103)组合。

[0315] 本发明提供了抗体,其中所例示的人源化重链可变区中的任一者与人重链恒定区组合。示例性人重链恒定区提供为SEQ ID NO:176(IgG1:同种异型G1m17,1)。例如,SEQ ID NO:178列出了3D6人源化变体的成熟重链(hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17同种异型)的氨基酸序列。例如,SEQ ID NO:180列出了3D6人源化变体的重链(hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17同种异型)的氨基酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽。本发明提供了抗体,其中所例示的人源化轻链可变区中的任一者与轻链恒定区组合。示例性轻链恒定区提供为SEQ ID NO:177(κ)。例如,SEQ ID NO:179列出了3D6人源化变体的成熟轻链(hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R,L2-DIM4 κ)的氨基酸序列。例如,SEQ ID NO:181列出了3D6人源化变体的轻链(hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R,L2-DIM4 κ)的氨基酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽。

[0316] 本发明提供了3D6人源化抗体的变体,其中人源化成熟重链可变区显示出与hu3D6VHvb1(SEQ ID NO:76)、hu3D6VHvb2(SEQ ID NO:77)、hu3D6VHvb3(SEQ ID NO:78)、hu3D6VHvb4(SEQ ID NO:79)、hu3D6Hvb5(SEQ ID NO:80)、hu3D6VHvb6(SEQ ID NO:90)、hu3D6VHvb7(SEQ ID NO:91)、hu3D6VHvb7(SEQ ID NO:91)、hu3D6VHv1bA11 D60E(h3D6VHvb8,SEQ ID NO:146)、hu3D6VHv1bA11 L82cV(SEQ ID NO:147)或hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R(h3D6VHvb9,SEQ ID NO:148)至少90%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性,并且人源化成熟轻链可变区显示出与hu3D6VLvb1(SEQ ID NO:83)、

hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)、hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)、hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93)、hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94)、hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95)、hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96)、hu3D6VLv2L50E (SEQ ID NO:97)、hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98)、hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99)、hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100)、hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101)、hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102)、hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103)、hu3D6VLv2I48G (SEQ ID NO:104)、hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105)、hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106)、hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107)、hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108)、hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109)、hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110)、hu3D6VLv2L47N (SEQ ID NO:111)、hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112)、hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113)、hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114)、hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115)、hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116)、hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117)、hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124)、hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125)、hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126)、hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129)、hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131)、hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133)、hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134)、hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136)、hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138)、hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140)、hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141)、hu3D6VLv2L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142)、hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143)或hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144)至少90%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性。在一些此类抗体中,SEQ ID NO:76-80、SEQ ID NO:90-91、SEQ ID NO:146-148、SEQ ID NOs:83-85和SEQ ID NO:93-145中的至少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、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44或全部44个回复突变或其他突变被保留。

[0317] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:H93被S占据,并且H94被T占据。在一些人源化3D6抗体中,位置H93和H94分别被S和T占据。

[0318] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H91被F占据。

[0319] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:H1被E占据,H5被V占据,H11被V占据,H20被I占据,H23被K占据,H38被R占据,H42被G占据,H43被K占据,H66被R占据,H75被T占据,H76被D占据,H81被E占据,H108被L占据,H109被V占据。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H1、H5、H11、H20、H23、H38、H42、H43、H66、H75、H76、H81、H108和H109分别被E、V、V、I、K、R、G、K、R、T、D、E、L和V占据。

[0320] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:

H17被T占据,H80被M占据,H83被R占据。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H17、H80和H83分别被T、M和R占据。

[0321] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H58被I占据。

[0322] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:H28被T占据,H67被V占据。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H28和H67分别被T和V占据。

[0323] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:H54被D占据,H56被E占据。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H54和H56分别被D和E占据。

[0324] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:H1被Q或E占据,H5被Q或V占据,H11被L或V占据,H17被S或T占据,H20被L或I占据,H23被T或K占据,H28被N或T占据,H38被K或R占据,H42被E或G占据,H43被Q或K占据,H54被N或D占据,H56被D或E占据,H58被V或I占据,H66被K或R占据,H67被A或V占据,H75被S或T占据,H76被N或D占据,H80被L或M占据,H81被Q或E占据,H83被T或R占据,H91被F或Y占据,H93被S占据,H94被T占据,H108被T或L占据,H109被L或V占据。

[0325] 在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H91、H93和H94分别被F、S和T占据,如在huVHvb1中。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H1、H5、H11、H20、H23、H38、H42、H43、H66、H75、H76、H81、H91、H93、H94、H108和H109分别被E、V、V、I、K、R、G、K、R、T、D、E、F、S、T、L和V占据,如在huVHvb2中。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H1、H5、H11、H17、H20、H23、H38、H42、H43、H58、H66、H75、H76、H80、H81、H83、H93、H94、H108和H109分别被E、V、V、T、I、K、R、G、K、I、R、T、D、M、E、R、S、T、L和V占据,如在huVHvb3中。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H1、H5、H11、H17、H20、H23、H28、H38、H42、H43、H58、H66、H67、H75、H76、H80、H81、H83、H93、H94、H108和H109分别被E、V、V、T、I、K、T、R、G、K、I、R、V、T、D、M、E、R、S、T、L和V占据,如在huVHvb4中。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H1、H5、H11、H17、H20、H23、H28、H38、H42、H43、H54、H56、H58、H66、H67、H75、H76、H80、H81、H83、H93、H94、H108和H109分别被E、V、V、T、I、K、T、R、G、K、D、E、I、R、V、T、D、M、E、R、S、T、L和V占据,如在huVHvb5中。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H1、H5、H11、H17、H20、H23、H28、H38、H42、H43、H54、H56、H66、H67、H75、H76、H80、H81、H83、H91、H93、H94、H108和H109分别被E、V、V、T、I、K、T、R、G、K、D、E、R、V、T、D、M、E、R、F、S、T、L和V占据,如在huVHvb6中。在一些人源化3D6抗体中,VH区中的位置H1、H5、H11、H17、H20、H23、H28、H38、H42、H43、H54、H56、H66、H67、H75、H76、H80、H81、H83、H93、H94、H108和H109分别被E、V、V、T、I、K、T、R、G、K、D、E、R、V、T、D、M、E、R、S、T、L和V占据,如在huVHvb7中。

[0326] 在一些人源化3D6抗体中,位置H60被E占据,如在hu3D6VHv1bA11 D60E(h3D6VHvb8)中。在一些人源化3D6抗体中,位置H82C被V占据,如在hu3D6VHv1bA11 L82cV中。在一些人源化3D6抗体中,位置H60、H80、H81、H82c和H83被E、M、E、V和R占据,如在hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R(h3D6VHvb9)中。

[0327] 可以对上述抗体中的任一者的重链可变区进行修饰以进一步降低免疫原性。例如,在一些人源化抗体中,位置H80被M占据和/或位置H82c被V占据。

[0328] 在一些人源化3D6抗体中,VL区中的以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:

L7被S占据,L10被S占据,L15被L占据,L83被V占据,L86被Y占据,并且L106被I占据。在一些人源化3D6抗体中,位置L7、L10、L15、L83、L86和L106分别被S、S、L、V、Y和Y占据。

[0329] 在一些人源化3D6抗体中,VL区中的以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:L7是T或S,L10是T或S,L15是I或L,L17是Q或E,L24是K或R,L37是L或Q,L45是K或R,L83是L或V,L86是H或Y,L100是A或Q,L106是L或I。

[0330] 在一些人源化3D6抗体中,VL区中的位置L7、L10、L15、L83、L86和L106分别被S、S、L、V、Y和I占据,如在huVLvb2中。在一些人源化3D6抗体中,VL区中的位置L7、L10、L15、L17、L24、L37、L45、L83、L86、L100和L106分别被S、S、L、E、R、Q、R、V、Y、Q和I占据,如在huVLvb3中。

[0331] 可以对上述抗体中的任一者的轻链可变区进行修饰以进一步降低免疫原性。例如,在一些人源化抗体中,位置L47被G、N、D、E、P、T、S或A占据;位置L48被G或D占据;位置L49被E占据;位置L50被E、D、G或V占据;位置L52被G占据;和/或位置L54被D、G、N、E、Q、K、R、T、V或S占据。可以对上述抗体中的任一者的重链可变区进行修饰以进一步降低免疫原性。例如,在一些人源化抗体中,位置H80被M占据和/或位置H82c被V占据。

[0332] 在一些人源化3D6抗体中,位置L54被D占据,如在hu3D6VLv2L54D中。在一些人源化3D6抗体中,位置L54被G占据,如在hu3D6VLv2 L54G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L54被N占据,如在hu3D6VLv2 L54N中,在一些人源化3D6抗体中,位置L54被E占据,如在hu3D6VLv2 L54E中。在一些人源化3D6抗体中,位置L50被E占据,如在hu3D6VLv2 L50E中。在一些人源化3D6抗体中,位置L54被Q占据,如在hu3D6VLv2 L54Q中。在一些人源化3D6抗体中,位置L50被D占据,如在hu3D6VLv2 L50D中。在一些人源化3D6抗体中,位置L54被K占据,如在hu3D6VLv2L54K中。在一些人源化3D6抗体中,位置L54被R占据,如在hu3D6VLv2 L54R中。在一些人源化3D6抗体中,位置L54被T占据,如在hu3D6VLv2 L54T中。在一些人源化3D6抗体中,位置L50被G占据,如在hu3D6VLv2 L50G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L48被G占据,如在hu3D6VLv2 I48G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L48被D占据,如在hu3D6VLv2 I48D中。在一些人源化3D6抗体中,位置L47被G占据,如在hu3D6VLv2 L47G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L49被E占据,如在hu3D6VLv2 Y49E中。在一些人源化3D6抗体中,位置L54被V占据,如在hu3D6VLv2L54V中。在一些人源化3D6抗体中,位置L54被S占据,如在hu3D6VLv2 L54S中。在一些人源化3D6抗体中,位置L52被G占据,如在hu3D6VLv2 S52G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L47被N占据,如在hu3D6VLv2 L47N中。在一些人源化3D6抗体中,位置L47被D占据,如在hu3D6VLv2 L47D中。在一些人源化3D6抗体中,位置L47被E占据,如在hu3D6VLv2 L47E中。在一些人源化3D6抗体中,位置L47被P占据,如在hu3D6VLv2 L47P中。在一些人源化3D6抗体中,位置L47被T占据,如在hu3D6VLv2L47T中。在一些人源化3D6抗体中,位置L47被S占据,如在hu3D6VLv2 L47S中。在一些人源化3D6抗体中,位置L47被A占据,如在hu3D6VLv2 L47A中。在一些人源化3D6抗体中,位置L50被V占据,如在hu3D6VLv2 L50V中。

[0333] 在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50和L54分别被Q、G和R占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50和L54分别被Q、G和G占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L52和L54分别被Q、G和G占据,如在hu3D6VLv2L37Q_S52G_L54G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L52和L54分别被Q、G和R占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L52和L54分别被Q、G和T占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T中。在一些人源化3D6抗体中,位

置L37、L52和L54分别被Q、G和D占据,如在hu3D6VLv2L37Q_S52G_L54D中。

[0334] 在一些人源化3D6抗体中,位置L37和L54分别被Q和R占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L54R中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37和L54分别被Q和G占据,如在中hu3D6VLv2 L37Q_L54G。在一些人源化3D6抗体中,位置L37和L54分别被Q和D占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L54D中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37和L50分别被Q和G占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37和L50分别被Q和D占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37和L54分别被Q和T占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L54T中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37和L52分别被Q和G占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37和L54分别被Q和E占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L54E中。

[0335] 在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50和L54分别被Q、D和G占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50和L54分别被Q、D和R占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50和L54分别被Q、E和G占据,如在hu3D6VLv2L37Q_L50E_L54G中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50和L54分别被Q、E和R占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R中。

[0336] 在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50、L54和L100分别被Q、G、R和Q占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50、L54和L100分别被Q、G、G和Q占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L52、L54和L100分别被Q、G、R和Q占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L52、L54和L100分别被Q、G、D和Q占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50、L54和L100分别被Q、D、G和Q占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50、L54和L100分别被Q、D、R和Q占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q中。在一些人源化3D6抗体中,位置L37、L50、L54和L100分别被Q、V、D和Q占据,如在hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q中。

[0337] 在一些人源化3D6抗体中,位置L37被Q占据,如在hu3D6VLv2L37Q中。在一些人源化3D6抗体中,位置L100被Q占据,如在hu3D6VLv2 G100Q中。

[0338] 一些人源化3D6抗体包含成熟重链可变区,所述成熟重链可变区包含分别含有SEQ ID NO:8、9和10的CDR H1、H2和H3,除了位置H28可被N或T占据,H54可被N或D占据,H56可被D或E占据,位置H58可被V或I占据并且位置H60可被D或E占据;和成熟轻链可变区,所述成熟轻链可变区包含分别含有SEQ ID NO:12、13和14的CDR L1、L2和L3,除了位置L24可被K或R占据,位置L50可被L、E、D、G或V占据,位置L52可被S或G占据,并且位置L54可被L、D、G、N、E、Q、K、R、T、V或S占据,其中以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:H1被Q占据,H5被Q占据,H11被L占据,H20被L占据,H23被T占据,H38被K占据,H75被S占据,H56被E占据,H58被I占据,H60被E占据,H82c被V占据,L10被T占据,L17被E占据,L24被R占据,L37被Q占据,L47被G、N、D、E、P、T、S或A占据,L48被G或D占据,L49被E占据,L50被E、D、G或V占据,L52被G占据,L54被D、G、N、E、Q、K、R、T、V或S占据,L83被L占据,L86被H占据,L100被Q占据,L106被L占据。

[0339] 一些人源化3D6抗体包含单克隆抗体3D6的三个轻链CDR和三个重链CDR,其中3D6是小鼠抗体,其特征在于具有包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变区和具有包含SEQ

ID NO:11的氨基酸序列的轻链可变区,除了位置H27可被F或Y占据,位置H28可被N或T占据,位置H29可被I或F占据,位置H30可被K或T占据,位置H51可被I或V占据,位置H54可被N或D占据,位置H60可被D、A或E占据,位置H61可被P或E占据,位置H102可被F或Y占据,位置L50可被L、E、D、G或V占据,位置L52可被S或G占据,并且位置L54可被L、D、G、N、E、Q、K、R、T、V或S占据,其中以下位置中的至少一者被指定的氨基酸占据:L37被Q占据,L47被G、N、D、E、P、T、S或A占据,L48被G或D占据,L49被E占据,L50被E、D、G或V占据,L52被G占据,L54被D、G、N、E、Q、K、R、T、V或S占据,L100被Q占据,H60被E占据,H82c被V占据。

[0340] 在一些人源化3D6抗体中,可变重链与人序列具有 $\geq 85\%$ 同一性。在一些人源化3D6抗体中,可变轻链与人序列具有 $\geq 85\%$ 同一性。在一些人源化3D6抗体中,可变重链和可变轻链各自与人种系序列具有 $\geq 85\%$ 同一性。在一些人源化3D6抗体中,三个重链CDR如由Kabat/Chothia复合物(SEQ ID NO:8、9和10)所定义,并且三个轻链CDR如由Kabat/Chothia复合物(SEQ ID NO:12、13和14)所定义;条件是位置H28被N或T占据,位置H54被N或D占据,位置H56被D或E占据,位置H58被V或I占据,位置H60被D或E占据,位置L24被K或R占据,位置L50被L、E、D、G或V占据,位置L52被S或G占据,并且位置L54被L、D、G、N、E、Q、K、R、T、V或S占据。在一些人源化3D6抗体中,Kabat/Chothia复合物CDR-H1具有包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中,Kabat CDR-H2具有包含SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:149的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中,Kabat CDR-L1具有包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列。在一些人源化3D6抗体中,Kabat CDR-L2包含选自SEQ ID NO:150-175组成的组的氨基酸序列。

[0341] 此类人源化抗体的CDR区可与3D6的CDR区同一或基本同一,CDR区可由任何常规定义(例如,Chothia,或Chothia和Kabat的复合物)来定义,但优选如由Kabat所定义。

[0342] 除非另外指出,否则可变区框架位置符合Kabat编号。其他此类变体通常与所例示的Hu3D6重链和轻链的序列相差少量的(例如,通常不超过1、2、3、5、10或15个)替换、缺失或插入。此类差异通常在框架中,但也可存在于CDR中。

[0343] 人源化3D6变体的另外变异的可能性是可变区框架中的另外的回复突变。人源化mAb中不与CDR接触的许多框架残基可以适应来自供体小鼠mAb或其他小鼠或人抗体的对应位置的氨基酸的取代,并且甚至许多潜在的CDR接触残基也允许取代。甚至CDR内的氨基酸也可以被改变,例如,使用在用于提供可变区框架的人受体序列的对应位置处发现的残基。另外,可使用另选的人受体序列,例如,用于重链和/或轻链。如果使用不同的受体序列,那么可以不进行上文推荐的一种或多种回复突变,因为在没有回复突变的情况下对应的供体和受体残基已经相同。

[0344] 优选地,人源化3D6变体中的替换或回复突变(无论是否保守)对人源化mAb的结合亲和力或效力,即其与tau结合的能力没有实质影响。

[0345] 人源化3D6抗体通过它们结合磷酸化和未磷酸化tau两者以及tau的错误折叠/聚集形式的能力进一步表征。

[0346] D. 嵌合和饰面抗体

[0347] 本发明还提供了非人抗体,具体为实施例的3D6抗体的嵌合和饰面形式。

[0348] 嵌合抗体是其中非人抗体(例如,小鼠)的轻链和重链的成熟可变区与人轻链和重链恒定区组合的抗体。此类抗体基本上或完全保留小鼠抗体的结合特异性,并且是约三分

之二的人序列。在一个实施方案中,嵌合3D6抗体具有SEQ ID NO:72的重链氨基酸序列和SEQ ID NO:73的轻链氨基酸序列。

[0349] 饰面抗体是一种类型的人源化抗体,其保留非人抗体的一些且通常所有CDR和一些非人可变区框架残基,但将可有助于B或T细胞表位的其他可变区框架残基,例如暴露残基(Padlan, Mol. Immunol. 28:489, 1991) 替换为来自人抗体序列的对应位置的残基。结果是其中CDR完全或基本上来自非人抗体,并且非人抗体的可变区框架通过取代而变得更像人的抗体。3D6抗体的饰面形式包括在本发明中。

[0350] E. 人抗体

[0351] 针对tau或其片段(例如,SEQ ID NO:3的氨基酸残基199-213和/或262-276,分别对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271和/或320-334,或SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268或290-299或321-330或353-362,或其二者、三者或全部4者的任何组合)的人抗体通过下文所述的多种技术提供。通过竞争性结合实验,通过Winter的噬菌体展示方法(上文)或以其他方式选择一些人抗体,以具有与特定小鼠抗体(诸如实施例所述的小鼠单克隆抗体中的一个)相同的表位特异性。还可以通过仅使用tau的片段,诸如仅含有SEQ ID NO:3的氨基酸残基199-213或262-276(分别对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271或320-334)或仅含有SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268或290-299或321-330或353-362作为靶抗原,和/或通过针对tau变体的集合,诸如在SEQ ID NO:3的氨基酸残基199-213或262-276(分别对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271或320-334)内或在SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268或290-299或321-330或353-362内含有各种突变的tau变体筛选抗体来针对特定表位特异性对人抗体进行筛选。

[0352] 用于产生人抗体的方法包括Oestberg等人,Hybridoma 2:361-367(1983); Oestberg,美国专利第4,634,664号;和Engleman等人,美国专利4,634,666的三体杂交瘤法;使用包括人免疫球蛋白基因的转基因小鼠(参见,例如,Lonberg等人,W093/12227(1993);US 5,877,397;US 5,874,299;US 5,814,318;US 5,789,650;US 5,770,429;US 5,661,016;US 5,633,425;US 5,625,126;US 5,569,825;US 5,545,806;Neuberger, Nat. Biotechnol. 14:826(1996);和Kucherlapati, W0 91/10741(1991));噬菌体展示方法(参见,例如,Dower等人,W0 91/17271;McCafferty等人,W0 92/01047;US 5,877,218;US 5,871,907;US 5,858,657;US 5,837,242;US 5,733,743;和US 5,565,332);以及W0 2008/081008中描述的方法(例如,将从人分离的记忆B细胞永生,例如用EBV,针对期望特性进行筛选,并且克隆和表达重组形式)。

[0353] F. 恒定区的选择

[0354] 嵌合、饰面或人源化抗体的重链和轻链可变区可以与人恒定区的至少一部分连接。恒定区的选择部分取决于是否需要抗体依赖性细胞介导的细胞毒性、抗体依赖性细胞吞噬和/或补体依赖性细胞毒性。举例来说,人同种型IgG1和IgG3具有补体依赖性细胞毒性,而人同种型IgG2和IgG4则没有。人IgG1和IgG3还诱导比人IgG2和IgG4更强的细胞介导的效应子功能。轻链恒定区可以是 λ 或 κ 。恒定区的编号惯例包括EU编号(Edelman, G.M. 等人, Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969))、Kabat编号(Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991))、IMGT唯一编号(Lefranc M.-P. 等人, IMGT unique numbering for immunoglobulin and T

cell receptor constant domains and Ig superfamily C-like domains, Dev.Comp.Immunol., 29, 185-203 (2005)) 以及IMGT外显子编号 (Lefranc, 同上)。

[0355] 轻链和/或重链的氨基或羧基末端的一个或几个氨基酸, 诸如重链的C末端赖氨酸, 可在一部分或全分子中缺失或衍生。可在恒定区中进行取代以减少或增加效应子功能, 诸如补体介导的细胞毒性或ADCC (参见, 例如, Winter等人, 美国专利号5,624,821; Tso等人, 美国专利号5,834,597; 以及Lazar等人, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 103:4005, 2006), 或延长在人中的半衰期 (参见, 例如, Hinton等人, J.Biol.Chem.279:6213, 2004)。示例性取代包括位置250处的Gln和/或位置428处的Leu (EU编号在该段中用于恒定区) 以用于增加抗体的半衰期。位置234、235、236和/或237中的任一个或所有位置处的取代降低了对Fc γ 受体, 尤其是Fc γ RI受体的亲和力 (参见, 例如, US 6,624,821)。人IgG1的位置234、235和237处的丙氨酸取代可用于减小效应子功能。一些抗体具有在人IgG1的位置234、235和237处的丙氨酸取代, 以用于减小效应子功能。任选地, 人IgG2中的位置234、236和/或237被丙氨酸取代, 并且位置235被谷氨酰胺取代 (参见, 例如, US 5,624,821)。在一些抗体中, 使用人IgG1的位置241、264、265、270、296、297、322、329和331 (EU编号) 中的一个或多个位置处的突变。在一些抗体中, 使用人IgG1的位置318、320和322 (EU编号) 中的一个或多个位置处的突变。在一些抗体中, 位置234和/或235被丙氨酸取代和/或位置329被甘氨酸取代。在一些抗体中, 位置234和235被丙氨酸取代。在一些抗体中, 同种型是人IgG2或IgG4。

[0356] 抗体可以被表达为含有两条轻链和两条重链的四聚体、单独的重链、轻链、Fab、Fab'、F(ab')₂以及Fv, 或其中重链和轻链成熟可变结构域通过间隔物连接的单链抗体。

[0357] 人恒定区显示出不同个体之间的同种异型变异和同族同种异型变异, 即在一个或多个多态性位置, 恒定区在不同个体中可以不同。同族同种异型与同种异型的区别在于, 识别同族同种异型的血清结合至一个或多个其他同种型的非多态性区域。因此, 例如, 另一个重链恒定区属于具有或不具有C末端赖氨酸的IgG1 G1m3。对人恒定区的提及包括具有任何天然同种异型或占据天然同种异型中的位置的残基的任何排列的恒定区。示例性重链恒定区是SEQ ID NO:176 (具有或不具有C末端赖氨酸), 并且示例性轻链恒定区是SEQ ID NO:177。

