



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114470193 A

(43) 申请公布日 2022. 05. 13

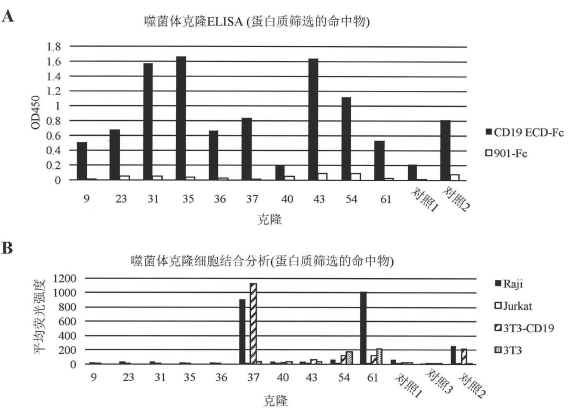
(21) 申请号	202111599552.5	A61K 39/00 (2006.01)
(22) 申请日	2016.10.11	A61K 35/17 (2015.01)
(30) 优先权数据		C07K 16/28 (2006.01)
	62/240,624 2015.10.13 US	C07K 19/00 (2006.01)
(62) 分案原申请数据		C12N 5/10 (2006.01)
	201680025409.6 2016.10.11	A61P 35/00 (2006.01)
(71) 申请人	优瑞科生物技术公司	A61P 35/02 (2006.01)
地址	美国加利福尼亚州	A61P 29/00 (2006.01)
(72) 发明人	刘宏 路经纬 杨智源 隆力 尼尔·郑	A61P 19/02 (2006.01)
		A61P 37/02 (2006.01)
		A61P 3/10 (2006.01)
(74) 专利代理机构	北京律盟知识产权代理有限 责任公司 11287	
专利代理师	顾晨昕	
(51) Int. Cl.		权利要求书6页 说明书104页 序列表114页 附图14页
	A61K 39/395 (2006.01)	

(54) 发明名称

对人类CD19具有专一性的抗体药剂和其用途

(57) 摘要

本申请涉及对人类CD19具有专一性的抗体药剂和其用途。本文中描述专一性结合人类CD19、尤其天然人类CD19的人类抗体药剂和多专一性结合剂。本文还提供使用其或其组合物检测、预防和/或治疗性治疗以CD19表达为特征的疾病，尤其是B细胞淋巴瘤和白血病的方法。



1. 一种专一性结合人类CD19的抗体药剂,其中所述抗体药剂包含重链CDR1 (HC-CDR1)、重链CDR2 (HC-CDR2) 和重链CDR3 (HC-CDR3), 和轻链CDR1 (LC-CDR1)、轻链CDR2 (LC-CDR2) 和轻链CDR3 (LC-CDR3),

其中所述HC-CDR1包含G-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-F-X<sub>3</sub>-S-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub> (SEQ ID NO:291), 且其中X<sub>1</sub>是F、G、Y或V, X<sub>2</sub>是S或T, X<sub>3</sub>是S或T, X<sub>4</sub>是N或Y, 且X<sub>5</sub>是A、W或Y; 其中所述HC-CDR2包含I-X<sub>6</sub>-P-X<sub>7</sub>-X<sub>8</sub>-X<sub>9</sub>-X<sub>10</sub>-T (SEQ ID NO:292), 且其中X<sub>6</sub>是S、D或Y, X<sub>7</sub>是E、S、G或I, X<sub>8</sub>是D、F或V, X<sub>9</sub>是G或S, 且X<sub>10</sub>是