[0358] G. 重组抗体的表达

[0359] 已知许多方法用于使用抗体表达细胞系 (例如, 杂交瘤) 产生嵌合和人源化的抗体。举例来说, 可使用众所周知的方法对抗体的免疫球蛋白可变区进行克隆和测序。在一种方法中, 使用由杂交瘤细胞制备的mRNA通过RT-PCR克隆重链可变VH区。将通用引物作为5'引物和g2b恒定区特异性3'引物用于包括翻译起始密码子的VH区前导肽。示例性引物描述于Schenk等人的美国专利公布US2005/0009150中 (下文称为“Schenk”)。可以比较来自多个独立衍生克隆的序列, 以确保在扩增过程中不引入任何变化。还可以通过对通过5'RACE RT-PCR方法和3'g2b特异性引物获得的VH片段进行测序来确定或确认VH区的序列。

[0360] 可以以类似的方式克隆轻链可变VL区。在一种方法中, 使用被设计成与包括翻译起始密码子的VL区杂交的5'引物和对于V-J接合区下游的Ck区具有特异性的3'引物来设计用于VL区的扩增的通用引物组。在第二种方法中, 采用5'RACE RT-PCR方法克隆VL编码cDNA。示例性引物描述于Schenk, 同上中。然后将克隆的序列与编码人 (或其他非人物种) 恒定区的序列组合。

[0361] 在一种方法中,将重链和轻链可变区重新工程化为编码相应VDJ或VJ接合处下游的剪接供体序列,并克隆到哺乳动物表达载体中,诸如用于重链的pCMV-h γ 1和用于轻链的pCMV-Mc1。这些载体将人 γ 1和Ck恒定区编码为插入的可变区盒下游的外显子片段。在序列验证后,可以将重链和轻链表达载体共转染到CHO细胞中以产生嵌合抗体。转染后48小时收集条件培养基,并通过蛋白质印迹分析评估抗体产量或通过ELISA评估抗原结合。如上所述将嵌合抗体人源化。

[0362] 嵌合、饰面、人源化和人抗体通常通过重组表达产生。重组多核苷酸构建体通常包括可操作地连接于抗体链的编码序列的表达控制序列,包括天然相关联的或异源的表达控制元件,诸如启动子。表达控制序列可以是能够转化或转染真核或原核宿主细胞的载体中的启动子系统。一旦已经将载体掺入适当的宿主中,即将宿主维持在适于核苷酸序列的高水平表达和交叉反应性抗体的收集和纯化的条件下。

[0363] 这些表达载体通常可作为附加体或作为宿主染色体DNA的整合部分在宿主生物中复制。通常,表达载体含有选择标记物,例如,氨苄青霉素抗性或潮霉素抗性,以允许检测用期望的DNA序列转化的那些细胞。

[0364] 大肠杆菌是可用于表达抗体,尤其是抗体片段的一种原核宿主。诸如酵母的微生物也可用于表达。酵母属(*Saccharomyces*)是根据需要带有具有表达控制序列、复制起点、终止序列等的合适载体的酵母宿主。典型的启动子包括3-磷酸甘油酸激酶和其他糖酵解酶。诱导型酵母启动子尤其包括来自醇脱氢酶、异细胞色素C以及负责麦芽糖和半乳糖利用的酶的启动子。

[0365] 哺乳动物细胞可用于表达编码免疫球蛋白或其片段的核苷酸区段。参见Winnacker, *From Genes to Clones*, (VCH Publishers, NY, 1987)。已经开发出许多能够分泌完整的异源蛋白质的合适的宿主细胞系,并且包括CHO细胞系、各种COS细胞系、HeLa细胞、HEK293细胞、L细胞,以及非抗体产生性骨髓瘤,包括Sp2/0和NS0。细胞可以是非人的。这些细胞的表达载体可包括表达控制序列,诸如复制起点、启动子、增强子(Queen等人, *Immunol. Rev.* 89: 49 (1986)), 和必要的加工信息位点诸如核糖体结合位点、RNA剪接位点、多腺苷酸化位点以及转录终止子序列。表达控制序列可包括衍生自内源基因、巨细胞病毒、SV40、腺病毒、牛乳头瘤病毒等的启动子。参见Co等人, *J. Immunol.* 148: 1149 (1992)。

[0366] 或者,可以将抗体编码序列掺入转基因中以用于引入转基因动物的基因组中并随后在转基因动物的乳汁中表达(参见,例如,美国专利号5,741,957;美国专利号5,304,489;以及美国专利号5,849,992)。合适的转基因包括与来自乳腺特异性基因(诸如酪蛋白或 β 乳球蛋白)的启动子和增强子可操作地连接的轻链和/或重链的编码序列。

[0367] 含有目标DNA区段的载体可以通过取决于细胞宿主类型的方法转移到宿主细胞中。举例来说,对于原核细胞,通常利用氯化钙转染,而对于其他细胞宿主,可使用磷酸钙处理、电穿孔、脂质转染、基因枪法或基于病毒的转染。用于转化哺乳动物细胞的其他方法包括使用聚凝胺、原生质体融合、脂质体、电穿孔和显微注射。为了产生转基因动物,可以将转基因显微注射到受精卵母细胞中或可以将其掺入胚胎干细胞或诱导型多能干细胞(iPSC)的基因组中,并将此类细胞的细胞核转移到去核卵母细胞中。

[0368] 已经将编码抗体重链和轻链的一种或多种载体引入细胞培养物中,可以在无血清培养基中针对生长率和产品质量对细胞库进行筛选。最佳产量的细胞库随后可进行基于

FACS的单细胞克隆以产生单克隆系。可使用每个细胞每天50pg或100pg以上的比生产率,其对应于大于7.5g/L培养物的产物滴度。由单细胞克隆产生的抗体还可以进行浊度、过滤特性、PAGE、IEF、UV扫描、HP-SEC、碳水化合物-寡糖映射、质谱以及结合测定(诸如ELISA或Biacore)的测试。选定的克隆可随后存储在多个小瓶中并且冷冻储存,以备后用。

[0369] 一旦被表达,抗体可根据本领域的标准程序进行纯化,包括蛋白A捕获、HPLC纯化、柱色谱法、凝胶电泳等(通常参见,Scopes,Protein Purification(Springer-Verlag,NY,1982))。

[0370] 可使用商业生产抗体的方法,包括密码子优化、启动子的选择、转录元件的选择、终止子的选择、无血清单细胞克隆、细胞建库、使用用于拷贝数扩增的选择标记物、CHO终止子,或改善蛋白质滴度(参见,例如,US 5,786,464;US 6,114,148;US 6,063,598;US 7,569,339;W02004/050884;W02008/012142;W02008/012142;W02005/019442;W02008/107388;W02009/027471;和US 5,888,809)。

[0371] H. 抗体筛选测定

[0372] 可以如上所述针对预期结合特异性对抗体进行初始筛选。同样可以针对诱导具有这种结合特异性的抗体的能力对活性免疫原进行筛选。在这种情况下,使用活性免疫原对实验室动物进行免疫,并针对适当的结合特异性对所得血清进行测试。

[0373] 然后可以在细胞和动物模型中测试具有期望的结合特异性的抗体。用于这种筛选的细胞优先为神经元细胞。已经报道了tau病理的细胞模型,其中用任选地具有与tau病理相关联的突变的tau的四重复结构域转染神经母细胞瘤细胞(例如, δ K280,参见Khlistunova,Current Alzheimer Research 4,544-546(2007))。在另一模型中,通过添加强力霉素在神经母细胞瘤N2a细胞系中诱导tau。细胞模型使得能够研究在可溶或聚集状态中tau对细胞的毒性,开启tau基因表达后tau聚集体的出现,再次关闭基因表达后tau聚集体的溶解,以及抗体在抑制tau聚集体的形成或使其解聚方面的功效。

[0374] 还可以在与tau相关联的疾病的转基因动物模型中筛选抗体或活性免疫原。此类转基因动物可包括tau转基因(例如,人同种型中的任一种)和任选的尤其人APP转基因,诸如磷酸化tau、ApoE、早老素或 α 突触核蛋白的激酶。此类转基因动物被设置用于发展与tau相关联的疾病的至少一种体征或症状。

[0375] 示例性的转基因动物是K3系小鼠(Itner等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 105(41):15997-6002(2008))。这些小鼠具有人tau转基因,所述人tau转基因具有K 369I突变(该突变与皮克氏病相关联)和Thy 1.2启动子。该模型显示出快速的神经变性、运动缺陷以及传入纤维和小脑粒细胞的变性的过程。另一种示例性动物是JNPL3系小鼠。这些小鼠具有人tau转基因,所述人tau转基因具有P301L突变(该突变与额颞叶痴呆相关联)和Thy 1.2启动子(Taconic,Germantown,N.Y.,Lewis等人,Nat Genet.25:402-405(2000))。这些小鼠具有更渐进的神经变性过程。小鼠在几个脑区域和脊髓中发展神经原纤维缠结,其据此以引用方式整体并入)。这是研究缠结发展的后果以及可抑制这些聚集体产生的筛选疗法的优秀模型。这些动物的另一个优点是病理的相对早发。在纯合系中,至少早在3个月就可以观察到与tau病理相关联的行为异常,但动物至少在8月龄之前都保持相对健康。换句话说,在8个月时,动物走动、给自己喂食,并且可以充分良好地执行行为任务以允许监测治疗效果。使用-AI wI KLH-PHF-1对这些小鼠进行6-13个月的主动免疫产生约1,000的滴度,并且相

对于未处理的对照小鼠显示出较少的神经原纤维缠结、较少的pSer422以及减少的体重减轻。

[0376] 抗体或活性剂的活性可通过各种标准评估,包括总tau或磷酸化tau的量的减少,其他病理特征诸如A β 的淀粉样蛋白沉积物的减少,以及抑制或延迟或行为缺陷。还可以针对血清中抗体的诱导对活性免疫原进行测试。可以针对抗体穿过血脑屏障进入转基因动物的脑中被动和主动免疫原进行测试。还可以在天然地或通过诱导发展以tau为特征的疾病的症状的非人灵长类动物中测试抗体或诱导抗体的片段。对抗体或活性剂的测试通常与对照结合执行,其中进行平行实验,不同的是不存在抗体或活性剂(例如,通过媒介物替换)。然后可以相对于对照评估可归因于待测的抗体或活性剂的疾病体征或症状的减少、延迟或抑制。

[0377] I. 使用本发明抗体的方法

[0378] 本文所述的抗体或其抗原结合片段可以抑制或减少细胞对tau的内化,抑制或降低tau诱导的毒性,减少或延迟行为缺陷发作,抑制或降低tau病理标志物的水平或抑制或减少tau病理的发展。

[0379] 本文还提供了减少受试者中细胞对tau的内化的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少细胞对tau的内化的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0380] 在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使细胞对tau的内化减少约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%(例如,与施用前受试者中的tau内化水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中的tau内化水平相比)。在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使细胞对tau的内化减少约10%至约99%、约20%至约90%、约30%至约80%、约40%至80%或约50%至75%(例如,与施用前受试者中的tau内化水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中的tau内化水平相比)。在一些实施方案中,施用使得减少约10%至约99%(例如,减少约10%至约95%、约10%至约90%、约10%至约85%、约10%至约80%、约10%至约75%、约10%至约70%、约10%至约65%、约10%至约60%、约10%至约55%、约10%至约50%、约10%至约45%、约10%至约40%、约10%至约35%、约10%至约30%、约10%至约25%、约10%至约20%、约10%至约15%、约15%至约99%、约15%至约95%、约15%至约90%、约15%至约85%、约15%至约80%、约15%至约75%、约15%至约70%、约15%至约65%、约15%至约60%、约15%至约55%、约15%至约50%、约15%至约45%、约15%至约40%、约15%至约35%、约15%至约30%、约15%至约25%、约15%至约20%、约20%至约99%、约20%至约95%、约20%至约90%、约20%至约85%、约20%至约80%、约20%至约75%、约20%至约70%、约20%至约65%、约20%至约60%、约20%至约55%、约20%至约50%、约20%至约45%、约20%至约40%、约20%至约35%、约20%至约30%、约20%至约25%、约25%至约99%、约25%至约95%、约25%至约

90%、约25%至约85%、约25%至约80%、约25%至约75%、约25%至约70%、约25%至约65%、约25%至约60%、约25%至约55%、约25%至约50%、约25%至约45%、约25%至约40%、约25%至约35%、约25%至约30%、约30%至约99%、约30%至约95%、约30%至约90%、约30%至约85%、约30%至约80%、约30%至约75%、约30%至约70%、约30%至约65%、约30%至约60%、约30%至约55%、约30%至约50%、约30%至约45%、约30%至约40%、约30%至约35%、约35%至约99%、约35%至约95%、约35%至约90%、约35%至约85%、约35%至约80%、约35%至约75%、约35%至约70%、约35%至约65%、约35%至约60%、约35%至约55%、约35%至约50%、约35%至约45%、约35%至约40%、约40%至约99%、约40%至约95%、约40%至约90%、约40%至约85%、约40%至约80%、约40%至约75%、约40%至约70%、约40%至约65%、约40%至约60%、约40%至约55%、约40%至约50%、约40%至约45%、约45%至约99%、约45%至约95%、约45%至约90%、约45%至约85%、约45%至约80%、约45%至约75%、约45%至约70%、约45%至约65%、约45%至约60%、约45%至约55%、约45%至约50%、约50%至约99%、约50%至约95%、约50%至约90%、约50%至约85%、约50%至约80%、约50%至约75%、约50%至约70%、约50%至约65%、约50%至约60%、约50%至约55%、约55%至约99%、约55%至约95%、约55%至约90%、约55%至约85%、约55%至约80%、约55%至约75%、约55%至约70%、约55%至约65%、约55%至约60%、约60%至约99%、约60%至约95%、约60%至约90%、约60%至约85%、约60%至约80%、约60%至约75%、约60%至约70%、约60%至约65%、约65%至约99%、约65%至约95%、约65%至约90%、约65%至约85%、约65%至约80%、约65%至约75%、约65%至约70%、约70%至约99%、约70%至约95%、约70%至约90%、约70%至约85%、约70%至约80%、约70%至约75%、约75%至约99%、约75%至约95%、约75%至约90%、约75%至约85%、约75%至约80%、约80%至约99%、约80%至约95%、约80%至约90%、约80%至约85%、约85%至约99%、约85%至约95%、约85%至约90%、约90%至约99%、约90%至约95%或约95%至约99%) (例如,与施用前受试者中的tau内化水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中的tau内化水平相比)。

[0381] 本文还提供了降低受试者中tau诱导的毒性的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的降低tau诱导的毒性的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0382] 在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使tau诱导的毒性降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99% (例如,与施用前受试者中tau诱导的毒性水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau诱导的毒性水平相比)。在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使tau诱导的毒性降低约10%至约99%、约20%至约90%、约30%至约80%、约40%至80%或约50%至75% (例如,与施用前受试者中tau诱导的毒性水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau诱导的毒性水平相比)。在一些

实施方案中,施用使得降低约10%至约99%(例如,降低约10%至约95%、约10%至约90%、约10%至约85%、约10%至约80%、约10%至约75%、约10%至约70%、约10%至约65%、约10%至约60%、约10%至约55%、约10%至约50%、约10%至约45%、约10%至约40%、约10%至约35%、约10%至约30%、约10%至约25%、约10%至约20%、约10%至约15%、约15%至约99%、约15%至约95%、约15%至约90%、约15%至约85%、约15%至约80%、约15%至约75%、约15%至约70%、约15%至约65%、约15%至约60%、约15%至约55%、约15%至约50%、约15%至约45%、约15%至约40%、约15%至约35%、约15%至约30%、约15%至约25%、约15%至约20%、约20%至约99%、约20%至约95%、约20%至约90%、约20%至约85%、约20%至约80%、约20%至约75%、约20%至约70%、约20%至约65%、约20%至约60%、约20%至约55%、约20%至约50%、约20%至约45%、约20%至约40%、约20%至约35%、约20%至约30%、约20%至约25%、约25%至约99%、约25%至约95%、约25%至约90%、约25%至约85%、约25%至约80%、约25%至约75%、约25%至约70%、约25%至约65%、约25%至约60%、约25%至约55%、约25%至约50%、约25%至约45%、约25%至约40%、约25%至约35%、约25%至约30%、约30%至约99%、约30%至约95%、约30%至约90%、约30%至约85%、约30%至约80%、约30%至约75%、约30%至约70%、约30%至约65%、约30%至约60%、约30%至约55%、约30%至约50%、约30%至约45%、约30%至约40%、约30%至约35%、约35%至约99%、约35%至约95%、约35%至约90%、约35%至约85%、约35%至约80%、约35%至约75%、约35%至约70%、约35%至约65%、约35%至约60%、约35%至约55%、约35%至约50%、约35%至约45%、约35%至约40%、约40%至约99%、约40%至约95%、约40%至约90%、约40%至约85%、约40%至约80%、约40%至约75%、约40%至约70%、约40%至约65%、约40%至约60%、约40%至约55%、约40%至约50%、约40%至约45%、约45%至约99%、约45%至约95%、约45%至约90%、约45%至约85%、约45%至约80%、约45%至约75%、约45%至约70%、约45%至约65%、约45%至约60%、约45%至约55%、约45%至约50%、约50%至约99%、约50%至约95%、约50%至约90%、约50%至约85%、约50%至约80%、约50%至约75%、约50%至约70%、约50%至约65%、约50%至约60%、约50%至约55%、约55%至约99%、约55%至约95%、约55%至约90%、约55%至约85%、约55%至约80%、约55%至约75%、约55%至约70%、约55%至约65%、约55%至约60%、约60%至约99%、约60%至约95%、约60%至约90%、约60%至约85%、约60%至约80%、约60%至约75%、约60%至约70%、约60%至约65%、约65%至约99%、约65%至约95%、约65%至约90%、约65%至约85%、约65%至约80%、约65%至约75%、约65%至约70%、约70%至约99%、约70%至约95%、约70%至约90%、约70%至约85%、约70%至约80%、约70%至约75%、约75%至约99%、约75%至约95%、约75%至约90%、约75%至约85%、约75%至约80%、约80%至约99%、约80%至约95%、约80%至约90%、约80%至约85%、约85%至约99%、约85%至约95%、约85%至约90%、约90%至约99%、约90%至约95%或约95%至约99%) (例如,与施用前受试者中tau诱导的毒性水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau诱导的毒性水平相比)。

[0383] 本文还提供了减少或延迟受试者的行为缺陷发作的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少或延迟行为缺陷发作的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体

或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0384] 在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使行为缺陷发作减少或延迟约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%(例如,与施用前受试者中的行为缺陷水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中的行为缺陷水平相比)。在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使行为缺陷发作减少或延迟约10%至约99%、约20%至约90%、约30%至约80%、约40%至80%或约50%至75%(例如,与施用前受试者中的行为缺陷水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中的行为缺陷水平相比)。在一些实施方案中,施用使得减少约10%至约99%(例如,减少约10%至约95%、约10%至约90%、约10%至约85%、约10%至约80%、约10%至约75%、约10%至约70%、约10%至约65%、约10%至约60%、约10%至约55%、约10%至约50%、约10%至约45%、约10%至约40%、约10%至约35%、约10%至约30%、约10%至约25%、约10%至约20%、约10%至约15%、约15%至约99%、约15%至约95%、约15%至约90%、约15%至约85%、约15%至约80%、约15%至约75%、约15%至约70%、约15%至约65%、约15%至约60%、约15%至约55%、约15%至约50%、约15%至约45%、约15%至约40%、约15%至约35%、约15%至约30%、约15%至约25%、约15%至约20%、约20%至约99%、约20%至约95%、约20%至约90%、约20%至约85%、约20%至约80%、约20%至约75%、约20%至约70%、约20%至约65%、约20%至约60%、约20%至约55%、约20%至约50%、约20%至约45%、约20%至约40%、约20%至约35%、约20%至约30%、约20%至约25%、约25%至约99%、约25%至约95%、约25%至约90%、约25%至约85%、约25%至约80%、约25%至约75%、约25%至约70%、约25%至约65%、约25%至约60%、约25%至约55%、约25%至约50%、约25%至约45%、约25%至约40%、约25%至约35%、约25%至约30%、约30%至约99%、约30%至约95%、约30%至约90%、约30%至约85%、约30%至约80%、约30%至约75%、约30%至约70%、约30%至约65%、约30%至约60%、约30%至约55%、约30%至约50%、约30%至约45%、约30%至约40%、约30%至约35%、约35%至约99%、约35%至约95%、约35%至约90%、约35%至约85%、约35%至约80%、约35%至约75%、约35%至约70%、约35%至约65%、约35%至约60%、约35%至约55%、约35%至约50%、约35%至约45%、约35%至约40%、约40%至约99%、约40%至约95%、约40%至约90%、约40%至约85%、约40%至约80%、约40%至约75%、约40%至约70%、约40%至约65%、约40%至约60%、约40%至约55%、约40%至约50%、约40%至约45%、约45%至约99%、约45%至约95%、约45%至约90%、约45%至约85%、约45%至约80%、约45%至约75%、约45%至约70%、约45%至约65%、约45%至约60%、约45%至约55%、约45%至约50%、约50%至约99%、约50%至约95%、约50%至约90%、约50%至约85%、约50%至约80%、约50%至约75%、约50%至约70%、约50%至约65%、约50%至约60%、约50%至约55%、约55%至约99%、约55%至约95%、约55%至约90%、约55%至约85%、约55%至约80%、约55%至约75%、约55%至约70%、约55%至约

65%、约55%至约60%、约60%至约99%、约60%至约95%、约60%至约90%、约60%至约85%、约60%至约80%、约60%至约75%、约60%至约70%、约60%至约65%、约65%至约99%、约65%至约95%、约65%至约90%、约65%至约85%、约65%至约80%、约65%至约75%、约65%至约70%、约70%至约99%、约70%至约95%、约70%至约90%、约70%至约85%、约70%至约80%、约70%至约75%、约75%至约99%、约75%至约95%、约75%至约90%、约75%至约85%、约75%至约80%、约80%至约99%、约80%至约95%、约80%至约90%、约80%至约85%、约85%至约99%、约85%至约95%、约85%至约90%、约90%至约99%、约90%至约95%或约95%至约99%) (例如,与施用前受试者中的行为缺陷水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中的行为缺陷水平相比)。

[0385] 本文还提供了降低受试者中tau病理的标志物水平的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的降低tau病理的标志物水平的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0386] 在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使tau病理的标志物水平降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99% (例如,与施用前受试者中tau病理的标志物水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau病理的标志物水平相比)。在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使tau病理的标志物水平降低约10%至约99%、约20%至约90%、约30%至约80%、约40%至80%或约50%至75% (例如,与施用前受试者中tau病理的标志物水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau病理的标志物水平相比)。在一些实施方案中,施用使得降低约10%至约99% (例如,降低约10%至约95%、约10%至约90%、约10%至约85%、约10%至约80%、约10%至约75%、约10%至约70%、约10%至约65%、约10%至约60%、约10%至约55%、约10%至约50%、约10%至约45%、约10%至约40%、约10%至约35%、约10%至约30%、约10%至约25%、约10%至约20%、约10%至约15%、约15%至约99%、约15%至约95%、约15%至约90%、约15%至约85%、约15%至约80%、约15%至约75%、约15%至约70%、约15%至约65%、约15%至约60%、约15%至约55%、约15%至约50%、约15%至约45%、约15%至约40%、约15%至约35%、约15%至约30%、约15%至约25%、约15%至约20%、约20%至约99%、约20%至约95%、约20%至约90%、约20%至约85%、约20%至约80%、约20%至约75%、约20%至约70%、约20%至约65%、约20%至约60%、约20%至约55%、约20%至约50%、约20%至约45%、约20%至约40%、约20%至约35%、约20%至约30%、约20%至约25%、约25%至约99%、约25%至约95%、约25%至约90%、约25%至约85%、约25%至约80%、约25%至约75%、约25%至约70%、约25%至约65%、约25%至约60%、约25%至约55%、约25%至约50%、约25%至约45%、约25%至约40%、约25%至约35%、约25%至约30%、约30%至约99%、约30%至约95%、约30%至约90%、约30%至约85%、约30%至约80%、约30%至约75%、约30%至约70%、约30%至约65%、约30%至约60%、约30%至约55%、约30%至约

50%、约30%至约45%、约30%至约40%、约30%至约35%、约35%至约99%、约35%至约95%、约35%至约90%、约35%至约85%、约35%至约80%、约35%至约75%、约35%至约70%、约35%至约65%、约35%至约60%、约35%至约55%、约35%至约50%、约35%至约45%、约35%至约40%、约40%至约99%、约40%至约95%、约40%至约90%、约40%至约85%、约40%至约80%、约40%至约75%、约40%至约70%、约40%至约65%、约40%至约60%、约40%至约55%、约40%至约50%、约40%至约45%、约45%至约99%、约45%至约95%、约45%至约90%、约45%至约85%、约45%至约80%、约45%至约75%、约45%至约70%、约45%至约65%、约45%至约60%、约45%至约55%、约45%至约50%、约50%至约99%、约50%至约95%、约50%至约90%、约50%至约85%、约50%至约80%、约50%至约75%、约50%至约70%、约50%至约65%、约50%至约60%、约50%至约55%、约55%至约99%、约55%至约95%、约55%至约90%、约55%至约85%、约55%至约80%、约55%至约75%、约55%至约70%、约55%至约65%、约55%至约60%、约60%至约99%、约60%至约95%、约60%至约90%、约60%至约85%、约60%至约80%、约60%至约75%、约60%至约70%、约60%至约65%、约65%至约99%、约65%至约95%、约65%至约90%、约65%至约85%、约65%至约80%、约65%至约75%、约65%至约70%、约70%至约99%、约70%至约95%、约70%至约90%、约70%至约85%、约70%至约80%、约70%至约75%、约75%至约99%、约75%至约95%、约75%至约90%、约75%至约85%、约75%至约80%、约80%至约99%、约80%至约95%、约80%至约90%、约80%至约85%、约85%至约99%、约85%至约95%、约85%至约90%、约90%至约99%、约90%至约95%或约95%至约99%) (例如,与施用前受试者中tau病理的标志物水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau病理的标志物水平相比)。

[0387] 本文还提供了减少受试者中tau病理的发展的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用一定量的减少tau病理的发展的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含含有SEQ ID NO:8的CDR-H1、含有SEQ ID NO:9的CDR-H2和含有LDF的CDR-H3;以及轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含含有SEQ ID NO:12的CDR-L1、含有SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:168的CDR-L2和含有SEQ ID NO:14的CDR-L3。

[0388] 在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使tau病理的发展减少约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99% (例如,与施用前受试者中tau病理的发展水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau病理的发展水平相比)。在一些实施方案中,施用本文所述的抗体或其抗原结合片段使tau病理的发展减少约10%至约99%、约20%至约90%、约30%至约80%、约40%至80%或约50%至75% (例如,与施用前受试者中tau病理的发展水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau病理的发展水平相比)。在一些实施方案中,施用使得减少约10%至约99% (例如,减少约10%至约95%、约10%至约90%、约10%至约85%、约10%至约80%、约10%至约75%、约10%至约70%、约10%至约65%、约10%至约60%、约10%至约55%、约10%至约50%、约10%至约45%、约10%至约40%、约10%至约35%、约10%至约30%、约10%至约25%、约10%至约20%、约10%至约15%、约

15%至约99%、约15%至约95%、约15%至约90%、约15%至约85%、约15%至约80%、约15%至约75%、约15%至约70%、约15%至约65%、约15%至约60%、约15%至约55%、约15%至约50%、约15%至约45%、约15%至约40%、约15%至约35%、约15%至约30%、约15%至约25%、约15%至约20%、约20%至约99%、约20%至约95%、约20%至约90%、约20%至约85%、约20%至约80%、约20%至约75%、约20%至约70%、约20%至约65%、约20%至约60%、约20%至约55%、约20%至约50%、约20%至约45%、约20%至约40%、约20%至约35%、约20%至约30%、约20%至约25%、约25%至约99%、约25%至约95%、约25%至约90%、约25%至约85%、约25%至约80%、约25%至约75%、约25%至约70%、约25%至约65%、约25%至约60%、约25%至约55%、约25%至约50%、约25%至约45%、约25%至约40%、约25%至约35%、约25%至约30%、约30%至约99%、约30%至约95%、约30%至约90%、约30%至约85%、约30%至约80%、约30%至约75%、约30%至约70%、约30%至约65%、约30%至约60%、约30%至约55%、约30%至约50%、约30%至约45%、约30%至约40%、约30%至约35%、约35%至约99%、约35%至约95%、约35%至约90%、约35%至约85%、约35%至约80%、约35%至约75%、约35%至约70%、约35%至约65%、约35%至约60%、约35%至约55%、约35%至约50%、约35%至约45%、约35%至约40%、约40%至约99%、约40%至约95%、约40%至约90%、约40%至约85%、约40%至约80%、约40%至约75%、约40%至约70%、约40%至约65%、约40%至约60%、约40%至约55%、约40%至约50%、约40%至约45%、约45%至约99%、约45%至约95%、约45%至约90%、约45%至约85%、约45%至约80%、约45%至约75%、约45%至约70%、约45%至约65%、约45%至约60%、约45%至约55%、约45%至约50%、约50%至约99%、约50%至约95%、约50%至约90%、约50%至约85%、约50%至约80%、约50%至约75%、约50%至约70%、约50%至约65%、约50%至约60%、约50%至约55%、约55%至约99%、约55%至约95%、约55%至约90%、约55%至约85%、约55%至约80%、约55%至约75%、约55%至约70%、约55%至约65%、约55%至约60%、约60%至约99%、约60%至约95%、约60%至约90%、约60%至约85%、约60%至约80%、约60%至约75%、约60%至约70%、约60%至约65%、约65%至约99%、约65%至约95%、约65%至约90%、约65%至约85%、约65%至约80%、约65%至约75%、约65%至约70%、约70%至约99%、约70%至约95%、约70%至约90%、约70%至约85%、约70%至约80%、约70%至约75%、约75%至约99%、约75%至约95%、约75%至约90%、约75%至约85%、约75%至约80%、约80%至约99%、约80%至约95%、约80%至约90%、约80%至约85%、约85%至约99%、约85%至约95%、约85%至约90%、约90%至约99%、约90%至约95%或约95%至约99%) (例如,与施用前受试者中tau病理的发展水平相比,或与未施用所述抗体或其抗原结合片段的受试者中tau病理的发展水平相比)。

[0389] IV. 适合治疗的患者

[0390] 已经在几种疾病中发现了神经原纤维缠结的存在,包括阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性

tau蛋白病 (GGT) 和进行性核上性麻痹 (PSP)。本发明的方案也可用于治疗或预防这些疾病中的任一种。由于神经疾病和疾患与tau之间的广泛关联,本发明的方案可用于治疗或预防与未患有神经疾病的个体中的平均值相比显示出升高水平的tau或磷酸化tau(例如,在CSF中)的任何受试者。本发明的方案还可用于治疗或预防在与神经疾病相关联的tau中具有突变的个体的神经疾病。本发明的方法特别适用于治疗或预防阿尔茨海默病,尤其是在患者中。

[0391] 适合治疗的患者包括有患病风险但未显示出症状的个体,以及目前显示出症状的患者。有患病风险的患者包括具有已知的疾病遗传风险的那些。此类个体包括有经历过该疾病的亲属的那些个体,以及通过遗传或生化标记物分析确定其风险的那些个体。风险的遗传标记物包括tau中的突变,诸如上面讨论的那些,以及与神经疾病相关联的其他基因中的突变。举例来说,杂合和甚至尤其纯合形式中的ApoE4等位基因与阿尔茨海默病的风险相关联。阿尔茨海默病风险的其他标记物包括APP基因中的突变,具体是位置717以及位置670和671处的突变(分别称为Hardy和Swedish突变)、早老素基因PS1和PS2中的突变、AD的家族史、高胆固醇血症或动脉粥样硬化。目前患有阿尔茨海默病的个体可以通过PET成像、由特征性的痴呆以及如上所述的风险因素的存在来识别。此外,许多诊断测试可用于鉴定患有AD的个体。这些包括CSF tau或磷酸化-tau以及A β 42水平的测量。升高的tau或磷酸化-tau和降低的A β 42水平意味着AD的存在。一些突变与帕金森病相关联。Ala30Pro或Ala53或与帕金森病相关联的其他基因诸如富含亮氨酸重复片段的激酶PARK8中的突变。根据DSM IV TR的标准,个体也可以被诊断患有上文提及的任何神经疾病。

[0392] 在无症状患者中,治疗可以在任何年龄开始(例如,10、20、30)。然而,通常,在患者达到40、50、60或70岁之前不必开始治疗。通常需要在一段时间内进行多剂量的治疗。可以通过测定随时间推移的抗体水平对治疗进行监测。如果应答下降,表明需要加强剂量。在潜在的唐氏综合征患者的情况下,可以通过向母亲施用治疗剂在出生前开始治疗或在出生后不久开始治疗。

[0393] V. 核酸

[0394] 本发明还提供了编码上述重链和轻链中任一者的核酸(例如,SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:76-80、SEQ ID NO:90-91、SEQ ID NO:146-148、SEQ ID NO:83-85、SEQ ID NO:93-145和SEQ ID NO:178-181)。编码本发明的重链的示例性核酸是SEQ ID NO:182,并且编码本发明的轻链的示例性核酸是SEQ ID NO:183。任选地,此类核酸进一步编码信号肽,并且可以被表达为具有连接于恒定区的信号肽。核酸的编码序列可以与调控序列可操作地连接以确保编码序列的表达,调控序列诸如启动子、增强子、核糖体结合位点、转录终止信号等。调控序列可包括启动子,例如原核启动子或真核启动子。可对编码重链或轻链的核酸进行密码子优化以在宿主细胞中表达。编码重链和轻链的核酸可编码选择基因。编码重链和轻链的核酸可以以分离形式存在或可以克隆到一种或多种载体中。核酸可以通过例如固态合成或重叠寡核苷酸的PCR来合成。编码重链和轻链的核酸可以作为一个连续核酸接合在例如表达载体内,或可以是分开的,例如,各自克隆到其自身的表达载体中。

[0395] VI. 缀合抗体

[0396] 与抗原诸如tau特异性结合的缀合抗体,可用于检测tau的存在;监测和评价治疗剂用于治疗被诊断患有以下疾病的患者的功效:阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障

碍、原发性年龄相关性tau蛋白病、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP);抑制或减少tau的聚集;抑制或减少tau原纤维形成;减少或清除tau沉积物;稳定tau的无毒构象;或在患者中治疗以下疾病或实现所述疾病的预防:阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP)。举例来说,此类抗体可以与其他治疗性部分、其他蛋白质、其他抗体和/或可检测标记缀合。参见WO 03/057838;US 8,455,622。此类治疗性部分可以是可用于在患者中治疗、抗击、缓解、预防或改善不想要的疾患或疾病的任何剂,所述疾患或疾病诸如阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP)。

[0397] 缀合的治疗性部分可包括细胞毒性剂、细胞生长抑制剂、神经营养剂、神经保护剂、放射治疗剂、免疫调节剂,或促进或增强抗体活性的任何生物活性剂。细胞毒性剂可以是对细胞有毒性的任何剂。细胞生长抑制剂可以是抑制细胞增殖的任何剂。神经营养剂可以是促进神经元维持、生长或分化的任何剂,包括化学剂或蛋白质剂。神经保护剂可以是保护神经元免于急性侵害或退化过程的剂,包括化学剂或蛋白质剂。免疫调节剂可以是刺激或抑制免疫应答的发展或维持的任何剂。放射治疗剂可以是发射辐射的任何分子或化合物。如果此类治疗性部分偶联于tau特异性抗体,诸如本文所述的抗体,那么偶联的治疗性部分将相对于正常细胞对tau相关疾病影响的细胞具有特异性亲和力。因此,缀合抗体的施用直接靶向癌细胞,而对周围的正常健康组织具有最小的伤害。这对于毒性太大而不能单独施用的治疗性部分可以是特别有用的。此外,可使用较少量的治疗性部分。

[0398] 一些此类抗体可以被修饰以充当免疫毒素。参见,例如,美国专利号5,194,594。举例来说,通过使用用于抗体的双功能试剂S-乙酰基巯基琥珀酸酐和用于蓖麻毒素的3-(2-吡啶基二硫代)丙酸琥珀酰亚胺酯,可以将来源于植物的细胞毒素蓖麻毒素偶联于抗体。参见Pietersz等人,Cancer Res.48(16):4469-4476(1998)。偶联导致蓖麻毒素的B链结合活性丧失,同时既不损害蓖麻毒素的A链的毒性潜力,也不损害抗体的活性。类似地,核糖体组装的抑制剂皂草素可通过化学插入的巯氢基(sulphydryl)基团之间的二硫键偶联于抗体。参见Polito等人,Leukemia 18:1215-1222(2004)。

[0399] 一些此类抗体可连接于放射性同位素。放射性同位素的实例包括,例如,钇⁹⁰(⁹⁰Y)、铟¹¹¹(¹¹¹In)、¹³¹I、^{99m}Tc、放射性银-111、放射性银-199和铋²¹³。放射性同位素与抗体的连接可以用常规的双功能螯合物进行。对于放射性银-111和放射性银-199连接,可使用

硫基接头。参见Hazra等人,Cell Biophys.24-25:1-7(1994)。银放射性同位素的连接可涉及用抗坏血酸还原免疫球蛋白。对于诸如¹¹¹In和⁹⁰Y的放射性同位素,可使用替伊莫单抗并且将使其与此类同位素反应以分别形成¹¹¹In-替伊莫单抗和⁹⁰Y-替伊莫单抗。参见Witzig,Cancer Chemother.Pharmacol.,48增刊1:S91-S95(2001)。

[0400] 一些此类抗体可以连接于其他治疗性部分。此类治疗性部分可以具有例如细胞毒性、细胞生长抑制性、神经营养性或神经保护性。举例来说,抗体可以与毒性化学治疗药物诸如美登素(maytansine)、格尔德霉素(geldanamycin)、微管蛋白抑制剂诸如微管蛋白结合剂(例如,奥瑞斯他汀(auristatin))或小沟结合剂诸如卡里奇霉素(calicheamicin)缀合。其他代表性的治疗性部分包括已知可用于以下疾病的治疗、处理或改善的剂:阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病(tauopathy)、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病(type C Niemann-Pick disease)、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征(amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex of Guam)、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies)、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP)。

[0401] 抗体还可与其他蛋白质偶联。举例来说,抗体可与Fynomer偶联。Fynomer是衍生自人Fyn SH3结构域的小结合蛋白(例如,7kDa)。它们可以是稳定且可溶的,并且它们可缺乏半胱氨酸残基和二硫键。可将Fynomer工程化以与抗体相同的亲和力和特异性结合靶分子。它们适用于基于抗体产生多特异性融合蛋白。举例来说,Fynomer可以融合至抗体的N末端和/或C末端,以产生具有不同架构的双特异性和三特异性FynomAb。可使用Fynomer文库,通过筛选技术,使用FACS、Biacore以及允许有效选择具有最佳特性的Fynomer的基于细胞的测定选择Fynomer。Fynomer的实例公开于Grabulovski等人等人,J.Biol.Chem.282:3196-3204(2007);Bertschinger等人,Protein Eng.Des.Sel.20:57-68(2007);Schlatter等人,MAbs.4:497-508(2011);Banner等人,Acta.Crystallogr.D.Biol.Crystallogr.69(Pt6):1124-1137(2013);以及Brack等人,Mol.Cancer Ther.13:2030-2039(2014)。

[0402] 本文所公开的抗体还可与一种或多种其他抗体偶联或缀合(例如,以形成抗体异源缀合物)。此类其他抗体可与tau内的不同表位结合或可与不同的靶抗原结合。

[0403] 抗体还可与可检测的标记偶联。此类抗体可用于例如诊断阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病(tauopathy)、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病(type C Niemann-Pick disease)、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征(amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex of Guam)、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies)、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP),和/或用于评估治疗的功效。此类抗体尤其适用于在患有或易患以下疾病的受试者中:阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩

性侧索硬化/帕金森痴呆复征、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP),或在从此类患者获得的适当生物样品中执行此类测定。可以与抗体偶联或连接的代表性可检测标记包括各种酶,诸如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;辅基,诸如链霉抗生物素蛋白/生物素和抗生物素蛋白/生物素;荧光材料,诸如伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料,诸如鲁米诺;生物发光材料,诸如萤光素酶、萤光素和水母发光蛋白;放射性材料,诸如放射性银-111、放射性银-199、铋²¹³、碘(¹³¹I、¹²⁵I、¹²³I、¹²¹I)、碳(¹⁴C)、硫(³⁵S)、氚(³H)、铟(¹¹⁵In、¹¹³In、¹¹²In、¹¹¹In)、锝(⁹⁹Tc)、钽(²⁰¹Ti)、镓(⁶⁸Ga、⁶⁷Ga)、钯(¹⁰³Pd)、钼(⁹⁹Mo)、氙(¹³³Xe)、氟(¹⁸F)、¹⁵³Sm、¹⁷⁷Lu、¹⁵⁹Gd、¹⁴⁹Pm、¹⁴⁰La、¹⁷⁵Yb、¹⁶⁶Ho、⁹⁰Y、⁴⁷Sc、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁴²Pr、¹⁰⁵Rh、⁹⁷Ru、⁶⁸Ge、⁵⁷Co、⁶⁵Zn、⁸⁵Sr、³²P、¹⁵³Gd、¹⁶⁹Yb、⁵¹Cr、⁵⁴Mn、⁷⁵Se、¹¹³Sn和¹¹⁷Ti;正电子发射金属,使用各种正电子发射断层摄影术;非放射性顺磁性金属离子;以及放射性标记的或缀合于特定放射性同位素的分子。

[0404] 放射性同位素与抗体的连接可以用常规的双功能螯合物进行。对于放射性银-111和放射性银-199连接,可使用硫基接头。参见Hazra等人,Cell Biophys.24-25:1-7(1994)。银放射性同位素的连接可涉及用抗坏血酸还原免疫球蛋白。对于诸如¹¹¹In和⁹⁰Y的放射性同位素,可使用替伊莫单抗并且将使其与此类同位素反应以分别形成¹¹¹In-替伊莫单抗和⁹⁰Y-替伊莫单抗。参见Witzig,Cancer Chemother.Pharmacol.,48增刊1:S91-S95(2001)。

[0405] 治疗性部分、其他蛋白质、其他抗体和/或可检测标记可以直接或通过中间体(例如,接头)间接与本发明的抗体偶联或缀合。参见例如,Arnon等人,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy,”Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy,Reisfeld等人(编辑),第243-56页(Alan R.Liss, Inc.1985);Hellstrom等人,“Antibodies For Drug Delivery,”Controlled Drug Delivery(第2版),Robinson等人(编辑),第623-53页(Marcel Dekker, Inc.1987);Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review,” Monoclonal Antibodies 84:Biological And Clinical Applications,Pinchera等人(编辑),第475-506页(1985);“Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy,”Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy,Baldwin等人(编辑),第303-16页(Academic Press 1985);以及Thorpe等人,Immunol.Rev.,62:119-58(1982)。合适的接头包括,例如,可切割和不可切割的接头。可采用在酸性或还原条件下,在暴露于特定蛋白酶时或在其他限定条件下释放所偶联的治疗性部分、蛋白质、抗体和/或可检测标记的不同接头。

[0406] VII. 药物组合物和使用方法

[0407] 在预防性应用中,抗体或用于诱导抗体的剂或其药物组合物以有效降低风险、减轻严重性,或延迟疾病(例如,阿尔茨海默病)的至少一个体征或症状的发作的方案(剂量、频率和施用途径)施用至易患该疾病或有患病风险的患者。具体地讲,该方案优选地有效抑制或延迟脑中的tau或磷酸化-tau和由其形成的成对丝,和/或抑制或延迟其毒性作用和/或抑制/或延迟行为缺陷的发展。在治疗性应用中,抗体或诱导抗体的剂以有效改善或至少

抑制疾病(例如,阿尔茨海默病)的至少一个体征或症状的进一步恶化的方案(剂量、频率和施用途)施用至疑似患有或已经患有该疾病的患者。具体地讲,该方案优选地有效减少或至少抑制与毒性和/或行为缺陷相关联的tau、磷酸化tau或由其形成的成对丝的水平的进一步增加。行为缺陷可以从认知量表(如ADAS Cog)或简易精神状态检查进行评估。治疗可以通过这些量表上的改善任选地在正常范围内、降低的下降或维持量表上的恒定值来证明。预防可以通过这些量表上的下降减少或延迟或缺乏来证明。治疗和预防也可以通过一种或多种标志物(包括实施例中公开的那些)的水平变化来证明。

[0408] 如果个别经治疗的患者达到的结果比不通过本发明的方法治疗的对比患者的对照群体中的平均结果更有利,或如果经治疗患者的结果相对于对照临床试验(例如,II期、II/III期或III期试验)中的对照患者被证明更有利,在 $p < 0.05$ 或0.01或甚至0.001的水平,那么方案被认为是治疗或预防有效的。

[0409] 有效剂量随许多不同的因素而变化,所述因素诸如施用方式、靶位点、患者的生理状态、患者是否为ApoE携带者、患者是人还是动物、施用的其他药物以及治疗是预防性的还是治疗性的。

[0410] 抗体的示例性剂量范围为约0.01至60mg/kg,或约0.1至3mg/kg或0.15-2mg/kg或0.15-1.5mg/kg患者体重。抗体可以每天、隔日、每周、每两周、每月、每季度或根据通过实证分析决定的任何其他时间表施用此类剂量。示例性的治疗需要长期施用多种剂量,例如至少六个月。另外的示例性治疗方案需要每两周施用一次或一月施用一次或每3至6个月施用一次。

[0411] 对于人施用,用于主动施用的剂的量在每个患者0.1-500 μ g,且更通常在每次注射1-100或1-10 μ g变化。注射的时间可以从一天一次至一年一次至十年一次显著变化。典型的方案由免疫,然后以诸如6周间隔或两个月的时间间隔进行加强注射组成。另一种方案由免疫,然后在1、2和12个月后进行加强注射组成。另一种方案需要两月一次终身注射。或者,加强注射可以如通过免疫应答的监测所指示的不规律地进行。

[0412] 抗体或用于诱导抗体的剂优选通过外部途径(即,施用的或诱导的抗体穿过血脑屏障到达脑部中的预期部位的途径)施用。施用途包括局部、静脉内、口服、皮下、动脉内、颅内、鞘内、腹膜内、鼻内、眼内或肌内。抗体施用的优选途径是静脉内和皮下。主动免疫的优选途径是皮下和肌内。这种类型的注射最通常在手臂或腿部肌肉中进行。在一些方法中,将剂直接注射到积聚沉积物的特定组织中,例如颅内注射。

[0413] 用于肠胃外施用的药物组合物优选是无菌且基本上等渗并在GMP条件下制造的。药物组合物可以单位剂型(即,用于单次施用的剂量)提供。可使用一种或多种生理上可接受的载体、稀释剂、赋形剂或助剂配制药物组合物。配方取决于所选择的施用途。对于注射,抗体可在水溶液,优选在生理相容的缓冲液诸如汉克氏溶液(Hank's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理盐水或乙酸盐缓冲液中(以减少注射部位的不适)中配制。溶液可含有配制剂,诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。或者,抗体可以是冻干形式,以在使用前用合适的媒介物(例如,无菌的无热原水)复原。

[0414] 本发明的方案可以与有效治疗或预防正在治疗的疾病的另一种剂组合施用。举例来说,在阿尔茨海默病的情况下,本发明的方案可以与针对A β 的免疫疗法(WO/2000/072880)、胆碱酯酶抑制剂或美金刚组合,或在帕金森病的情况下,本发明的方案可以与针

对 α 突触核蛋白的免疫疗法W0/2008/103472、左旋多巴、多巴胺激动剂、COMT抑制剂、MAO-B抑制剂、金刚烷胺或抗胆碱能剂组合。

[0415] 抗体以有效方案施用,所述有效方案意指延迟发作、降低严重性、抑制进一步恶化和/或改善正在治疗的病症的至少一种体征或症状的剂量、施用途径和施用频率。如果患者已经患有病症,那么可以将该方案称为治疗有效方案。如果患者相对于普通群体患有该病症的风险高但尚未出现症状,那么将该方案称为预防有效方案。在一些情况下,相对于历史对照或同一患者的过去经历,可以在个别患者中观察到治疗或预防功效。在其他情况下,相对于未治疗患者的对照群体,可以在经治疗患者的群体的临床前或临床试验中证明治疗或预防功效。

[0416] 抗体的示例性剂量为0.1-60mg/kg (例如,0.5、3、10、30或60mg/kg) 或0.5-5mg/kg 体重(例如,0.5、1、2、3、4或5mg/kg) 或作为固定剂量的10-4000mg或10-1500mg。剂量取决于患者的状况和对先前治疗的应答(如果有的话)、治疗是预防性的还是治疗性的以及该病症是急性的还是慢性的以及其他因素。

[0417] 施用可以是肠胃外、静脉内、口服、皮下、动脉内、颅内、鞘内、腹膜内、局部、鼻内或肌内。可以通过静脉内或皮下施用将一些抗体施用到体循环中。静脉内施用可以,例如,通过在诸如30-90min的时间内输注。

[0418] 施用频率取决于循环中抗体的半衰期、患者的状况和施用途径以及其他因素。频率可以是响应于患者状况的改变或正在治疗的病症的进展每天、每周、每月、每季度或不定期地。静脉内施用的示例性频率是在连续治疗过程内的每周与每季度之间,但也可以更频繁或更不频繁地给药。对于皮下施用,示例性给药频率是每天至每月,但也可以更频繁或更不频繁地给药。

[0419] 施用的剂量数取决于该病症是急性的还是慢性的以及该病症对治疗的应答。对于急性病症或慢性病症的急性加重,1与10剂量之间通常是足够的。有时单次推注剂量,任选地以分开形式,足以用于急性病症或慢性病症的急性加重。治疗可以重复用于急性病症或急性加重的复发。对于慢性病症,可以定期,例如,每周、每两周、每月、每季度、每六个月施用抗体至少1年、5年或10年,或患者终生。

[0420] A. 诊断和监测方法

[0421] 体内成像、诊断方法和优化免疫疗法

[0422] 本发明提供了在患者体内对tau蛋白沉积物(例如,神经原纤维缠结和tau包涵体)成像的方法。该方法通过向患者施用试剂诸如结合tau的抗体(例如,小鼠、人源化、嵌合或饰面的3D6抗体),然后在其结合后检测该剂来工作。与SEQ ID NO:3的氨基酸残基199-213或262-276(分别对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271或320-334)内或SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268或290-299或321-330或353-362内的tau表位结合的抗体是优选的。在一些方法中,抗体与SEQ ID NO:3的氨基酸残基199-213(对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基257-271)内或SEQ ID NO:3的氨基酸262-276(对应于SEQ ID NO:1的氨基酸残基320-334)内的表位结合。在一些方法中,抗体与SEQ ID NO:1的氨基酸残基259-268内、SEQ ID NO:1的氨基酸290-299内、SEQ ID NO:1的氨基酸321-330内或SEQ ID NO:1的氨基酸353-362内的表位结合。通过使用缺乏全长恒定区的抗体片段诸如Fab可以避免或减少对所施用抗体的清除应答。在一些方法中,相同的抗体可以用作治疗和诊断试剂两者。

[0423] 诊断试剂可以通过静脉内注射施用到患者体内,或通过颅内注射或通过颅骨上钻孔直接施用到脑部中。试剂的剂量应在与用于治疗方法相同的范围内。通常,对试剂进行标记,但在一些方法中,对tau具有亲和力的主要试剂未标记并且第二标记剂用于与主要试剂结合。标记的选择取决于检测手段。举例来说,荧光标记适用于光学检测。顺磁性标记的使用适用于无需外科手术干预的断层摄影检测。还可使用正电子发射断层摄影术(PET)或单光子发射计算机断层摄影术(SPECT)检测放射性标记。

[0424] tau蛋白沉积物的体内成像方法可用于诊断tau蛋白病(诸如阿尔茨海默病、额颞叶变性、进行性核上性麻痹和皮克氏病)或确认其诊断或对这种疾病的易感性。举例来说,该方法可用于表现出痴呆症状的患者。如果患者具有异常的神经原纤维缠结,那么患者可能患有阿尔茨海默病。或者,如果患者具有异常的tau包涵体,那么取决于内含物的位置,患者可能患有额颞叶变性。该方法还可用于无症状患者。异常tau蛋白沉积物的存在表明对未来症状性疾病的易感性。该方法还可用于在先前已被诊断患有tau相关疾病的患者中监测疾病进展和/或对治疗的应答。

[0425] 可以通过将标记基因座的数量、大小和/或强度与对应的基线值相比较来进行诊断。基线值可代表未患病个体的群体的平均水平。基线值还可代表在同一患者中确定的先前水平。举例来说,可以在开始tau免疫疗法治疗之前在患者中确定基线值,然后将测量值与基线值进行比较。相对于基线的值的减小传达了对治疗的阳性应答的信号。

[0426] 在一些患者中,可以通过进行PET扫描来辅助tau蛋白病的诊断。可使用例如常规的PET成像器和辅助设备来进行PET扫描。扫描通常包括通常已知与tau蛋白沉积物相关联的一个或多个脑部区域以及其中通常存在很少(如果有的话)沉积物以用作对照的一个或多个区域。

[0427] 在PET扫描中检测到的信号可以表示为多维图像。多维图像可以是表示穿过脑部的横截面的二维、表示三维脑部的三维或表示三维脑部随时间的变化的四维。可使用具有不同颜色的色标,从而指示不同的标记量并且推测性地指示所检测到的tau蛋白沉积物。扫描结果还可以利用与检测到的标记量以及因此检测到的tau蛋白沉积物的量相关的数字以数字方式呈现。存在于已知与特定tau蛋白病(例如,阿尔茨海默病)的沉积物相关联的脑部区域中的标记可与存在于已知与沉积物无关的区域中的标记进行比较,以提供指示前一个区域内的沉积物程度的比率。对于相同的放射性标记的配体,此类比例提供了不同患者之间的tau蛋白沉积物及其变化的可比较的度量。

[0428] 在一些方法中,PET扫描与MRI或CAT扫描同时或同在一次患者就诊时进行。MRI或CAT扫描提供比PET扫描更多的脑部解剖细节。然而,来自PET扫描的图像可以叠加在MRI或CAT扫描图像上,从而更精确地指示相对于脑部的解剖结构PET配体的位置并由此推出tau沉积物的位置。一些机器可以执行PET扫描和MRI或CAT扫描,而无需患者在扫描之间改变位置,从而有利于图像的叠加。

[0429] 合适的PET配体包括本发明的放射性标记的抗体(例如,小鼠、人源化、嵌合或饰面的3D6抗体)。所使用的放射性同位素可以是,例如, C^{11} 、 N^{13} 、 O^{15} 、 F^{18} 或 I^{123} 。施用PET配体与进行扫描之间的间隔可取决于PET配体,且具体地是其在脑部的摄取和清除速率,以及其放射性标记的半衰期。

[0430] PET扫描还可以作为预防措施在无症状患者中或在有轻度认知障碍症状但尚未被

诊断患有tau蛋白病但发展tau蛋白病的风险高的患者中进行。对于无症状患者,扫描尤其适用于由于家族史、遗传或生化风险因素或中老年而被认为患tau蛋白病的风险高的个体。例如在45与75岁之间的患者年龄就可以开始预防性扫描。在一些患者中,在50岁时进行第一次扫描。

[0431] 预防性扫描可以以例如介于六个月与十年,优选地介于1至5年的间隔进行。在一些患者中,一年一次进行预防性扫描。如果作为预防措施进行的PET扫描指示异常高的tau蛋白沉积物水平,那么可以开始免疫疗法并且随后进行PET扫描,就像在被诊断患有tau蛋白病的患者中那样。如果作为预防措施进行的PET扫描指示tau蛋白沉积物的水平在正常水平内,那么可以像之前一样以介于六个月与10年之间、且优选地1至5年的间隔,或响应于tau蛋白病或轻度认知障碍的体征或症状的出现而进行另外的PET扫描。如果且当检测到高于正常水平的tau蛋白沉积物时,通过将预防性扫描与tau定向免疫疗法的施用组合,可以将tau蛋白沉积物的水平降低至或接近正常水平,或至少抑制进一步增加,并且与没有接受预防性扫描和tau定向免疫疗法相比,患者可以保持更长时间不患tau蛋白病(例如,至少5年、10年、15年或20年,或患者的余生)。

[0432] tau蛋白沉积物的正常水平可以通过未被诊断患有特定tau蛋白病(例如,阿尔茨海默病)且不被认为处于发展这种疾病的高风险的普通群体中的个体的代表性样品(例如,50岁以下无疾病个体的代表性样品)的脑部神经原纤维缠结或tau包涵体的量来确定。或者,如果已知其中发展了tau蛋白沉积物的脑部区域中的根据本方法的PET信号不同于(在测量的准确度内)来自其中已知此类沉积物通常不发展的脑部区域中的信号,那么可以在个体患者中识别正常水平。通过与正常水平(例如,外部平均值和标准偏差的方差)进行比较,或者仅仅由与不被已知与沉积物相关联的区域相比与tau蛋白沉积物相关联的脑部区域中超出实验误差的升高的信号,可以识别个体中的升高水平。为了比较个体和群体中tau蛋白沉积物的水平,tau蛋白沉积物应优选在脑部的一个或多个相同区域中确定,这些区域包括已知形成与特定的tau蛋白病(例如,阿尔茨海默病)相关联的tau蛋白沉积物的至少一个区域。具有升高水平的tau蛋白沉积物的患者是开始免疫疗法的候选者。

[0433] 在开始免疫疗法后,可首先将tau蛋白沉积物水平的降低视为治疗具有期望效果的指示。观察到的降低可以是,例如,在基线值的1%-100%、1%-50%或1%-25%的范围内。此类效果可以在已知沉积物在其中形成的脑部的一个或多个区域中测量,或可以由此类区域的平均值测量。治疗的总效果可以通过将相对于基线的减少百分比与平均未治疗患者中将可能存在的tau蛋白沉积物的增加相加来近似计算。

[0434] tau蛋白沉积物在大约恒定水平的维持或甚至tau蛋白沉积物的少量增加也可以指示对治疗的应答,尽管是非最佳应答。可以将此类应答与未接受治疗的患有特定tau蛋白病(例如,阿尔茨海默病)的患者中的tau蛋白沉积物水平的时间过程进行比较,以确定免疫疗法是否具有抑制tau蛋白沉积物进一步增加的作用。

[0435] tau蛋白沉积物的变化的监测允许响应于治疗调整免疫疗法或其他治疗方案。PET监测提供了对治疗的应答的性质和程度的指示。然后,可以确定是否调整治疗,并且如果需要,可以响应于PET监测来调整治疗。因此,PET监测允许在其他生物标记物、MRI或认知测量已经可检测地响应之前调整tau定向免疫疗法或其他治疗方案。显著变化意指治疗后的参数值相对于基线的比较提供了治疗已经或尚未产生有益效果的一些证据。在一些情况下,

患者自身中参数值的变化提供了治疗已经或尚未产生有益效果的证据。在其他情况下,将患者中的值的变化(如果有的话)与未进行免疫疗法的患者的代表性对照群体中的值的变化(如果有的话)进行比较。特定患者的应答与对照患者的正常应答的差异(例如,平均值加标准偏差的方差)也可以提供免疫疗法方案在患者中实现或未实现有益效果的证据。

[0436] 在一些患者中,监测指示了tau蛋白沉积物的可检测下降,但是tau蛋白沉积物的水平仍保持高于正常水平。在此类患者中,如果没有不可接受的副作用,那么治疗方案可以按原样继续,或甚至增加施用频率和/或剂量(如果尚未达到最大推荐剂量的话)。

[0437] 如果监测指示患者中tau蛋白沉积物的水平已经降低至tau蛋白沉积物的正常或接近正常水平,那么免疫治疗方案可以从诱导的方案(即,降低tau蛋白沉积物的水平)调整为维持的方案(即,将tau蛋白沉积物维持在大致恒定的水平)。这种方案可通过减少施用免疫疗法的剂量和/或频率实现。

[0438] 在其他患者中,监测可指示免疫疗法具有一些有益效果但是非最佳效果。最佳效果可以定义为在开始疗法后在给定时间点进行免疫疗法的tau蛋白病患者的代表性样品所经历的tau蛋白沉积物的变化的上半部分或四分点之内的tau蛋白沉积物水平的百分比减少(在整个脑部或已知tau蛋白沉积物在其中形成的其代表性区域中测量或计算)。经历较小降低的患者或其tau蛋白沉积物保持恒定或甚至增加但程度小于在不存在免疫疗法的情况下所预期的程度(例如,如从不施用免疫疗法的患者的对照组所推断的那样)的患者可被归类为经历阳性但非最佳的应答。此类患者可以任选地进行方案调整,其中增加了剂的剂量和或施用频率。

[0439] 在一些患者中,tau蛋白沉积物可以与不接受免疫疗法的患者中的tau沉积物质似或更大的方式增加。如果此类增加持续一段时间,诸如18个月或2年,甚至在剂的频率或剂量的任何增加之后,那么可以根据需要停止免疫疗法,以有利于其他治疗。

[0440] 诊断、监测和调整tau蛋白病的治疗的以上描述主要集中在在使用PET扫描。然而,可使用用于可视化和/或测量适于本发明的tau抗体(例如,小鼠、人源化、嵌合或饰面的3D6抗体)的使用的tau蛋白沉积物的任何其他技术代替PET扫描来执行此类方法。

[0441] 还提供了在患有或易患与tau相关联的疾病的患者中检测针对tau的免疫应答的方法。所述方法可用于监测使用本文所提供的剂的治疗性和预防性治疗的过程。被动免疫后的抗体谱通常显示出抗体浓度的立即峰值,然后是指数衰减。在没有再次给药的情况下,衰变取决于所施用的抗体的半衰期在数天至数月的时间段内接近治疗前水平。举例来说,一些人抗体的半衰期为约20天。

[0442] 在一些方法中,在施用之前进行受试者中针对tau的抗体的基线测量,之后不久进行第二次测量以确定峰值抗体水平,并且间隔地进行一次或多次进一步测量以监测抗体水平的衰减。当抗体水平已经下降至基线或低于基线的峰值(peak less baseline)的预定百分比(例如,50%、25%或10%)时,施用另一剂量抗体的施用。在一些方法中,将低于背景的峰值或随后测定的水平与先前测定的参考水平进行比较以在其他受试者中构建有益的预防性或治疗性治疗方案。如果测量的抗体水平显著小于参考水平(例如,小于由治疗受益的受试者群体中的参考值的平均值减一个或优选地,两个标准偏差),指示施用附加剂量的抗体。

[0443] 还提供了检测受试者中的tau的方法,例如,通过测量来自受试者的样品中的tau

或通过受试者中的tau的体内成像。此类方法可用于诊断或确认与tau相关联的疾病的诊断或其易感性。所述方法还可用于无症状受试者。tau的存在指示对未来症状性疾病的易感性。所述方法还可用于监测先前已经被诊断患有以下疾病的受试者中的疾病进展和/或对治疗的应答:阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病(tauopathy)、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病(type C Niemann-Pick disease)、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征(amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex of Guam)、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies)、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP)。

[0444] 可以使从患有以下疾病、疑似患有所述疾病或有患所述疾病风险的受试者获得的生物样品与本文所公开的抗体接触以评估tau的存在:阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP)。举例来说,可以将此类受试者中的tau水平与健康受试者中存在的那些水平进行比较。或者,可以将接受对该疾病的治疗的此类受试者中的tau水平与没有针对以下疾病进行治疗的受试者的那些tau水平相比较:阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、原发性年龄相关性tau蛋白病(tauopathy)、脑炎后帕金森症、创伤后痴呆或拳击员痴呆、皮克氏病、C型尼曼-皮克病(type C Niemann-Pick disease)、核上性麻痹、额颞叶痴呆、额颞叶变性、嗜银颗粒病、球状神经胶质性tau蛋白病、关岛肌萎缩性侧索硬化/帕金森痴呆复征(amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex of Guam)、皮质基底节变性(CBD)、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies)、阿尔茨海默病的路易体变异(LBVAD)、慢性创伤性脑病变(CTE)、球状神经胶质性tau蛋白病(GGT)或进行性核上性麻痹(PSP)。一些此类测试涉及从此类受试者中获得的组织活检。ELISA测定也可以是有用的方法,例如,用于评估流体样品中的tau。

[0445] VIII. 药盒

[0446] 本发明还提供了包括本文所公开的抗体和相关材料诸如使用说明书(例如,包装插页)的药盒(例如,容器)。使用说明书可包含例如施用抗体和任选的一种或多种另外剂的说明书。抗体的容器可以是单位剂量、散装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。

[0447] 包装插页是指治疗性产品的商业包装中通常包括的说明书,其包含关于适应症、用法、剂量、施用、禁忌症和/或关于此类治疗产品的使用的警告的信息。

[0448] 药盒还可包括第二容器,所述第二容器包括药学上可接受的缓冲液,诸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和右旋糖溶液。它还可以包括从商业和用户角度所需的其他材料,包括其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头和注射器。

[0449] 上文或下文引用的所有专利文件、网站、其他出版物、登录号等出于所有目的全文以引用方式并入,其程度如同每一个单独的项被特定且单独地指明以引用方式如此并入一样。如果一个序列的不同版本在不同的时间与一个登录号相关联,那么在本申请的有效申

请日期与登录号相关联的版本是有意义的。有效申请日期意指早于实际申请日期或涉及到登录号的优先权申请的申请日期(如果适用的话)。同样,如果出版物、网站等的不同版本在不同的时间公布,那么在本申请的有效申请日期最近出版的版本是有意义的,除非另外指明。除非另外具体指明,否则本发明的任何特征、步骤、要素、实施方案或方面可以与任何其他组合使用。虽然出于清楚和理解的目的,已经通过说明和举例的方式对本发明进行了相当详细的描述,但很显然,可在所附权利要求的范围内实践某些变化和修改。

[0450] 实施例

[0451] 实施例1:小鼠3D6和人源化变体hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4阻断Tau的内化

[0452] 进行采用荧光激活细胞分选(FACS)的内化测定以评价各种抗体阻断tau的神经元内化的能力。阻断内化的抗体将可能阻断tau的传递。

[0453] 通过将重组全长tau与等摩尔量的低分子量肝素在37℃下孵育3天来产生可溶性tau聚集体。孵育后,通过以10,000xg离心15分钟来分离不溶性和可溶性tau。然后通过制备型尺寸排阻色谱法解析上清液,并收集聚集体峰(大于100kDa)并浓缩。为了测量内化,用pHrodo红琥珀酰亚胺酯标记可溶性聚集体级分,其在内化到内容酶体途径中时发荧光。

[0454] 将pHrodo标记的4R0N人tau P301L可溶性寡聚体(1.5μg/ml最终浓度)与抗tau抗体(剂量滴定:80μg/ml起始浓度,然后是4倍连续稀释)在室温下在细胞培养基中预孵育30分钟。然后将Tau/抗体混合物以500,000个细胞/ml的最终浓度添加至B103神经母细胞瘤细胞系中,并在37℃下在组织培养孵育箱(5% CO₂)中孵育3-4小时。然后用培养基将细胞洗涤3次,随后进行10分钟培养基孵育,并用FACS缓冲液(PBS中的1% FBS)洗涤2次。将细胞重悬于100μl FACS缓冲液中,并通过FACS LSR II测量德克萨斯红平均荧光强度。来自pHrodo的德克萨斯红荧光由在内化时与内容酶体区室相关的低pH值激活。因为FACS检测到细胞,而pHrodo仅在内化时发出荧光,因此只检测到由细胞内化的tau。平均荧光强度越低,内化tau的量越少,表明所测试抗体的阻断活性更高。

[0455] (m) PRX005(小鼠3D6)和PRX005(hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4)与同种型对照(同种型ctl)相比,在tau内化模型中以等同浓度显示高度抑制活性(图1)。所有值均为平均值±SD(n=3-5)。IC₅₀=9nM。[tau]=167nM。

[0456] 实施例2小鼠3D6在使用阿尔茨海默病提取物诱导的tau接种模型中减少病理性tau发展

[0457] 在使用阿尔茨海默病提取物诱导的tau接种模型中研究小鼠3D6减少病理性tau发展的能力。

[0458] 在出现启动子驱动的tau病理之前,在小鼠PrP启动子(神经元特异性表达)的控制下表达人Tau临床突变体(P301S)的小鼠用于本研究。hTauP301S小鼠到6月龄时显示丝状神经炎性tau病变,其到9-12月龄时与神经元损失以及海马和内嗅皮质萎缩相关地逐渐累积。小鼠(平均3月龄)经历单次立体定向注射到海马中。在海马注射前7天开始,小鼠(n=30/组)接受每周IP(腹腔内)注射(50mg/kg)小鼠3D6(mPRX005)-IgG2a或IgG2a阴性对照抗体持续2个月。在研究结束时,用AT8抗体评估病理进展的程度。

[0459] AD脑提取物制备

[0460] 将阿尔茨海默病组织匀浆化,并通过首先使用20冲程电动杜恩斯匀浆器将人灰质9体积当量(相对于脑组织的原始质量)重悬于缓冲液A(10mM TRIS 0.8M NaCl,10%蔗糖,

2mM DTT, 1mM EGTA pH 7.4) 中来富集Tau蛋白。然后将该匀浆在4℃下以10,000xg离心10分钟。将上清液通过Kimwipe过滤并保持在冰上直至进一步使用。将来自离心步骤的沉淀再次以9体积当量重悬,并在与之前相同的设置下离心。将来自该离心的上清液再次通过Kimwipe过滤并与其他级分合并。然后将这些合并的上清液调节至1%月桂基肌氨酸(使用30%储备液),并在室温下以180RPM搅拌180分钟。然后将该裂解物在4℃下以250,000xg离心90分钟。将上清液保持为sarkosyl可溶性级分,并用6mL PBS轻轻洗涤沉淀,使得其不会从管中移出。除去洗涤液,并将另一2mL洗涤液施加至沉淀。除去该洗涤液后,使用1mL PBS将沉淀移出,重悬,并转移至干净且无菌的微量离心管中。现在将重悬的沉淀在4℃下以250,000xg再次离心30分钟。离心后,将沉淀与上清液分离,并将沉淀重悬于0.1mL PBS/g起始重量中。将沉淀通过移液管尖端破碎并在室温下上下颠倒旋转16小时。孵育后,使用尖端探针超声仪将重悬液超声处理15个0.5s脉冲(设定为15%功率和100%占空比)。然后将超声处理的材料通过27G针并在室温下上下颠倒旋转30分钟。将溶液超声处理,并将样品在4℃下以100,000xg离心30分钟。将上清液保持为高g上清液级分,并使用50uL/g原始材料将沉淀重悬于PBS中。将重悬的沉淀以20%功率超声处理100个0.5s脉冲,每20个脉冲在冰上静置30s。将该匀浆在4℃下以10,000xg离心10分钟。将该最终上清液保持为富集的sarkosyl不溶性Tau蛋白级分,并弃去沉淀。

[0461] 剂量制剂和施用

[0462] 物质的制备

[0463] 将所需量的来自AD患者的富含sarkosyl的脑级分解冻并在填充有冰水的超声仪水浴(QSonica)中以10%功率和10s开5s关脉冲模式超声处理3分钟。在立体定向注射之前,在超声处理之后,通过移液将1μl抗体小鼠3D6(mPRX005)或6F10(对照抗体)(均未以10mg/ml稀释)或PBS与1μl富含sarkosyl的AD脑混合。与IgG1相比,鼠IgG2a在体外促进吞噬细胞更快的tau清除,并用于本研究。IgG2amPRX005(小鼠3D6)在体内显示出对比IgG1优异的功效。

[0464] 研究前,在1x磷酸盐缓冲盐水(1xPBS)的无菌媒介物中将测试和对照物品配制至5mg/mL的浓度,以便允许以10mL/kg的剂量体积施用。

[0465] 立体定向注射

[0466] 使用异氟烷麻醉小鼠,并将扁平颅骨置于立体定向装置(Kopf仪器)中。剃除手术区域的毛发,并使用70%酒精和碘进行消毒,并在皮肤中做切口。使用微型钻和头部直径为0.9mm的钻头,在颅骨中相对于前囟的正确喙侧和侧位(表3中描述的坐标)钻孔。将保持在保持器中的30号套管降低到位(表3中描述的坐标)。以1μl/min的速度(WPI,AL-1000,输注泵)注射预孵育的AD脑提取物(1μl AD脑提取物)。通过PE10管输注注射体积,PE10管连接至置于输注/回输泵中的气密性10-μl Hamilton注射器(#1701)。输注后,将针留在原位5分钟,然后缓慢撤回。用缝线闭合皮肤切口。皮下注射卡洛芬作为镇痛剂。通过使用加热垫,在整个程序中维持小鼠的体温,直到小鼠从麻醉中恢复。

[0467] 表3

[0468] 实验设计

[0469]	施用途径	颅内立体定向注射
	所靶向组织	海马, CA1
	立体定向坐标	A/P: -1.7 mm M/L: -1.9 mm D/V: -2.0 mm
[0470]	给药体积	1 μ l 预孵育脑干匀浆
	注射速度	1 μ l /min
	治疗频率	单剂量
	给药日志	保存每只小鼠的给药日志, 以防止双重或不匹配的给药。

[0471] A/P=前-后;L=内-外;D/V=背-腹

[0472] 样品采集和加工

[0473] 使用CO₂在5月龄时(立体定向注射后2个月)处死小鼠,并经由左心室用冰冷1xPBS经心脏冲洗5分钟(3ml/min,经由蠕动泵)。切割右心房作为流出路径。将脑从颅骨中取出。将全脑在10%中性缓冲福尔马林(NBF)中固定24小时,并在4℃下储存于1xPBS中直至进一步加工。

[0474] 组织学染色

[0475] 如表4中所述提供用于免疫荧光染色的试剂。

[0476] 表4

[0477] 免疫组织化学试剂信息

[0478]	试剂	宿主	缀合	制造商	目录号	稀释
	AT8	小鼠	生物素	Thermo Scientific	MN1020 B	1:5000
	VECTASTAIN® Elite ABC (抗生物素蛋白-生物素-HRP 复合物)	N/A	N/A	载体	PK-6100	1:100

[0479] 将脑送至Neuroscience Associate(Knoxville,TN),用20%甘油和2%二甲亚砜处理过夜以防止冷冻伪影。然后使用MultiBrain®/ MultiCord®技术(NeuroScience Associates,Knoxville,TN)将样本包埋在明胶基质中。在通过浸入用碎干冰冷却的2-甲基丁烷中固化后,将块快速冷冻,并安装在A0 860滑动切片机的冷冻台上。将MultiBrain®/MultiCord®块以35 μ 冠状切片,获得含有海马的切片(前囟-0.5和-4.0)。将所有切片穿过样本区段的整个长度切割,并依次收集到24个容器的系列中。所有容器均含有抗原保存溶液(50% PBS pH7.0、50%乙二醇、1%聚乙烯吡咯烷酮)。对于免疫组织化学,用AT8(1:5000,Thermo Scientific)对自由浮动切片进行染色。从封闭血清开始的所有孵育溶液使用含Triton X-100的Tris缓冲盐水(TBS)作为媒介物;所有冲洗都是用TBS。在过氧化氢处理和封闭血清后,将切片用生物素化AT8(1:5000)在室温下免疫染色过夜。媒介

物溶液含有用于透化的Triton X-100。冲洗后,施加Vector Lab的ABC溶液(抗生物素蛋白-生物素-HRP复合物; VECTASTAIN® Elite ABC, Vector, Burlingame, CA)。再次冲洗切片,然后用二氨基联苯胺四盐酸盐(DAB)和过氧化氢处理以产生可见的反应产物。进一步冲洗后,将切片固定在明胶包被的载玻片上,风干。将载玻片在醇中脱水,在二甲苯中澄清并盖上盖玻片。每个载玻片都用块编号和染色剂激光蚀刻。在连续排序载玻片后,对于每种染色,从喙侧到尾侧,在右上角用永久性墨水对载玻片进行编号,并在Huron Digital Pathology Tissuescope LE 120上以10x进行数字扫描。

[0480] 免疫组织化学分析

[0481] 使用Image J中的粒子计数器功能对同侧和对侧海马(海马角、齿状回和下托)中的A8阳性神经元进行定量。对间隔210 μ m的总计15个切片进行定量。仅包括具有可区分的核和神经元投射的大于5 μ m的神经元。

[0482] 使用具有半球(受试者内)和治疗(受试者间)因素的双因素ANOVA来计算统计学显著性。使用GraphPad Prism 9生成所有统计分析和图。

[0483] 结果

[0484] 图2A描绘用对照(上图)和小鼠3D6[(m) PRX005) 处理的小鼠的脑切片的图像;底图]。对侧(contra)位于每个图像的左侧,并且同侧(ipsi)位于每个图像的右侧。

[0485] 结果在图2B中示出。与同侧海马相比,对侧(相对于注射)海马中的总体tau病理负荷较低;这是预期的,因为对侧海马中的病理是由于tau通过来自注射部位海马的传出神经元的传播。与用IgG2a同种型对照处理相比,用小鼠3D6全身处理导致同侧和对侧海马中AT8染色显著降低,如通过免疫组织化学所测量(图2B)。这些结果证明全身施用的小鼠3D6在抑制由AD来源的病原物种诱导的tau病理的摄取和扩散中的功效。所有值均为平均值 $\pm$ SE (n = 30)。

[0486] 实施例3:小鼠3D6治疗减少转基因Tau模型中的病理性Tau并改善行为缺陷

[0487] 在转基因tau老化模型中评估小鼠3D6 (mPRX005) 功效。该模型的利用提供了测试功效的正交方法,因为tau病理发展由于老化和过表达而发生,并且抗体治疗可接近的任何tau种类由神经元分泌。这消除了诱导的疾病模型中使用的特定tau种子的选择中固有的偏差。

[0488] 在这项研究中,在携带在鼠朊病毒启动子控制下的临床额颞叶痴呆相关的P301S突变的人类tau转基因小鼠品系(品系PS19)中对年龄依赖性的病理变化、tau的翻译后变化和行为的改变进行了评估。PS19小鼠在脊髓、脑干、中脑、皮质、杏仁核和海马中显示年龄依赖性tau过度磷酸化(如通过AT8和AT100所检测的),以及相关的运动缺陷。Tau病理发展在6个月时出现,并连同伴随神经变性进展,直至在10-14个月龄时死亡。

[0489] 用每周注射PBS、IgG1同种型对照和小鼠3D6 (mPRX005) (50mg/kg IP(腹膜内)) 治疗小鼠持续3个月(6-9.7月龄),并测量tau病理和相关行为缺陷的各种终点。

[0490] 行为评估

[0491] 在3、6和9月龄时以及9.7月龄处死前进行倒置网格悬挂测试。倒置网格悬挂测试协调性和肌肉状况。将网格(40 $\times$ 20cm/0.5 $\times$ 0.5cm目)放置在平坦、柔软表面上方50cm处,并测量动物跌落的潜伏期。

[0492] 自由浮动振动切片机切片

[0493] 从每个右半球,总共切割约32个含有相关感兴趣区域的矢状面切片(40 μ m)。基于立体定向小鼠脑图谱(Paxinos和Franklin),选择在前囟外侧2.64与0.84之间的间隔为200 μ m的感兴趣脑切片。加工每组5个切片/小鼠和ROI,分别用AT8和AT100染色。将选择用于特定染色的所有动物的切片随机化用于染色并盲法定量。切片编号为小鼠编号,每只小鼠的不同切片的扩展名为1-5。

[0494] 免疫组织化学程序

[0495] 在振动HM650V切片机(Thermo Scientific,Waltham,MA,USA)上切割矢状脑切片(40 μ m),并保存在1x PBS/叠氮化钠0.1%中直至使用。

[0496] 用PBS洗涤两次持续5分钟后,将脑切片在1xPBS:甲醇(1:1)溶液中孵育10分钟,然后各自用PBS-0.1%Triton-100(PBST)洗涤3次,每次5分钟。封闭(PBST中的5%牛奶)30分钟后,将脑切片与特异性第一小鼠抗Tau抗体(AT8或AT100,规格参见下表5)在室温下孵育2小时(或在40 $^{\circ}$ C过夜),然后在用PBST洗涤3次5分钟后,与适当的Alexa缀合的第二抗体在5%乳-PBST(1:500;Invitrogen;ThermoFisher)中在室温下孵育1小时。用PBST洗涤3次和用PBS洗涤2次,每次5分钟后,将脑切片固定在显微镜载玻片(Menzel,Superfrost+)上,干燥,用Fluoromount(Sigma-Aldrich)包埋并盖上盖玻片。使用Image J确定ROI中的免疫反应面积。在GraphPad Prism v9.0中使用Kruskal-Wallis进行统计分析,然后在适用时进行邓恩事后分析(用于多重比较)。在适用的情况下,使用GraphPad Prism中的ROUT方法,基于使用非常严格的Q=0.1%(最大期望FDR)的错误发现率方法(FDR)来鉴定异常值。

[0497] 表5用于IHC分析的抗体的汇总

	mAb	供应商	特异性	宿主	储备液浓度	工作浓度
[0498]	AT8	Thermo Scientific	人	小鼠	200 μ g/ml	0.4 μ g/ml
	AT100	Thermo Scientific	人	小鼠	200 μ g/ml	0.8 μ g/ml

[0499] 自动定量

[0500] 用Leica DM400 B LED荧光显微镜获取图像并用ImageJ进行分析。所有采集的图像都进行相同的计算机子程序,以最大限度地减少研究者偏倚。为了定量AT8-和AT100-阳性面积,在整个分析中应用自动阈值化方法。

[0501] 选择感兴趣的区域(脑桥喙侧的中间)用于脑干定量。对于使用AT100或AT8的每种染色,分析中分别包括每只小鼠的五个脑切片,并计算平均值。在可能时手动校正图像,或者当感兴趣区域包括机械、结构和/或染色伪影时排除图像。

[0502] 图3,上图,是转基因tau模型实验方案的示意图。[Tx:i.p.q1w50mpk是指腹膜内注射,每周一次,50mg/kg小鼠体重]

[0503] 结果

[0504] 用小鼠3D6进行全身被动免疫促进脑干中tau病理的减少(图3,右下图;*p<0.05),如通过用针对tau过度磷酸化位点的抗体进行免疫染色所测量的。此外,小鼠3D6治疗减少了tau病理相关的运动缺陷,如通过网格悬挂测定所测量的(图3,左下图;*p<0.05)。在病理发展开始时开始用mPRX005治疗(治疗模式)延迟脑干tau病理和随后的行为缺陷。通过免疫组织化学和生物化学技术测量,小鼠3D6治疗还减少了皮质和海马中的tau病理累

积。在两个时间点(第6次给药前和研究终止时)评价谷抗体水平,表明平均小鼠3D6水平为280 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。总之,这些结果证明小鼠3D6治疗在tau蛋白病的衰老转基因模型中的功效,并且提供了小鼠3D6治疗有效对抗由tau的非纤维形式诱导的tau进展的置信度。

[0505] 实施例4:小鼠3D6保护小鼠原代皮质神经元免受Tau诱导的毒性

[0506] 如前所述(Pillot,T.,Drouet,B.,Queillé,S.等人,The nonfibrillar amyloid beta-peptide induces apoptotic neuronal cell death:involvement of its C-terminal fusogenic domain.J Neurochem.73(4):1626-34(1999),从C57Bl6/J小鼠胚胎制备胚胎期16-17天的皮质神经元。简言之,将解离的皮质细胞涂铺(50,000个细胞/孔)于用1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 聚鸟氨酸(Sigma)预包被的48孔板中。将细胞在化学成分确定的杜尔贝科氏改良的伊格尔氏/F12培养基中培养,所述培养基不含血清并补充有激素、蛋白质和盐。将培养物在35 $^{\circ}\text{C}$ 在潮湿6% CO_2 环境中保存。

[0507] 神经元治疗

[0508] 所有治疗在体外(DIV)第6至7天在48孔板中一式三份进行。在存在5种递增浓度的测试物品的情况下,将神经元与媒介物或人tau寡聚体(hT0)(基于单体的1 μM 最终浓度)一起孵育24小时,最终体积为140 μL /孔。

[0509] 最终抗体与hT0比率为:1:5、1:3、1:1、3:1和5:1,其中hT0浓度基于单体摩尔当量,因为寡聚体的确切组成和表位呈递是未知的。将抗体与hT0在室温下孵育30分钟,然后添加至神经元。

[0510] 神经元活力的测量

[0511] 在添加测试条件后将小鼠皮质神经元孵育24小时,然后使用3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5二苯基溴化四唑鎓(MTT)和乳酸脱氢酶(LDH)释放测定监测神经元活力。

[0512] 为了测量MTT信号,将细胞与MTT(Sigma,目录号M2128-10G,批号MKBH7489V)一起在35 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育1小时。为此目的,将MTT以5 mg/mL 溶解在PBS中。向每个孔中添加14 μL MTT溶液。孵育后,除去培养基,并用150 μL DMSO将细胞裂解10分钟并避光。甲瓚产物完全溶解后,在FLUOSTAR-Omega酶标仪(BMG-LABTECH)中在570nm处测定吸光度。

[0513] 为了测量LDH释放,将每个孔的培养基(110 μL)转移到1.5mL Eppendorf管中,并用新鲜培养基替换用于MTT测定。将收集的培养基在800g下离心5分钟,并将上清液(100 μL 无细胞培养基)转移到48孔板中,在4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光储存,以用于进一步分析。根据制造商的建议(细胞毒性检测试剂盒[LDH],Roche,Ref 11 644 793 001)对培养基中的LDH进行定量。

[0514] 结果

[0515] 小鼠3D6(mPRX005)对神经元活力的影响:LDH测定

[0516] 为了测试小鼠3D6(mPRX005)保护神经元免受tau诱导的神经毒性的能力,用各种浓度的具有tau寡聚体的小鼠3D6(mPRX005)处理原代小鼠皮质神经元,并通过MTT测定测量活力。使用摩尔当量的抗体:hT0,因为(a) tau种类的具体组成和分子量是异质的和未知的,和(b)由于实验持续时间的限制以及体外与体内环境之间的差异,在该特定模型中用于诱导可测量毒性的tau的浓度大于将预期存在于AD脑中的细胞外环境中的浓度。用小鼠3D6(mPRX005)处理以剂量依赖性方式降低tau诱导的毒性,并且在较高浓度下使神经元活力恢复至接近基线水平(图4,左图;所有值均为平均值 $\pm$ SD(n=3-5))。

[0517] 小鼠3D6(mPRX005)对神经元活力的影响:LDH测定

[0518] 作为评估神经元活力的正交方法,还利用LDH释放来评估小鼠3D6(mPRX005)对tau诱导的神经毒性的预防。乳酸脱氢酶(LDH)释放是细胞死亡的指标。LDH减少表明细胞死亡减少,这是由于tau的内化减少。类似于使用MTT测定所见的处理和结果,小鼠3D6(mPRX005)显示出以剂量依赖性方式预防tau的神经毒性的能力,表明用tau处理后神经元的膜完整性得以保留(图4,右图;所有值均为平均值 $\pm$ SD(n=3-5))。

[0519] 总之,跨越tau蛋白的全长的抗体的体外筛选表明MTBR的R1/R2显示出针对tau摄取和神经毒性的优异活性。PRX005的鼠前体(小鼠3D6)对MTBR tau表位具有高亲和力,并且与其他抗体相比具有优异概况。tau-硫酸乙酰肝素蛋白聚糖相互作用的直接抑制可有助于阻断tau内化、毒性和细胞内tau病理的发展。在转基因tau小鼠和接种模型中用mPRX005(小鼠3D6)进行体内处理减轻神经元内tau病理和下游行为缺陷。PRX005(hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4)在广泛体外和体内系统中的一致、优异概况支持推进PRX005(hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4)作为潜在治疗tau蛋白病如阿尔茨海默病的临床候选物。

[0520] 实施例5示例性CDR

[0521] 本发明抗体的示例性CDR在表6中。

[0522] 表6:示例性CDR

[0523]

CDR 和定义	CDR 氨基酸序列	SEQ ID NO:	示例性 VH 或 VL, CDR 存在于
Kabat/Chothia HCDR1	GFNIKDYLLH	8	小鼠 3D6 VH
Kabat HCDR2	WIDPENGDTVYDPKFQG	9	小鼠 3D6 VH
Kabat HCDR3:	LDF	10	小鼠 3D6 VH
Kabat LCDR1	KSSQSLLDSGKTYLN	12	小鼠 3D6 VL

[0524]

CDR 和定义	CDR 氨基酸序列	SEQ ID NO:	示例性 VH 或 VL, CDR 存在于
Kabat LCDR2	LVSKLDS	13	小鼠 3D6 VL
Kabat LCDR3:	WQGTHFPYT	14	小鼠 3D6 VL
CDR-H1 Kabat	DYYLH	32	小鼠 3D6 VH
CDR-H1 Chothia	GFNIKDY	33	小鼠 3D6 VH
CDR-H2 Chothia	DPENG	34	小鼠 3D6 VH
CDR-H2 AbM	WIDPENGDTV	35	小鼠 3D6 VH
CDR-L1 Contact	KTYLNWL	36	小鼠 3D6 VL
CDR-L2 Contact	RLIYLVSKLD	37	小鼠 3D6 VL
CDR-L3 Contact	WQGTHFPY	38	小鼠 3D6 VL
CDR-H1 Contact	KDYYLH	39	小鼠 3D6 VH
CDR-H2 Contact	WIGWIDPENGDTV	40	小鼠 3D6 VH
CDR-H3 Contact	STLD	41	小鼠 3D6 VH
Kabat-Chothia CDR-H1	GFTIKDYYLH	42	hu3D6VHv5, hu3D6VHv1bA11B6G2, hu3D6VHv1bA11B6H3, hu3D6VHv1c 和 hu3D6VHv1f
Kabat CDR-H2	WIDPEDGDTVYAPKFQG	43	hu3D6VHv5 和 hu3D6VHv1bA11B6H3
Kabat-Chothia CDR-H1	GFNFKDYYLH	58	hu3D6VH1c
Kabat-Chothia CDR-H1	GYTFTDYYLH	59	hu3D6VHv1d, hu3D6VHv3c 和 hu3D6VHv4c
Kabat-Chothia CDR-H1	GYNFKDYYLH	60	hu3D6VHv3b 和 hu3D6VHv4b
Kabat CDR-H2	WVDPEDGDTVYAPKFQG	61	hu3D6VHv1bA11B6G2
Kabat CDR-H2	WIDPENGDTVYDEKFQG	62	hu3D6VHv1c, hu3D6VHv3b 和 hu3D6VHv4b
Kabat CDR-H2	WVDPEDGDTVYAEKFQG	63	hu3D6VHv1d, hu3D6VHv1f, hu3D6VHv3c 和 hu3D6VHv4c

[0525]

CDR 和定义	CDR 氨基酸序列	SEQ ID NO:	示例性 VH 或 VL, CDR 存在于
Kabat CDR-H2	WIDPENGDTVYAEKFQG	64	hu3D6VHv1e
Kabat CDR-H3	LDY	65	hu3D6VHv1f
Kabat/Chothia 复合物 CDR-H1	GLNIKDYIYH	67	小鼠 6A10 VH
Kabat CDR-H2	WIDPENDDTEYAPKFQG	68	小鼠 6A10 VH
Kabat CDR-H3	LDY	69	小鼠 6A10 VH
Kabat-Chothia 复合物 CDR-H1	GFTIKDYIYLH	86	hu3D6VHvb4 和 hu3D6VHvb5
Kabat CDR-H2	WIDPENGDTIYDPKFQG	87	hu3D6VHvb3 和 hu3D6VHvb4
Kabat CDR-H2	WIDPEDGETIYDPKFQG	88	hu3D6VHvb5
Kabat CDR-L1	RSSQSLLDSDGKTYLN	89	hu3D6VLv3
Kabat CDR-H2	WIDPEDGETVYDPKFQG	92	hu3D6VHvb6 和 hu3D6VHvb7
Kabat CDR-H2	WIDPENGDTVYEPKFQG	149	h3D6VHvb8 和 h3D6VHvb9
Kabat CDR-L2	LVSKEEDS	150	hu3D6VLv2 L54D 和 hu3D6VLv2 L37Q L54D
Kabat CDR-L2	LVSKEGDS	151	hu3D6VLv2 L54G 和 hu3D6VLv2 L37Q L54G
Kabat CDR-L2	LVSKEKDS	152	hu3D6VLv2 L54N
Kabat CDR-L2	LVSKEEDS	153	hu3D6VLv2 L54E 和 hu3D6VLv2 L37Q L54E
Kabat CDR-L2	EVSKLDS	154	hu3D6VLv2 L50E
Kabat CDR-L2	LVSKEQDS	155	hu3D6VLv2 L54Q
Kabat CDR-L2	DVSKLDS	156	hu3D6VLv2 L50D 和 hu3D6VLv2 L37Q L50D
Kabat CDR-L2	LVSKEKDS	157	hu3D6VLv2 L54K
Kabat CDR-L2	LVSKEKDS	158	hu3D6VLv2 L54R 和 hu3D6VLv2 L37Q L54R
Kabat CDR-L2	LVSKEKDS	159	hu3D6VLv2 L54T 和 hu3D6VLv2 L37Q L54T
Kabat CDR-L2	GVSKLDS	160	hu3D6VLv2 L50G 和 hu3D6VLv2 L37Q L50G
Kabat CDR-L2	LVSKEVDS	161	hu3D6VLv2 L54V
Kabat CDR-L2	LVSKEKDS	162	hu3D6VLv2 L54S
Kabat CDR-L2	LVSKEKDS	163	hu3D6VLv2 S52G 和 hu3D6VLv2 L37Q S52G
Kabat CDR-L2	VVSKLDS	164	hu3D6VLv2 L50V

[0526]

CDR 和定义	CDR 氨基酸序列	SEQ ID NO:	示例性 VH 或 VL, CDR 存在于
Kabat CDR-L2	GVSKRDS	165	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R 和 hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100 Q
Kabat CDR-L2	GVSKGDS	166	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G 和 hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100 Q
Kabat CDR-L2	LVGKGDS	167	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G
Kabat CDR-L2	LVGKRDS	168	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R 和 hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100 Q
Kabat CDR-L2	LVGKTDS	169	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T
Kabat CDR-L2	LVGKDDS	170	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D 和 hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100 Q
Kabat CDR-L2	DVSKGDS	171	hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G 和 hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100 Q 中
Kabat CDR-L2	DVSKRDS	172	hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R 和 hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100 Q
Kabat CDR-L2	EVSKGDS	173	hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G
Kabat CDR-L2	EVSKRDS	174	hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R
Kabat CDR-L2	VVSKDDS	175	hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100 Q

[0527] 序列表P10636-8(SEQ ID NO:1)

[0528] MAEPRQEFEVMEHDAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQTPTEDGSEEPGSETSDAKST
PTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAPHTEIPEGTTAEEAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGAD
GKTKIATPRGAAPPQKQGANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRRTPLPTPTREP
KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQI INKKLDLSNVQSKCGSKDN IKHV
PGGGSVQIVYKPV DLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEK LDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLT

FRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLAKQGL

[0529] P10636-7 (SEQ ID NO:2)

[0530] MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQTPTEDGSEEPGSETSDAKST
PTAEAE EAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQQKGQANATRIPAKT
PPAPKTPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLTPPTREP KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPD
LKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQI INKKLDLSNVQSKCGSKDN IKHVPGGGSVQIVYKPV DLSKVTSKCGSLGNIH
HKPGGGQVEVKSEKLD FKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLT FRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL
HLSNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLAKQGL

[0531] P10636-6 (4RON人 tau) (SEQ ID NO:3)

[0532] MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKAE EAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARM
VSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQQKGQANATRIPAKT PPAPKTPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPG
TPGSRSRTPSLTPPTREP KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDLKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQI INKK
LDLSNVQSKCGSKDN IKHVPGGGSVQIVYKPV DLSKVTSKCGSLGNIH HKPGGGQVEVKSEKLD FKDRVQSKIGSLD
NITHVPGGGNKKIETHKLT FRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEV SAS
LAKQGL

[0533] P10636-5 (SEQ ID NO:4)

[0534] MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQTPTEDGSEEPGSETSDAKST
PTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTEIPEGTTAE EAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGAD
GKTKIATPRGAAPPQQKGQANATRIPAKT PPAPKTPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLTPPTREP
KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDLKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQIVYKPV DLSKVTSKCGSLGNIH HK
PGGGQVEVKSEKLD FKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLT FRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL
SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLAKQGL

[0535] P10636-4 (SEQ ID NO:5)

[0536] MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQTPTEDGSEEPGSETSDAKST
PTAEAE EAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQQKGQANATRIPAKT
PPAPKTPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLTPPTREP KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPD
LKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQIVYKPV DLSKVTSKCGSLGNIH HKPGGGQVEVKSEKLD FKDRVQSKIGSLDNI
THVPGGGNKKIETHKLT FRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLA
KQGL

[0537] P10636-2 (SEQ ID NO:6)

[0538] MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKAE EAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARM
VSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQQKGQANATRIPAKT PPAPKTPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPG
TPGSRSRTPSLTPPTREP KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDLKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQIVYKP
VDLSKVTSKCGSLGNIH HKPGGGQVEVKSEKLD FKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLT FRENAKAKTDHG
AEIVYKSPVVSGDTSRHL SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLAKQGL

[0539] SEQ ID NO:7; 鼠3D6 VH氨基酸序列:

[0540] EVQLQQSGADLVRPGALVKLSCKASGFNIKDY LHWVRQRPEQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQ GKAT
ITADTSSNTAYLQLGSLTSED TAVYFCSTLDFWQG GTTLTVSS

[0541] SEQ ID NO:8; Kabat/Chothia HCDR1:

- [0542] GFNIKDYLLH
- [0543] SEQ ID NO:9;Kabat HCDR2:
- [0544] WIDPENGDTVYDPKFQG
- [0545] SEQ ID NO:10;Kabat HCDR3:
- [0546] LDF
- [0547] SEQ ID NO:11;鼠3D6 VL氨基酸序列:
- [0548] DVVMTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0549] SEQ ID NO:12;鼠Kabat LCDR1:
- [0550] KSSQSLLDSDGKTYLN
- [0551] SEQ ID NO:13;鼠Kabat LCDR2:
- [0552] LVSKLDS
- [0553] SEQ ID NO:14;鼠Kabat LCDR3:
- [0554] WQGTHFPYT
- [0555] SEQ ID NO:15;hu3D6VHv1:
- [0556] EVQLVQSGAEVVRPGALVKVSKASGFNIKDYLLHWVRQAPEQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGGKAT
ITADTSTNTAYLQLSSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLVTVSS
- [0557] SEQ ID NO:16;hu3D6VHv2:
- [0558] EVQLVQSGAEVVKPGASVKVSKVSGFNKDYYLHWVRQAPEQGLEWMGWIDPENGDTVYDPKFQGRVT
ITADTSTNTAYMELSSLTSEDVAVYYCSTLDFWGQGTLLVTVSS
- [0559] SEQ ID NO:17;hu3D6VHv1b:
- [0560] EVQLVQSGAEVVRPGALVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPEQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGGKAT
ITADTSTNTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLVTVSS
- [0561] SEQ ID NO:18;hu3D6VHv1bA11:
- [0562] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGRAT
ITADTSTDYAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLVTVSS
- [0563] SEQ ID NO:19;hu3D6VHv5:
- [0564] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPEDGDTVYAPKFQGRAT
ITADTSTDYAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLVTVSS
- [0565] SEQ ID NO:20;hu3D6VLv1:
- [0566] DVVMTQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0567] SEQ ID NO:21;hu3D6VLv2:
- [0568] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRILIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0569] SEQ ID NO:22;hu3D6VLv3:
- [0570] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRILIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0571] SEQ ID NO:23;hu3D6VLv4:

- [0572] DIVMTQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNLWLLQKPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0573] SEQ ID NO:24;重链可变受体登录号BAC01986.1
- [0574] QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFGSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIATYAQKFQGRVT
ITADKSTSTAYMDLSSLRSEDVAVYYCARGKGEFEGMDVWGQGTITVTVSS
- [0575] SEQ ID NO:25;重链可变受体登录号IMGT#IGHV1-69-2*01
- [0576] EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHVWQQAPGKGLEWMGLVDPEDGETIYAEKFQGRVT
ITADTSTDYAMELSSLRSEDVAVYYCAT
- [0577] SEQ ID NO:26;重链可变受体登录号IMGT#IGKJ1*01
- [0578] QHWGQGLTVTVSS
- [0579] SEQ ID NO:27;轻链可变受体登录号IMGT#IGKV2-30*02登录号IMGT#IGKV2-30*02
- [0580] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTWHP
- [0581] SEQ ID NO:28;轻链可变受体登录号IMGT#IGKJ2*01
- [0582] YTFGQGTKLEIK
- [0583] SEQ ID NO:29;轻链可变受体登录号AAZ09048.1
- [0584] DVVMTQSPLSLTVTLGQPASISCRSSQSLVSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYRVSHWDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTWPLTFGQGTKLEIK
- [0585] SEQ ID NO:30;鼠3D6 VH核酸序列:
- [0586] GAGGTTCACTGCAGCAGTCTGGGGCTGACCTTGTGAGGCCAGGGCCCTAGTCAAGTTGTCCTGCAAA
GCTTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATTTGCACTGGGTGAGGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGG
ATGGATTGATCCTGAGAATGGTGATACTGTATATGACCCGAAGTTCAGGGCAAGGCCACTATAACAGCAGACACAT
CCTCCAATACAGCCTACCTGCAGCTCGGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTTCTGTTCTACCCTTGAC
TTCTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
- [0587] SEQ ID NO:31;鼠3D6 VL核酸序列:
- [0588] GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTTGTCGGTTACCATTGGACAACCAGCCTCCATCTCTTGC
AAGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAAGACATATTTGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCC
AAAGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAG
ATTTCACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGTACACATTTTCCG
TACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAACGT
- [0589] SEQ ID NO:32;鼠CDR-H1 Kabat
- [0590] DYYLH
- [0591] SEQ ID NO:33;鼠CDR-H1 Chothia
- [0592] GFNIKDY
- [0593] SEQ ID NO:34;鼠CDR-H2 Chothia
- [0594] DPENGD
- [0595] SEQ ID NO:35;鼠CDR-H2 AbM
- [0596] WIDPENGDTV
- [0597] SEQ ID NO:36;鼠CDR-L1 Contact

- [0598] KTYLNWL
- [0599] SEQ ID NO:37;鼠CDR-L2 Contact
- [0600] RLIYLVSKLD
- [0601] SEQ ID NO:38;鼠CDR-L3 Contact
- [0602] WQGTHFPY
- [0603] SEQ ID NO:39;鼠CDR-H1 Contact
- [0604] KDYYLH
- [0605] SEQ ID NO:40;鼠CDR-H2 Contact
- [0606] WIGWIDPENGDTV
- [0607] SEQ ID NO:41;鼠CDR-H3 Contact
- [0608] STLD
- [0609] SEQ ID NO:42;另选的Kabat-Chothia CDR-H1
- [0610] GFTIKDYYLH
- [0611] SEQ ID NO:43;另选的Kabat CDR-H2
- [0612] WIDPEDGDTVYAPKFQG
- [0613] SEQ ID NO:44;来自PCT/IB2017/052544的图2的共有VH氨基酸序列
- [0614] EVQLVQSGAEVVPKPGALVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPEQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGXAT
ITADTSTNTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS
- [0615] SEQ ID NO:45;PCT/IB2017/052544的图3的共有VL氨基酸序列
- [0616] DVVMTQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNLWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIKR
- [0617] SEQ ID NO:46;hu3D6VHv1bA11B6G2:
- [0618] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPKGLEWIGWDPEDGDTVYAPKFQGRAT
ITADTSTDYALELGLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS
- [0619] SEQ ID NO:47;hu3D6VHv1bA11B6H3:
- [0620] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPKGLEWIGWIDPEDGDTVYAPKFQGRAT
ITADTSTDYALELGLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS
- [0621] SEQ ID NO:48;hu3D6VHv1c:
- [0622] EVQLVQSGAEVKRPGALVKISCKASGFNFKDYLLHWVRQRPEQGLEWMGWIDPENGDTVYDEKFQGRVT
ITADTSTNTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS
- [0623] SEQ ID NO:49;hu3D6VHv1d:
- [0624] EVQLVQSGAEVKRPGALVKISCKASGYTFTDYLLHWVRQRPEQGLEWMGWDPEDGDTVYAEKFQGRVT
ITADTSTNTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS
- [0625] SEQ ID NO:50;hu3D6VHv1e:
- [0626] EVQLVQSGADVVKPGALVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPEQGLEWIGWIDPENGDTVYAEKFQGRV
TITADTSTNTAYLeLGLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS
- [0627] SEQ ID NO:51;hu3D6VHv1f:
- [0628] EVQLVQSGADVVKPGALVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPQGLEWIGWDPEDGDTVYAEKFQGRVT
ITADTSTDYAMELGLTSEDVAVYFCSTLDYWGQGTLLTVSS

- [0629] SEQ ID NO:52;hu3D6VHv3:
[0630] EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNIKDYLLHWVRQAPGKGLEWMGWIDPENGDTVYDPKFQGRVT
ITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCSTLDFWGQGTLLTVSS
[0631] SEQ ID NO:53;hu3D6VHv3b:
[0632] EVQLVQSGAEVKKPGALVKISCKVSGYNFKDYLLHWVRQAPGKGLEWMGWIDPENGDTVYDEKFQGRVT
ITADTSTNTAYMELGSLRSEDVAVYYCSTLDFWGQGTLLTVSS
[0633] SEQ ID NO:54;hu3D6VHv3c:
[0634] EVQLVQSGAEVKKPGALVKISCKVSGYTFTDYLLHWVRQAPGKGLEWMGWDPEDGDTVYAEKFQGRVT
ITADTSTNTAYMELGSLRSEDVAVYYCSTLDFWGQGTLLTVSS
[0635] SEQ ID NO:55;hu3D6VHv4:
[0636] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKVSGFNIKDYLLHWVRQRPKGKLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGKAT
ITADTSTNTAYLELGSLTSEDVAVYYCSTLDFWGQGTLLTVSS
[0637] SEQ ID NO:56;hu3D6VHv4b:
[0638] EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKVSGYNFKDYLLHWVRQRPKGKLEWMGWIDPENGDTVYDEKFQGRVT
ITADTSTDTAYLELGSLTSEDVAVYYCSTLDFWGQGTLLTVSS
[0639] SEQ ID NO:57;hu3D6VHv4c:
[0640] EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKVSGYTFTDYLLHWVRQRPKGKLEWMGWDPEDGDTVYAEKFQGRVT
ITADTSTDTAYLELGSLTSEDVAVYYCSTLDFWGQGTLLTVSS
[0641] SEQ ID NO:58;另选的Kabat-Chothia CDR-H1 (如在hu3D6VH1c中)。
[0642] GFNFKDYLLH
[0643] SEQ ID NO:59;另选的Kabat-Chothia CDR-H1, (如在hu3D6VHv1d、hu3D6VHv3c和
hu3D6VHv4c中)。
[0644] GTFTDYLLH
[0645] SEQ ID NO:60;另选的Kabat-Chothia CDR-H1 (如在hu3D6VHv3b和hu3D6VHv4b中)
[0646] GYNFKDYLLH
[0647] SEQ ID NO:61;另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHv1bA11B6G2中)。
[0648] WDPEDGDTVYAPKFQG
[0649] SEQ ID NO:62,另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHv1c、hu3D6VHv3b和hu3D6VHv4b
中)。
[0650] WIDPENGDTVYDEKFQG
[0651] SEQ ID NO:63;另选的Kabat CDR-H2如在hu3D6VHv1d、hu3D6VHv1f、hu3D6VHv3c和
hu3D6VHv4c中)。
[0652] WDPEDGDTVYAEKFQG
[0653] SEQ ID NO:64;另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHv1e中)。
[0654] WIDPENGDTVYAEKFQG
[0655] SEQ ID NO:65;另选的Kabat CDR-H3 (如在hu3D6VHv1f中)
[0656] LDY
[0657] SEQ ID NO:66;小鼠6A10抗体的重链可变区。
[0658] EVQLQQSGAELVRSGASVKLSCTASGLNIKDYIIHWVKRPEQGLEWIGWIDPENDTEYAPKFQGRAT

LTTDTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCTPLDYWGQGSVTVSS

[0659] SEQ ID NO:67;小鼠6A10抗体的Kabat/Chothia复合物CDR-H1。

[0660] GLNIKDYYIH

[0661] SEQ ID NO:68;小鼠6A10抗体的Kabat CDR-H2。

[0662] WIDPENDDTEYAPKFQG

[0663] SEQ ID NO:69;小鼠6A10抗体的Kabat CDR-H3

[0664] LDY

[0665] SEQ ID NO:70;家鼠VH结构模板 (PDB#1CR9_H)

[0666] KVKLQQSGAELVRSGASVKLSCTASGFNIKDYIYQWVKRPEQGLEWIGWIDPENGNSEYAPRFQGGKAT

MTADTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCNADLHDYWGQGTTLTVSS

[0667] SEQ ID NO:71;来自PCT/IB2017/052544的图4A和4B的共有VH氨基酸序列

[0668] EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKASGFNIKDYILHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGRVT

ITADTSTNTAYLELGLSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTTLTVTVSS

[0669] SEQ ID NO:72;嵌合3D6抗体的重链

[0670] EVQLQQSGADLVRPGALVKLSCKASGFNIKDYILHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGGKAT

ITADTSSNTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP

EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTCP

CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE

SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0671] SEQ ID NO:73;嵌合3D6抗体的轻链

[0672] DVVMTQTPLTSLVTHGQSPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTG

SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGFTHFPYTFGGGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP

REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0673] SEQ ID NO:74;重链可变结构模型登录号5MYX-VH_mSt的氨基酸序列

[0674] EVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYIFNNYWINWVKRPGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGKAT

LTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYIVYWGQGTTLTVSA

[0675] SEQ ID NO:75;重链可变受体登录号2RCS-VH_huFrwk的氨基酸序列

[0676] QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHVVKRPEQGLEWIGRIDPANGNTKYDPKFQGGKAT

ITADTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCASYGIIYWGQGTTLTVSS

[0677] SEQ ID NO:76;人源化3D6抗体hu3D6VHvb1的重链可变区的氨基酸序列

[0678] QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYILHWVKRPEQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGGKAT

ITADTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTTLTVSS

[0679] SEQ ID NO:77;人源化3D6抗体hu3D6VHvb2的重链可变区的氨基酸序列

[0680] EVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGFNIKDYILHWVRQRPKGQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGRAT

ITADTSTDYALELSSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTTLTVSS

[0681] SEQ ID NO:78;人源化3D6抗体hu3D6VHvb3的重链可变区的氨基酸序列

[0682] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYILHWVRQRPKGQGLEWIGWIDPENGDTIYDPKFQGRAT

ITADTSTDYAMELSSLRSEDVAVYYCSTLDFWGQGTTLTVSS

- [0683] SEQ ID NO:79;人源化3D6抗体hu3D6VHvb4的重链可变区的氨基酸序列
- [0684] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYILHWVRQRPKGKLEWIGWIDPENGDTIYDPKFQGRVT
ITADTSTD TAYMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQGT LVT VSS
- [0685] SEQ ID NO:80;人源化3D6抗体hu3D6VHvb5的重链可变区的氨基酸序列
- [0686] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYILHWVRQRPKGKLEWIGWIDPEDGETIYDPKFQGRVT
ITADTSTD TAYMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQGT LVT VSS
- [0687] SEQ ID NO:81;轻链可变结构模型登录号5MYX-VL_mSt的氨基酸序列
- [0688] DVVLTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYVVS KLDSGVPDRFTG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQGTHFPFTFGSGTKLEIK
- [0689] SEQ ID NO:82;轻链可变受体登录号ARX71335-VL_huFrwk的氨基酸序列
- [0690] DVVMTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVHYCEQGTHFPLTFGAGTKLELK
- [0691] SEQ ID NO:83;人源化3D6抗体hu3D6VLvb1的轻链可变区的氨基酸序列
- [0692] DVVMTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVHYCWQGTHFPYTFGAGTKLELK
- [0693] SEQ ID NO:84;人源化3D6抗体hu3D6VLvb2的轻链可变区的氨基酸序列
- [0694] DVVMTQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGAGTKLEIK
- [0695] SEQ ID NO:85;人源化3D6抗体hu3D6VLvb3的轻链可变区的氨基酸序列
- [0696] DVVMTQSPLSLSVTLGEPASISCRSSQSLLSDSGKTYLNWLQRPQGSPRRILIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGT KLEIK
- [0697] SEQ ID NO:86;人源化3D6抗体的另选的Kabat-Chothia复合物CDR-H1 (如在hu3D6VHvb4和hu3D6VHvb5中)的氨基酸序列
- [0698] GFTIKDYILH
- [0699] SEQ ID NO:87;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHvb3和hu3D6VHvb4中)的氨基酸序列
- [0700] WIDPENGDTIYDPKFQG
- [0701] SEQ ID NO:88;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHvb5中)的氨基酸序列
- [0702] WIDPEDGETIYDPKFQG
- [0703] SEQ ID NO:89;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L1 (如在hu3D6VLvb3中)的氨基酸序列
- [0704] RSSQSLLSDSGKTYLN
- [0705] SEQ ID NO:90;人源化3D6抗体hu3D6VHvb6的重链可变区的氨基酸序列
- [0706] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYILHWVRQRPKGKLEWIGWIDPEDGETVYDPKFQGRVT
ITADTSTD TAYMELSSLRSEDTAVYFCSTLDFWGQGT LVT VSS
- [0707] SEQ ID NO:91;人源化3D6抗体hu3D6VHvb7的重链可变区的氨基酸序列
- [0708] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYILHWVRQRPKGKLEWIGWIDPEDGETVYDPKFQGRVT
ITADTSTD TAYMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQGT LVT VSS

- [0709] SEQ ID NO:92;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在hu3D6VHvb6和hu3D6VHvb7中)的氨基酸序列
- [0710] WIDPEDGETVYDPKFQG
- [0711] SEQ ID NO:93;hu3D6VLv2变体L54D的轻链可变区,也称为L2-DIM21
- [0712] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0713] SEQ ID NO:94;hu3D6VLv2变体L54G的轻链可变区,也称为L2-DIM7
- [0714] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0715] SEQ ID NO:95;hu3D6VLv2变体L45N的轻链可变区
- [0716] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKNDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0717] SEQ ID NO:96;hu3D6VLv2变体L54E的轻链可变区
- [0718] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKEDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0719] SEQ ID NO:97;hu3D6VLv2变体L50E的轻链可变区
- [0720] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYEVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0721] SEQ ID NO:98;hu3D6VLv2变体L54Q的轻链可变区
- [0722] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKQDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0723] SEQ ID NO:99;hu3D6VLv2变体L50D的轻链可变区
- [0724] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYDVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0725] SEQ ID NO:100;hu3D6VLv2变体L54K的轻链可变区
- [0726] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKKDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0727] SEQ ID NO:101;hu3D6VLv2变体L54R的轻链可变区
- [0728] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0729] SEQ ID NO:102;hu3D6VLv2变体L54T的轻链可变区
- [0730] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKTDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0731] SEQ ID NO:103;hu3D6VLv2变体L50G的轻链可变区,也称为L2-DIM22
- [0732] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYGVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK
- [0733] SEQ ID NO:104;hu3D6VLv2变体I48G的轻链可变区
- [0734] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLGYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTFFPYTFGGGTKLEIK

- [0735] SEQ ID NO:105;hu3D6VLv2变体I48D的轻链可变区
- [0736] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLDYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0737] SEQ ID NO:106;hu3D6VLv2变体L47G的轻链可变区
- [0738] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRGIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0739] SEQ ID NO:107;hu3D6VLv2变体Y49E的轻链可变区
- [0740] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRRIELVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0741] SEQ ID NO:108;hu3D6VLv2变体L54V的轻链可变区
- [0742] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKVDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0743] SEQ ID NO:109;hu3D6VLv2变体L54S的轻链可变区
- [0744] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKSDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0745] SEQ ID NO:110;hu3D6VLv2变体S52G的轻链可变区,也称为L2-DIM9
- [0746] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVGKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0747] SEQ ID NO:111;hu3D6VLv2变体L47N的轻链可变区
- [0748] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRNIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0749] SEQ ID NO:112;hu3D6VLv2变体L47D的轻链可变区
- [0750] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRDIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0751] SEQ ID NO:113;hu3D6VLv2变体L47E的轻链可变区
- [0752] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRREIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0753] SEQ ID NO:114;hu3D6VLv2变体L47P的轻链可变区
- [0754] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRPIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0755] SEQ ID NO:115;hu3D6VLv2变体L47T的轻链可变区
- [0756] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRTIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0757] SEQ ID NO:116;hu3D6VLv2变体L47S的轻链可变区
- [0758] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRSIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
- [0759] SEQ ID NO:117;u3D6VLv2变体L47A的轻链可变区
- [0760] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRAIYLVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

- [0761] SEQ ID NO:118;hu3D6VLv2变体L50V的轻链可变区
- [0762] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYVVS KLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0763] SEQ ID NO:119;hu3D6VLv2变体L37Q_L50G_L54R的轻链可变区,也称为L2-DIM1
- [0764] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYGVSKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0765] SEQ ID NO:120;hu3D6VLv2变体L37Q_L50G_L54G的轻链可变区,也称为L2-DIM2
- [0766] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYEVSKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0767] SEQ ID NO:121;hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54G的轻链可变区,也称为L2-DIM3
- [0768] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYLVGKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0769] SEQ ID NO:122;hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R的轻链可变区,也称为L2-DIM4
- [0770] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYLVGKRDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0771] SEQ ID NO:123;hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54T的轻链可变区,也称为L2-DIM5
- [0772] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYLVGKTD SGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0773] SEQ ID NO:124;hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54D的轻链可变区,也称为L2-DIM6
- [0774] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYLVGKDD SGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0775] SEQ ID NO:125;hu3D6VLv2变体L37Q_L54R的轻链可变区
- [0776] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYLVSKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0777] SEQ ID NO:126;hu3D6VLv2变体L37Q_L54G的轻链可变区
- [0778] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYLVSKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0779] SEQ ID NO:127;hu3D6VLv2变体L37Q_L54D的轻链可变区,也称为L2-DIM12
- [0780] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYLVSKDD SGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0781] SEQ ID NO:128;hu3D6VLv2变体L37Q_L50G的轻链可变区,也称为L2-DIM13
- [0782] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYGVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0783] SEQ ID NO:129;hu3D6VLv2变体L37Q_L50D的轻链可变区,也称为L2-DIM14
- [0784] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYDVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0785] SEQ ID NO:130;hu3D6VLv2变体L37Q_L54T的轻链可变区
- [0786] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNLQRPQGQSPRRLIYDVSKLDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK

- [0787] SEQ ID NO:131;hu3D6VLv2变体L37Q_S52G的轻链可变区
- [0788] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLVGKLD SGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0789] SEQ ID NO:132;hu3D6VLv2变体L37Q_L50D_L54G的轻链可变区,也称为L2-DIM17
- [0790] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYDVSKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0791] SEQ ID NO:133;hu3D6VLv2变体L37Q_L50D_L54R的轻链可变区,也称为L2-DIM18
- [0792] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYDVSKRDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0793] SEQ ID NO:134;hu3D6VLv2变体L37Q_L50E_L54G的轻链可变区,也称为L2-DIM19
- [0794] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYEVSKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0795] SEQ ID NO:135;hu3D6VLv2变体L37Q_L50E_L54R的轻链可变区,也称为L2-DIM20
- [0796] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYEVSKRDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0797] SEQ ID NO:136;hu3D6VLv2变体L37Q_L50G_L54R_G100Q的轻链可变区
- [0798] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYGVSKRDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0799] SEQ ID NO:137;hu3D6VLv2变体L37Q_L50G_L54G_G100Q的轻链可变区
- [0800] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYGVSKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0801] SEQ ID NO:138;hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R_G100Q的轻链可变区
- [0802] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLVGKRDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0803] SEQ ID NO:139;hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54D_G100Q的轻链可变区
- [0804] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLVGKDDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0805] SEQ ID NO:140;hu3D6VLv2变体L37Q_L50D_L54G_G100Q的轻链可变区
- [0806] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYDVSKGDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0807] SEQ ID NO:141;hu3D6VLv2变体L37Q_L50D_L54R_G100Q的轻链可变区
- [0808] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYDVSKRDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0809] SEQ ID NO:142;hu3D6VLv2变体L37Q_L50V_L54D_G100Q的轻链可变区
- [0810] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYVVS KDDSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK
- [0811] SEQ ID NO:143;hu3D6VLv2变体L37Q的轻链可变区,也称为L2-DIM8
- [0812] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLD SGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG TKLEIK

- [0813] SEQ ID NO:144hu3D6VLv2变体G100Q的轻链可变区
- [0814] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTHFPYTFGGTKLEIK
- [0815] SEQ ID NO:145hu3D6VLv2变体L37Q_L54E的轻链可变区
- [0816] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPRRLIYLVSKEDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTHFPYTFGGTKLEIK
- [0817] SEQ ID NO:146;hu3D6VHv1bA11变体D60E的重链可变区,也称为h3D6VHvb8
- [0818] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYHLHWVRQRPQGQLEWIGWIDPENGDTVYEPKFQGRATITADTSTDYAYLQLGSLTSEDYAVYFCSTLDFWGQGTLLTVTVSS
- [0819] SEQ ID NO:147hu3D6VHv1bA11变体L82cV的重链可变区
- [0820] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYHLHWVRQRPQGQLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGRATITADTSTDYAYLQLGSVTSSEDYAVYFCSTLDFWGQGTLLTVTVSS
- [0821] SEQ ID NO:148;hu3D6VHv1bA11变体D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R的重链可变区,也称为h3D6VHvb9
- [0822] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYHLHWVRQRPQGQLEWIGWIDPENGDTVYEPKFQGRATITADTSTDYAYMELGSRSEDTAVYFCSTLDFWGQGTLLTVTVSS
- [0823] SEQ ID NO:149;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-H2 (如在h3D6VHvb8和h3D6VHvb9中)的氨基酸序列
- [0824] WIDPENGDTVYEPKFQGG
- [0825] SEQ ID NO:150;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54D和hu3D6VLv2 L37Q_L54D中)的氨基酸序列:
- [0826] LVSKDDS
- [0827] SEQ ID NO:151;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54G和hu3D6VLv2 L37Q_L54G中)的氨基酸序列:
- [0828] LVSKGDS
- [0829] SEQ ID NO:152;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54N中)的氨基酸序列:
- [0830] LVSKNDS
- [0831] SEQ ID NO:153;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54E和hu3D6VLv2 L37Q_L54E中)的氨基酸序列:
- [0832] LVSKEDS
- [0833] SEQ ID NO:154;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L50E中)的氨基酸序列:
- [0834] EVSKLDS
- [0835] SEQ ID NO:155;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54Q中)的氨基酸序列:
- [0836] LVSKQDS
- [0837] SEQ ID NO:156;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L50D和hu3D6VLv2 L37Q_L50D中)的氨基酸序列:

[0838] DVSKLDS

[0839] SEQ ID NO:157;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54K中)的氨基酸序列:

[0840] LVSKKDS

[0841] SEQ ID NO:158;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54R和hu3D6VLv2 L37Q_L54R中)的氨基酸序列:

[0842] LVSKRDS

[0843] SEQ ID NO:159;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54T和hu3D6VLv2 L37Q_L54T中)的氨基酸序列:

[0844] LVSKTDS

[0845] SEQ ID NO:160;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L50G和hu3D6VLv2 L37Q_L50G中)的氨基酸序列:

[0846] GVSKLDS

[0847] SEQ ID NO:161;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54V中)的氨基酸序列:

[0848] LVSKVDS

[0849] SEQ ID NO:162;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L54S中)的氨基酸序列:

[0850] LVSKSDS

[0851] SEQ ID NO:163;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 S52G和hu3D6VLv2 L37Q_S52G中)的氨基酸序列:

[0852] LVGKLDS

[0853] SEQ ID NO:164;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L50V中)的氨基酸序列:

[0854] VVSKLDS

[0855] SEQ ID NO:165;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R和hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q中)的氨基酸序列:

[0856] GVSKRDS

[0857] SEQ ID NO:166;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G和hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q中)的氨基酸序列:

[0858] GVSKGDS

[0859] SEQ ID NO:167;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G中)的氨基酸序列:

[0860] LVGKGDS

[0861] SEQ ID NO:168;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R和hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q中)的氨基酸序列:

[0862] LVGKRDS

[0863] SEQ ID NO:169;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T中)的氨基酸序列:

[0864] LVGKTDS

[0865] SEQ ID NO:170;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D和hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q中)的氨基酸序列:

[0866] LVGKDDS

[0867] SEQ ID NO:171;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G和hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q中)的氨基酸序列:

[0868] DVSKGDS

[0869] SEQ ID NO:172;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R和hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q中)的氨基酸序列:

[0870] DVSKRDS

[0871] SEQ ID NO:173;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G中)的氨基酸序列:

[0872] EVSKGDS

[0873] SEQ ID NO:174;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R中)的氨基酸序列:

[0874] EVSKRDS

[0875] SEQ ID NO:175;人源化3D6抗体的另选的Kabat CDR-L2 (如在hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q中)的氨基酸序列:

[0876] VVSKDDS

[0877] SEQ ID NO:176;重链恒定区 (IgG1:同种异型G1m17,1)的氨基酸序列:

[0878] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0879] SEQ ID NO:177;轻链恒定区 (κ)的氨基酸序列:

[0880] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0881] SEQ ID NO:178;3D6人源化变体的成熟重链 (hu3D6VHv1bA11IgG1 G1m17同种异型)的氨基酸序列

[0882] EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYILHWVRQPGQGLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGRATITADTSTDTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0883] SEQ ID NO:179;3D6人源化变体的成熟轻链 (hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R,L2-DIM4κ)的氨基酸序列

[0884] DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLVGKRDSGVPDRFSG

SGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0885] SEQ ID NO:180;3D6人源化变体的重链(hu3D6VHv1bA11 IgG1

[0886] G1m17同种异型)的氨基酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽MMSFVSLLLVGI
LFHATQAEVQLVQSGAEVVKPGATVKISKASGFNIKDYHLHWVRQRPQGQLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGRATI
TADTSTDTAYLQLGSLTSED TAVYFCSTLDFWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPVLDSGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0887] SEQ ID NO:181;3D6人源化变体的轻链(hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R,L2-DIM4
 κ)的氨基酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽。

[0888] MMSFVSLLLVGILFHATQADVMTQSPLSLPVTILGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNLQQRPGQSPR
RLIYLVGKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

[0889] SEQ ID NO:182;编码3D6人源化变体的重链(hu3D6VHv1bA11IgG1 G1m17同种异
型)的核苷酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽

[0890] ATGATGTCCTTTGTCTCTCTGCTCCTGGTTGGCATCCTATTCCATGCCACCCAGGCCGAGGTGCAGCTG
GTGCAGTCTGGGGCAGAGGTTGTGAAGCCAGGGGCCACAGTCAAGATCTCCTGTAAGGCTTCTGGCTTCAACATTAA
AGACTACTATCTGCACTGGGTGCGGCAGAGGCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGGATTGATCCTGAGAATG
GTGATACTGTGTATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGGGCCACTATAACAGCAGACACATCCACCGACACAGCCTACCTG
CAGCTCGGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTTCTGTTCTACCCTGGACTTCTGGGGCCAAGGCACCCT
TGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTAGCAAGAGCACCTCTGGGG
GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTG
ACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCC
CTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGG
TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTC
TTCCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGACGT
GAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGA
GAGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG
GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC
CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGG
TCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACG
CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTCTATTCCAACTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG
GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCG
GGAAATGATGAGATCTCGAG

[0891] SEQ ID NO:183;编码3D6人源化变体的轻链(hu3D6VLv2变体L37Q_S52G_L54R,L2-
DIM4 κ)的核苷酸序列,在N末端具有牛 α -乳白蛋白信号肽

[0892] ATGATGTCCTTTGTCTCTCTGCTCCTGGTTGGCATCCTATTCCATGCCACCCAGGCCGATGTTGTGATG
ACCCAGTCTCCACTCTCTTTGCCCGTTACCCCTTGACAACCTGCCTCCATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTT
AGATAGTGATGGAAAGACATATTTGAATTGGTTGCAACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCACGGCGCCTAATCTATCTGG
TGGGCAAACGGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTACACTGAAAATCAGC
AGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGCACACATTTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGAC
CAAGCTGGAAATAAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGCTTAAGTCCG
GAACTGCTAGCGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCC
CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCT
GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCG
TCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAGTGAGATCTCGAG

[0893] SEQ ID NO:184;tau微管结合重复序列1的区域的氨基酸序列(SEQ ID NO:1的氨基酸残基255-271)

[0894] NVKSKIGSTENLKHQPG

[0895] SEQ ID NO:185;tau微管结合重复序列2的区域的氨基酸序列(SEQ ID NO:1的氨基酸残基286-302)

[0896] NVQSKCGSKDNIKHVPG

[0897] SEQ ID NO:186;tau微管结合重复序列3的区域的氨基酸序列(SEQ ID NO:1的氨基酸残基317-333)

[0898] KVTSCGSLGNIHHKPG

[0899] SEQ ID NO:187;tau微管结合重复序列4的区域的氨基酸序列(SEQ ID NO:1的氨基酸残基349-365)

[0900] RVQSKIGSLDNITHVPG

[0901] SEQ ID NO:188;由3D6结合的tau的核心基序的氨基酸序列

[0902] KIGSTENLKH

[0903] SEQ ID NO:189;由3D6结合的tau的核心基序N末端的tau序列的氨基酸序列

[0904] NVKS

[0905] SEQ ID NO:190;由3D6结合的tau的核心基序C末端的tau序列的氨基酸序列

[0906] QPG

[0907] SEQ ID NO:191;3D6的表位的氨基酸序列

[0908] KXXSXXNX (K/H)H

[0909] SEQ ID NO:192;由3D6结合的tau的核心基序的氨基酸序列

[0910] KCGSKDNIKH

[0911] SEQ ID NO:193;由3D6结合的tau的核心基序的氨基酸序列

[0912] KCGSLGNIHH

[0913] SEQ ID NO:194;由3D6结合的tau的核心基序的氨基酸序列

[0914] KIGSLDNITH

序列表

<110> 普罗塞纳生物科学有限公司 (PROTHENA BIOSCIENCES LIMITED)

菲利普·詹姆斯三世·多兰 (DOLAN, PHILIP JAMES III)

<120> 使用识别TAU的抗体的方法

<130> 057450-574677

<150> US 63/149,359

<151> 2021-02-14

<160> 194

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 441

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1

```

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

```

Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser		
195	200	205
Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys		
210	215	220
Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys		
225	230	235
Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val		
245	250	255
Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly		
260	265	270
Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln		
275	280	285
Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly		
290	295	300
Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser		
305	310	315
Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln		
325	330	335
Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser		
340	345	350
Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn		
355	360	365
Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala		
370	375	380
Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser		
385	390	395
Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser		
405	410	415
Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val		
420	425	430
Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu		
435	440	
<210> 2		
<211> 412		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 2		
Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly		
1	5	10
		15

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

				325					330					335			
Gly	Gly	Asn	Lys	Lys	Ile	Glu	Thr	His	Lys	Leu	Thr	Phe	Arg	Glu	Asn		
				340					345					350			
Ala	Lys	Ala	Lys	Thr	Asp	His	Gly	Ala	Glu	Ile	Val	Tyr	Lys	Ser	Pro		
				355					360					365			
Val	Val	Ser	Gly	Asp	Thr	Ser	Pro	Arg	His	Leu	Ser	Asn	Val	Ser	Ser		
				370					375					380			
Thr	Gly	Ser	Ile	Asp	Met	Val	Asp	Ser	Pro	Gln	Leu	Ala	Thr	Leu	Ala		
385					390					395					400		
Asp	Glu	Val	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Lys	Gln	Gly	Leu						
				405						410							
<210> 3																	
<211> 383																	
<212> PRT																	
<213> 智人(Homo sapiens)																	
<400> 3																	
Met	Ala	Glu	Pro	Arg	Gln	Glu	Phe	Glu	Val	Met	Glu	Asp	His	Ala	Gly		
1				5					10					15			
Thr	Tyr	Gly	Leu	Gly	Asp	Arg	Lys	Asp	Gln	Gly	Gly	Tyr	Thr	Met	His		
				20					25					30			
Gln	Asp	Gln	Glu	Gly	Asp	Thr	Asp	Ala	Gly	Leu	Lys	Ala	Glu	Glu	Ala		
				35					40					45			
Gly	Ile	Gly	Asp	Thr	Pro	Ser	Leu	Glu	Asp	Glu	Ala	Ala	Gly	His	Val		
				50					55					60			
Thr	Gln	Ala	Arg	Met	Val	Ser	Lys	Ser	Lys	Asp	Gly	Thr	Gly	Ser	Asp		
65					70					75					80		
Asp	Lys	Lys	Ala	Lys	Gly	Ala	Asp	Gly	Lys	Thr	Lys	Ile	Ala	Thr	Pro		
				85					90					95			
Arg	Gly	Ala	Ala	Pro	Pro	Gly	Gln	Lys	Gly	Gln	Ala	Asn	Ala	Thr	Arg		
				100					105					110			
Ile	Pro	Ala	Lys	Thr	Pro	Pro	Ala	Pro	Lys	Thr	Pro	Pro	Ser	Ser	Gly		
				115					120					125			
Glu	Pro	Pro	Lys	Ser	Gly	Asp	Arg	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ser	Pro	Gly	Ser		
				130					135					140			
Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Ser	Arg	Ser	Arg	Thr	Pro	Ser	Leu	Pro	Thr	Pro		
145					150					155					160		
Pro	Thr	Arg	Glu	Pro	Lys	Lys	Val	Ala	Val	Val	Arg	Thr	Pro	Pro	Lys		
				165						170				175			
Ser	Pro	Ser	Ser	Ala	Lys	Ser	Arg	Leu	Gln	Thr	Ala	Pro	Val	Pro	Met		

180	185	190
Pro Asp Leu Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu		
195	200	205
Lys His Gln Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu		
210	215	220
Asp Leu Ser Asn Val Gln Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys		
225	230	235
His Val Pro Gly Gly Gly Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp		
245	250	255
Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His		
260	265	270
Lys Pro Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe		
275	280	285
Lys Asp Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His		
290	295	300
Val Pro Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe		
305	310	315
Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr		
325	330	335
Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn		
340	345	350
Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala		
355	360	365
Thr Leu Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu		
370	375	380
<210> 4		
<211> 410		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 4		
Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly		
1	5	10
Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His		
20	25	30
Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu		
35	40	45
Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser		
50	55	60
Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val		

65	70	75	80
Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu			
	85	90	95
Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro			
100	105	110	
Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val			
115	120	125	
Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly			
130	135	140	
Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro			
145	150	155	160
Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro			
165	170	175	
Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly			
180	185	190	
Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser			
195	200	205	
Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys			
210	215	220	
Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys			
225	230	235	240
Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val			
245	250	255	
Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly			
260	265	270	
Gly Lys Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr			
275	280	285	
Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly			
290	295	300	
Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln			
305	310	315	320
Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly			
325	330	335	
Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys			
340	345	350	
Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val			
355	360	365	
Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly			
370	375	380	

Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu
 385 390 395 400
 Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
 405 410
 <210> 5
 <211> 381
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 5
 Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
 1 5 10 15
 Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
 20 25 30
 Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
 35 40 45
 Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser
 50 55 60
 Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly
 65 70 75 80
 Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala
 85 90 95
 Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys
 100 105 110
 Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala
 115 120 125
 Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala
 130 135 140
 Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro
 145 150 155 160
 Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr
 165 170 175
 Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg
 180 185 190
 Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser
 195 200 205
 Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu
 210 215 220
 Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln
 225 230 235 240

Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser		
	245	250 255
Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro		
	260	265 270
Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp		
	275	280 285
Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro		
	290	295 300
Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu		
305	310	315 320
Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser		
	325	330 335
Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser		
	340	345 350
Ser Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu		
	355	360 365
Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu		
	370	375 380
<210> 6		
<211> 352		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 6		
Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly		
1	5	10 15
Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His		
	20	25 30
Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Ala Glu Glu Ala		
	35	40 45
Gly Ile Gly Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val		
	50	55 60
Thr Gln Ala Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp		
65	70	75 80
Asp Lys Lys Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro		
	85	90 95
Arg Gly Ala Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg		
	100	105 110
Ile Pro Ala Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly		
	115	120 125

Glu	Pro	Pro	Lys	Ser	Gly	Asp	Arg	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ser	Pro	Gly	Ser
130						135					140				
Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Ser	Arg	Ser	Arg	Thr	Pro	Ser	Leu	Pro	Thr	Pro
145					150					155					160
Pro	Thr	Arg	Glu	Pro	Lys	Lys	Val	Ala	Val	Val	Arg	Thr	Pro	Pro	Lys
				165					170					175	
Ser	Pro	Ser	Ser	Ala	Lys	Ser	Arg	Leu	Gln	Thr	Ala	Pro	Val	Pro	Met
				180				185					190		
Pro	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Lys	Ser	Lys	Ile	Gly	Ser	Thr	Glu	Asn	Leu
	195						200					205			
Lys	His	Gln	Pro	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Gln	Ile	Val	Tyr	Lys	Pro	Val
	210						215					220			
Asp	Leu	Ser	Lys	Val	Thr	Ser	Lys	Cys	Gly	Ser	Leu	Gly	Asn	Ile	His
225					230					235					240
His	Lys	Pro	Gly	Gly	Gly	Gln	Val	Glu	Val	Lys	Ser	Glu	Lys	Leu	Asp
				245					250					255	
Phe	Lys	Asp	Arg	Val	Gln	Ser	Lys	Ile	Gly	Ser	Leu	Asp	Asn	Ile	Thr
				260				265					270		
His	Val	Pro	Gly	Gly	Gly	Asn	Lys	Lys	Ile	Glu	Thr	His	Lys	Leu	Thr
		275					280					285			
Phe	Arg	Glu	Asn	Ala	Lys	Ala	Lys	Thr	Asp	His	Gly	Ala	Glu	Ile	Val
	290					295					300				
Tyr	Lys	Ser	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Asp	Thr	Ser	Pro	Arg	His	Leu	Ser
305					310					315					320
Asn	Val	Ser	Ser	Thr	Gly	Ser	Ile	Asp	Met	Val	Asp	Ser	Pro	Gln	Leu
				325					330					335	
Ala	Thr	Leu	Ala	Asp	Glu	Val	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Lys	Gln	Gly	Leu
				340				345					350		

<210> 7

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 7

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

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

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 8

Gly	Phe	Asn	Ile	Lys	Asp	Tyr	Tyr	Leu	His
1				5					10

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 9

Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asn	Gly	Asp	Thr	Val	Tyr	Asp	Pro	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 10

<400> 10

000

<210> 11

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 11

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

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 12

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn
1				5					10					15	

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 13

Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Ser
1				5		

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 14

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 15

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

1 5 10 15

Leu Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

<210> 16

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 16

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

<400> 17<400> 1896

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

<210> 19

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 19

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

<210> 20

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 20

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

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

<210> 21

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 21

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

<210> 22

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 22

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

<210> 23

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 23

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

<210> 24

<211> 119

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 24

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

<210> 25

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 25

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

<210> 26

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 26

Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 27

<211> 100

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 27

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly

85 90 95

Thr His Trp Pro

100

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 28

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 29

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 29

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

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

<210> 30

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 30

gaggttcagc tgcagcagtc tggggctgac cttgtgaggc caggggcctt agtcaagttg 60
 tcctgcaaag cttctggctt caacattaaa gactactatt tgcactgggt gaggcagagg 120
 cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgtatat 180
 gacccgaagt tccagggcaa ggccactata acagcagaca catcctcaa tacagcctac 240
 ctgcagctcg gcagcctgac atctgaggac actgccgtct atttctgttc tacccttgac 300
 ttctggggcc aaggcaccac tctcacagtc tcctca 336

<210> 31

<211> 339

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 31

gatgttgtga tgaccagac tccactcact ttgtcggtta ccattggaca accagcctcc 60
 atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gatagtgatg gaaagacata tttgaattgg 120
 ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaattc atctggtgtc taaactggac 180
 tctggagtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tttgggagtt tattattgct ggcaaggtac acattttccg 300
 tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaacgt 339

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成
<400> 32
Asp Tyr Tyr Leu His
1 5
<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 33
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
1 5
<210> 34
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 34
Asp Pro Glu Asn Gly Asp
1 5
<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 35
Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val
1 5 10
<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 36

Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu

1 5

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 37

Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp

1 5 10

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 38

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Tyr

1 5

<210> 39

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 39

Lys Asp Tyr Tyr Leu His

1 5

<210> 40

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 40

Trp Ile Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val

1 5 10

<210> 41

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 41
Ser Thr Leu Asp
1
<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 42
Gly Phe Thr Ile Lys Asp Tyr Tyr Leu His
1 5 10
<210> 43
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 43
Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly
<210> 44
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13) .. (13)
<223> Arg或Lys
<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (67) .. (67)

<223> Lys或Arg

<400> 44

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

<210> 45

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 45

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

Arg

<210> 46

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 46

```

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

```

<210> 47

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 47

```

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

```

				85					90					95				
Ser	Thr	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
				100				105						110				

<210> 48

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 48

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

Tyr	Leu	His	Trp	Val	Arg	Gln	Arg	Pro	Glu	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
		35				40						45						

Gly	Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asn	Gly	Asp	Thr	Val	Tyr	Asp	Glu	Lys	Phe			
	50					55					60							

Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asn	Thr	Ala	Tyr			
65					70					75				80				

Leu	Gln	Leu	Gly	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys			
				85				90					95					

Ser	Thr	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
				100				105						110				

<210> 49

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 49

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

Tyr	Leu	His	Trp	Val	Arg	Gln	Arg	Pro	Glu	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
		35				40						45						

Gly	Trp	Val	Asp	Pro	Glu	Asp	Gly	Asp	Thr	Val	Tyr	Ala	Glu	Lys	Phe			
	50					55					60							

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

<210> 52

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 52

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

<210> 53

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 53

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser	Gly Ala Glu Val Lys Lys	Pro Gly Ala
1	5	10
		15

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

<210> 54

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 54

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

<210> 55

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 55

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

<210> 56

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 56

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

<210> 57

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 57

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

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 58

Gly	Phe	Asn	Phe	Lys	Asp	Tyr	Tyr	Leu	His
1				5				10	

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 59

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr	Tyr	Leu	His
1				5				10	

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 60

Gly Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr Tyr Leu His

1 5 10

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 61

Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 62

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 62

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 63

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 63

Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 64

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 64

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 65

<400> 65

000

<210> 66

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 66

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Leu Asn Ile Lys Asp Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Asp Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 67

Gly Leu Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Ile His

116

<223> 合成

<400> 71

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

<210> 72

<211> 442

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 72

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

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

435	440
<210> 73	
<211> 219	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial sequence)	
<220>	
<223> 合成	
<400> 73	
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly	
1 5 10 15	
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser	
20 25 30	
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser	
35 40 45	
Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro	
50 55 60	
Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	
65 70 75 80	
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly	
85 90 95	
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
100 105 110	
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu	
115 120 125	
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe	
130 135 140	
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln	
145 150 155 160	
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser	
165 170 175	
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu	
180 185 190	
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser	
195 200 205	
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
210 215	
<210> 74	
<211> 115	
<212> PRT	

<210> 76

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 76

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

<210> 77

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 77

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 78

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 78

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

<210> 79

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 79

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

65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ser	Thr	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
				100					105					110	

 $\langle 210 \rangle$ 80 $\langle 211 \rangle$ 112

<212> PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成

 $\langle 400 \rangle$ 80

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Ile	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		

Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

$\langle 210 \rangle$ 81

 $\langle 211 \rangle$ 112

<212> PRT

〈213〉 智人 (*Homo sapiens*)

<400> 81

Asp	Val	Val	Leu	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Thr	Leu	Ser	Val	Thr	Ile	Gly
1				5					10					15	
Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser
			20					25					30		

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Val Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65					70					75					80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Gln	Gly
				85						90					95
Thr	His	Phe	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100						105					110	

<210> 82

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 82

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

Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65					70					75					80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	His	Tyr	Cys	Glu	Gln	Gly
				85						90					95
Thr	His	Phe	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys
			100						105					110	

<210> 83

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 83

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

50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly	Ser Gly Ser Gly Thr	Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu	Asp Leu Gly Val His Tyr Cys	Trp Gln Gly
85	90	95
Thr His Phe Pro Tyr Thr	Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu	Glu Leu Lys
100	105	110

<210> 84

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 84

Asp Val Val Met Thr Gln	Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Leu Gly
1	5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser	Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20	25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu	Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35	40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr	Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50	55 60

Asp Arg Phe Ser Gly	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65	70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu	Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85	90 95
Thr His Phe Pro Tyr Thr	Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100	105 110

<210> 85

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 85

Asp Val Val Met Thr Gln	Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Leu Gly
1	5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser	Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20	25 30

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

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 86

Gly	Phe	Thr	Ile	Lys	Asp	Tyr	Tyr	Leu	His
1				5				10	

<210> 87

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 87

Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asn	Gly	Asp	Thr	Ile	Tyr	Asp	Pro	Lys	Phe	Gln
1				5				10					15		

Gly

<210> 88

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 88

Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asp	Gly	Glu	Thr	Ile	Tyr	Asp	Pro	Lys	Phe	Gln
1				5				10					15		

Gly

<210> 89

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 89

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 90

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 90

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 91

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 91

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 92

Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asp	Gly	Glu	Thr	Val	Tyr	Asp	Pro	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 93

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 93

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
20				25				30							

Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
35				40				45							

Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Asp	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
50				55				60							

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

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
				85					90					95	
Thr	His	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		

<210> 94

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 94

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25						30	

Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
			35					40					45		

Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
			50				55						60		

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

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
				85					90					95	

Thr	His	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		

<210> 95

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 95

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25						30	

Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
			35					40					45		

Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Asn	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

<400> 97

130

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

<210> 98

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 98

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

<210> 99

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 99

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

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

<210> 100

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 100

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

<210> 101

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 101

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

<210> 102

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 102

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

<210> 103

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 103

```

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

```

<210> 104

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 104

```

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

```

100	105	110
<210> 105		
<211> 112		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<220>		
<223> 合成		
<400> 105		
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
1 5 10 15		
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser		
20 25 30		
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser		
35 40 45		
Pro Arg Arg Leu Asp Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro		
50 55 60		
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65 70 75 80		
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly		
85 90 95		
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100 105 110		
<210> 106		
<211> 112		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<220>		
<223> 合成		
<400> 106		
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
1 5 10 15		
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser		
20 25 30		
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser		
35 40 45		
Pro Arg Arg Gly Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro		
50 55 60		
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65 70 75 80		

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
					85				90					95	
Thr	His	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
									100					105	
															110

<210> 107

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 107

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
				20					25					30	

Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
				35				40					45		

Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Glu	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
				50				55					60		

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

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
					85				90					95	

Thr	His	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
									100					105	
															110

<210> 108

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 108

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
				20					25					30	

Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
				35				40					45		

Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Val	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly	Ser Gly Ser Gly Thr	Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu	Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp	Gln Gly
85	90	95
Thr His Phe Pro Tyr Thr	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu	Glu Ile Lys
100	105	110

<210> 109

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 109

Asp Val Val Met Thr Gln	Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr	Leu Gly
1	5	10
Gln Pro Ala Ser Ile Ser	Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu	Asp Ser
20	25	30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu	Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly	Gln Ser
35	40	45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr	Leu Val Ser Lys Ser Asp Ser Gly	Val Pro
50	55	60

Asp Arg Phe Ser Gly	Ser Gly Ser Gly Thr	Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu	Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp	Gln Gly
85	90	95
Thr His Phe Pro Tyr Thr	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu	Glu Ile Lys
100	105	110

<210> 110

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 110

Asp Val Val Met Thr Gln	Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr	Leu Gly
1	5	10
Gln Pro Ala Ser Ile Ser	Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu	Asp Ser
20	25	30

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

<210> 111

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 111

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

<210> 112

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 112

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

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

<210> 113

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 113

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

<210> 114

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 114

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

<210> 115

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 115

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

<210> 116

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 116

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

<210> 117

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 117

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

	100	105	110
<210> 118			
<211> 112			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial sequence)			
<220>			
<223> 合成			
<400> 118			
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly			
1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser			
20	25	30	
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Val Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro			
50	55	60	
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly			
85	90	95	
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105	110	

<210> 119			
<211> 112			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial sequence)			
<220>			
<223> 合成			
<400> 119			
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly			
1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser			
20	25	30	
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro			
50	55	60	
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
				85					90					95	
Thr	His	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		

<210> 120

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 120

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25					30		

Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			

Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Tyr	Glu	Val	Ser	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				

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

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
				85					90					95	

Thr	His	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		

<210> 121

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 121

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25					30		

Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			

Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Gly	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly	Ser Gly Ser Gly Thr	Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu	Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys	Trp Gln Gly
85	90	95
Thr His Phe Pro Tyr Thr	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu	Glu Ile Lys
100	105	110

<210> 122

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 122

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

<210> 123

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 123

Asp Val Val Met Thr Gln	Ser Pro Leu Ser Leu Pro	Val Thr Leu Gly
1	5	10
Gln Pro Ala Ser Ile Ser	Cys Lys Ser Ser Gln Ser	Leu Leu Asp Ser
20	25	30

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

<210> 124

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 124

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

<210> 125

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 125

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

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

<210> 126

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 126

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

<210> 127

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 127

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

<210> 128

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 128

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

<210> 129

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 129

```

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

```

<210> 130

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 130

```

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

```

	100	105	110
<210> 131			
<211> 112			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial sequence)			
<220>			
<223> 合成			
<400> 131			
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly			
1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser			
	20	25	30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser			
	35	40	45
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro			
	50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly			
	85	90	95
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
	100	105	110

<210> 132			
<211> 112			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial sequence)			
<220>			
<223> 合成			
<400> 132			
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly			
1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser			
	20	25	30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser			
	35	40	45
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro			
	50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
				85					90					95	
Thr	His	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		

<210> 133

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 133

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

<210> 134

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 134

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

<210> 137

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 137

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

<210> 138

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 138

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

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

<210> 139

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 139

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

<210> 140

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 140

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

<210> 141

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 141

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

<210> 142

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 142

```

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

```

<210> 143

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 143

```

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

```

100	105	110
<210> 144		
<211> 112		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<220>		
<223> 合成		
<400> 144		
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
1 5 10 15		
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser		
20 25 30		
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser		
35 40 45		
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro		
50 55 60		
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65 70 75 80		
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly		
85 90 95		
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100 105 110		

<210> 145		
<211> 112		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<220>		
<223> 合成		
<400> 145		
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
1 5 10 15		
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser		
20 25 30		
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser		
35 40 45		
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Glu Asp Ser Gly Val Pro		
50 55 60		
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65 70 75 80		

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 146

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 146

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

<210> 147

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 147

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

$\langle 210 \rangle$ 150

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 150
Leu Val Ser Lys Asp Asp Ser
1 5
<210> 151
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 151
Leu Val Ser Lys Gly Asp Ser
1 5
<210> 152
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 152
Leu Val Ser Lys Asn Asp Ser
1 5
<210> 153
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 153
Leu Val Ser Lys Glu Asp Ser
1 5
<210> 154
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成
<400> 154
Glu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5
<210> 155
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 155
Leu Val Ser Lys Gln Asp Ser
1 5
<210> 156
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 156
Asp Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5
<210> 157
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 157
Leu Val Ser Lys Lys Asp Ser
1 5
<210> 158
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 158

Leu Val Ser Lys Arg Asp Ser

1 5

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 159

Leu Val Ser Lys Thr Asp Ser

1 5

<210> 160

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 160

Gly Val Ser Lys Leu Asp Ser

1 5

<210> 161

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 161

Leu Val Ser Lys Val Asp Ser

1 5

<210> 162

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 162

Leu Val Ser Lys Ser Asp Ser

1 5

<210> 163

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 163
Leu Val Gly Lys Leu Asp Ser
1 5
<210> 164
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 164
Val Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5
<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 165
Gly Val Ser Lys Arg Asp Ser
1 5
<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 166
Gly Val Ser Lys Gly Asp Ser
1 5
<210> 167
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成
<400> 167
Leu Val Gly Lys Gly Asp Ser
1 5
<210> 168
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 168
Leu Val Gly Lys Arg Asp Ser
1 5
<210> 169
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 169
Leu Val Gly Lys Thr Asp Ser
1 5
<210> 170
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 170
Leu Val Gly Lys Asp Asp Ser
1 5
<210> 171
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 171

Asp Val Ser Lys Gly Asp Ser

1 5

<210> 172

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 172

Asp Val Ser Lys Arg Asp Ser

1 5

<210> 173

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 173

Glu Val Ser Lys Gly Asp Ser

1 5

<210> 174

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 174

Glu Val Ser Lys Arg Asp Ser

1 5

<210> 175

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 175

Val Val Ser Lys Asp Asp Ser

1 5

<210> 176

<211> 330

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 176

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

275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		320
325	330	
<210> 177		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 177		
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
1	5	10
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		15
20	25	30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
35	40	45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
50	55	60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
65	70	75
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		80
85	90	95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
100	105	
<210> 178		
<211> 442		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial sequence)		
<220>		
<223> 合成		
<400> 178		
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr		15
20	25	30
Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
35	40	45

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

355	360	365
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
370	375	380
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
385	390	395
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		400
405	410	415
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
420	425	430
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	
<210> 179		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<220>		
<223> 合成		
<400> 179		
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
1	5	10
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser		15
20	25	30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser		
35	40	45
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly		80
85	90	95
Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
115	120	125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
145	150	155
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		160

				165					170					175			
Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu		
				180					185					190			
Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser		
				195					200					205			
Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
				210					215								
<210> 180																	
<211> 461																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列(Artificial sequence)																	
<220>																	
<223> 合成																	
<400> 180																	
Met	Met	Ser	Phe	Val	Ser	Leu	Leu	Leu	Val	Gly	Ile	Leu	Phe	His	Ala		
1				5					10					15			
Thr	Gln	Ala	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Lys		
				20					25					30			
Pro	Gly	Ala	Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile		
				35					40					45			
Lys	Asp	Tyr	Tyr	Leu	His	Trp	Val	Arg	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu		
				50					55					60			
Glu	Trp	Ile	Gly	Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Asn	Gly	Asp	Thr	Val	Tyr	Asp		
65					70					75					80		
Pro	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp		
				85						90					95		
Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Leu	Gly	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val		
				100					105					110			
Tyr	Phe	Cys	Ser	Thr	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr		
				115					120					125			
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro		
				130					135					140			
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val		
145					150					155					160		
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala		
				165						170					175		
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly		
				180						185					190		
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly		

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

<210> 181

<211> 238

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 181

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

<210> 182

<211> 1398

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 182

atgatgtcct ttgtctctct gctcctggtt ggcatactat tccatgccac ccaggccgag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg ggcagaggtt gtgaagccag gggccacagt caagatctcc 120
 tgtaaggctt ctggcttcaa cattaagac tactatctgc actgggtgcg gcagaggcct 180
 ggacagggcc tggagtggat tggatggatt gatcctgaga atggtgatac tgtgtatgac 240
 ccgaagttcc agggcagggc cactataaca gcagacacat ccaccgacac agcctacctg 300
 cagctcggca gcctgacatc tgaggacact gccgtctatt tctgttctac cctggacttc 360
 tggggccaag gcacccttgt cacagtctcc tcagcctcca ccaagggcc atcggtcttc 420
 cccctggcac cctctagcaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 480
 aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 540
 gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 600
 accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 660
 agcaacacca aggtggacaa gaaggttgag cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc 720
 ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg ggaccgtcag tcttctcttt cccccaaaa 780
 cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg 840
 agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat 900
 gccaaagaaa agccgagaga ggagcagtag aacagcacgt accgtgtggt cagcgtctctc 960
 accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa 1020
 gccctcccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca 1080
 caggtgtaca ccctgcccc atcccgggag gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc 1140
 tgcttggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag 1200
 ccggagaaca actacaagac cacgcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttctctc 1260
 tattccaaac tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc 1320
 gtgatgcatg aggtcttgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctcccggg 1380
 aatgatgag atctcgag 1398

<210> 183

<211> 729

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 183

atgatgtcct ttgtctctct gctcctgggtt ggcatectat tccatgccac ccaggccgat 60
 gttgtgatga cccagtctcc actctctttg cccgttacc tggacaacc tgctccatc 120
 tcttgcaagt caagtcagag cctcttagat agtgatggaa agacatattt gaattggttg 180
 caacagaggc caggccagtc tccacggcgc ctaatctatc tgggtgggcaa acgggactct 240
 ggagtccctg acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact gaaaatcagc 300
 agagtggagg ctgaggatgt gggagtttat tattgctggc aaggcacaca ttttccttac 360
 acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc 420
 atcttcccgc catctgatga gcagcttaag tccggaactg ctacgcttgt gtgcctgctg 480
 aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 540

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttagtga 720
gatctcgag 729

<210> 184

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 184

Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro

1 5 10 15

Gly

<210> 185

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 185

Asn Val Gln Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro

1 5 10 15

Gly

<210> 186

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 186

Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro

1 5 10 15

Gly

<210> 187

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 187

Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro

1 5 10 15

Gly

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 188
Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His
1 5 10
<210> 189
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 189
Asn Val Lys Ser
1
<210> 190
<400> 190
000
<210> 191
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial sequence)
<220>
<223> 合成
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2) .. (3)
<223> Xaa = 任何氨基酸
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5) .. (6)
<223> Xaa = 任何氨基酸
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8) .. (8)
<223> Xaa = 任何氨基酸
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9) .. (9)
<223> Xaa = Lys或His
<400> 191
Lys Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Asn Xaa Xaa His
1 5 10

<210> 192

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 192

Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His

1 5 10

<210> 193

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 193

Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His

1 5 10

<210> 194

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 194

Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His

1 5 10

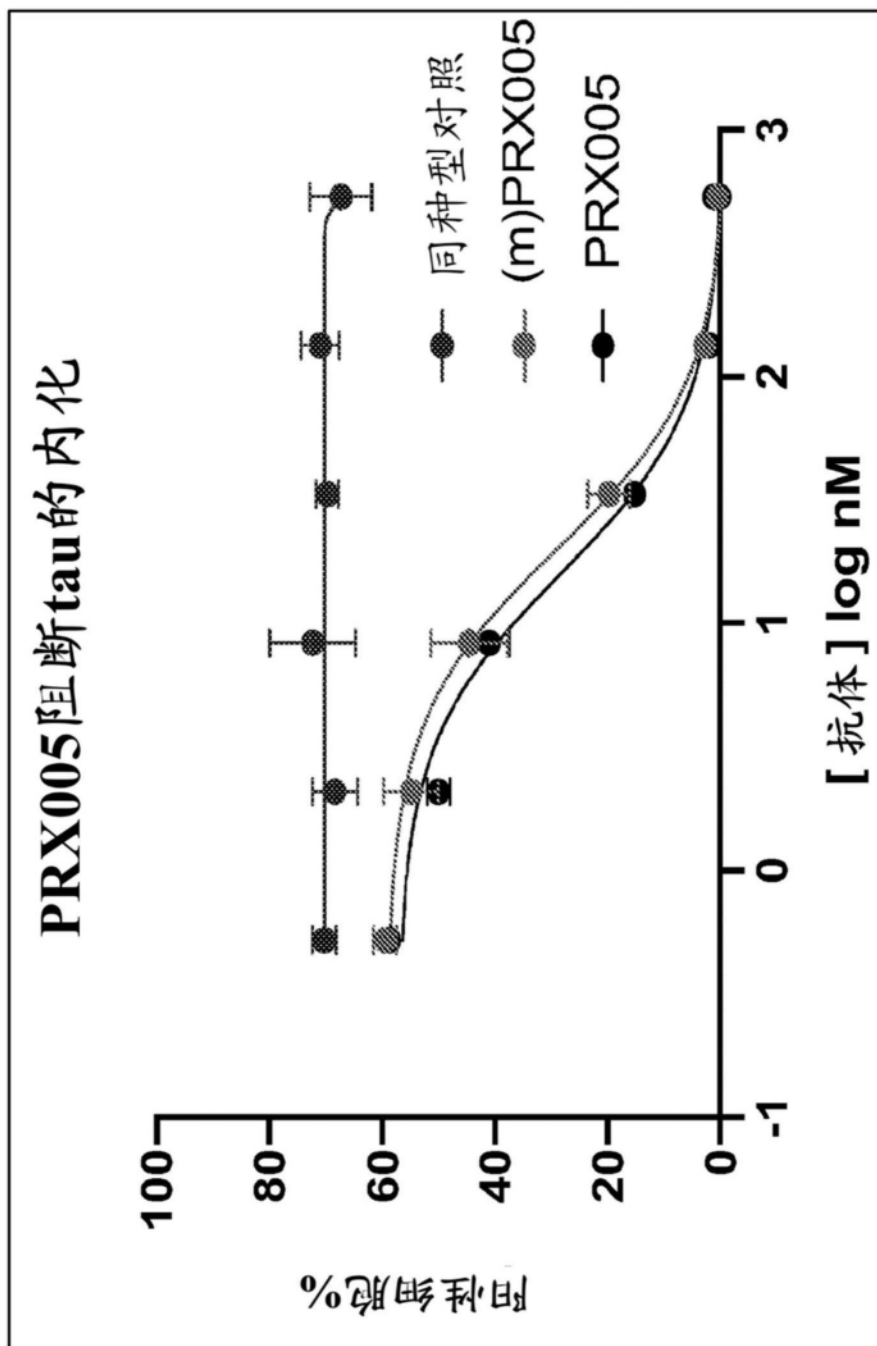


图1

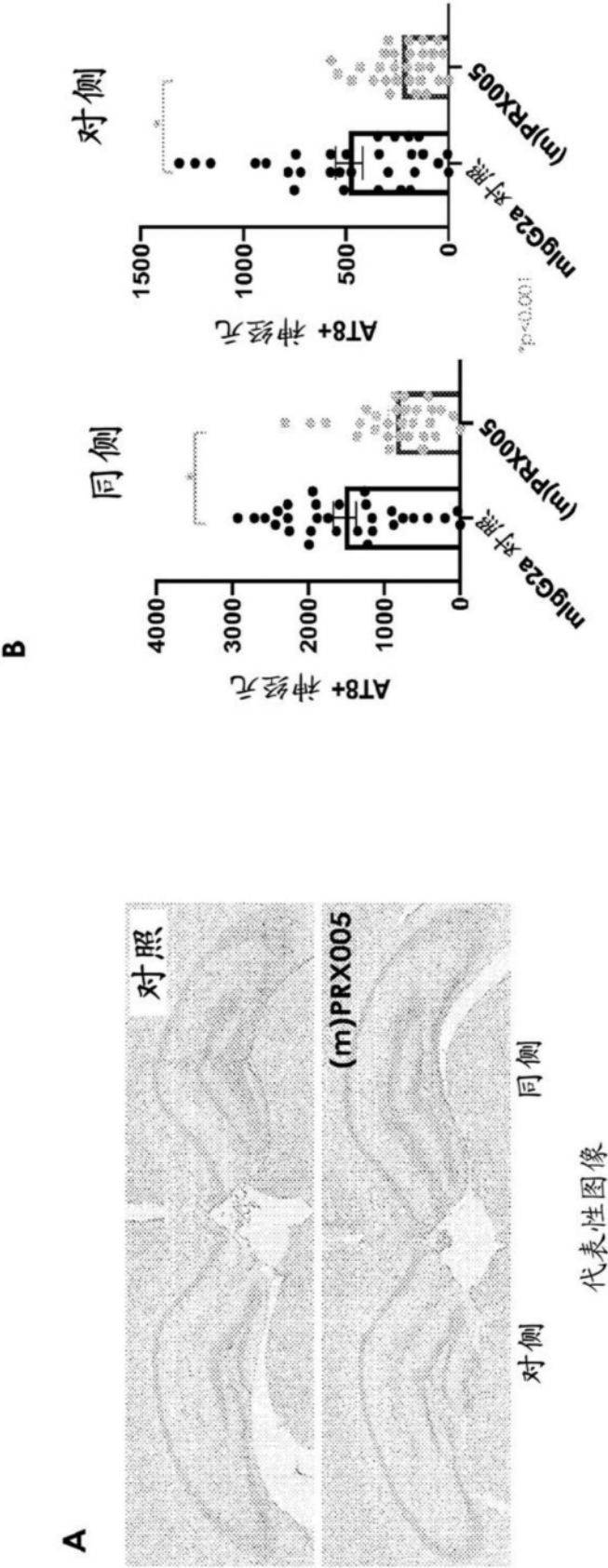


图2

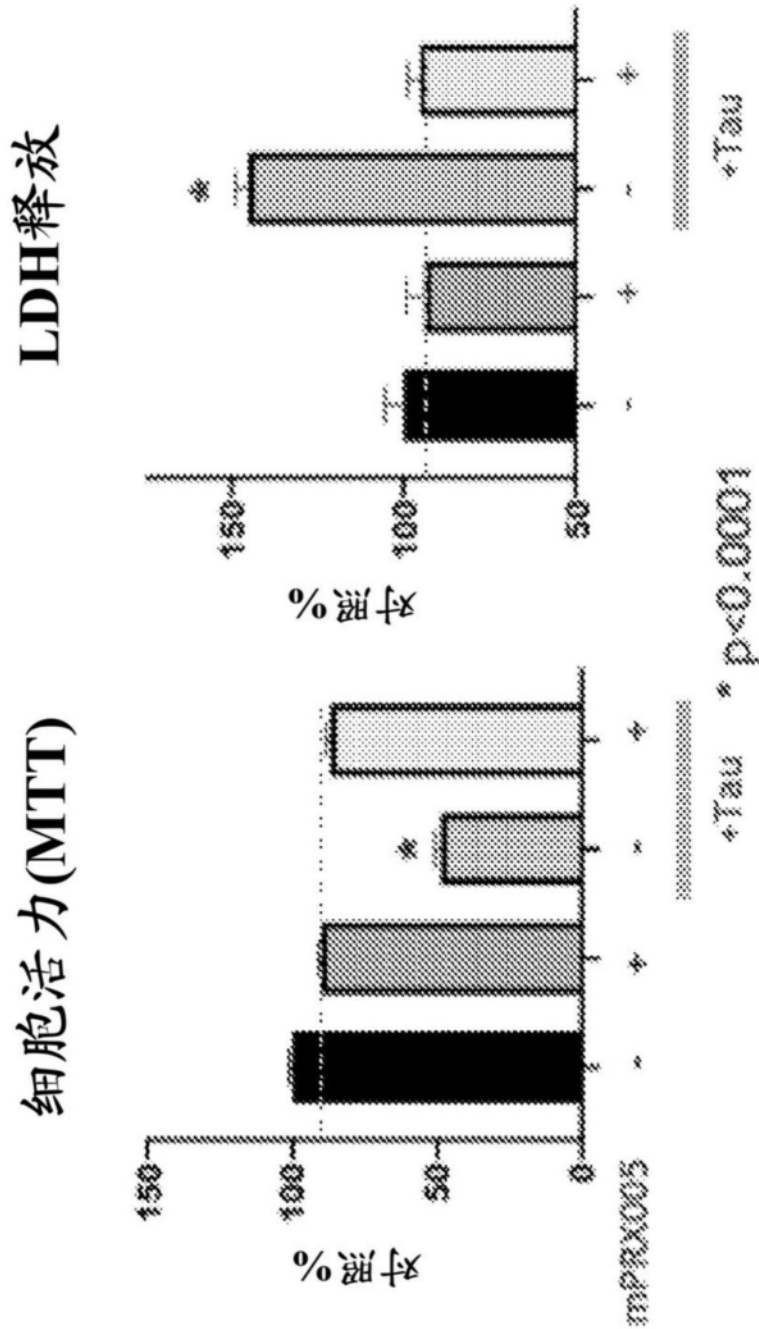


图4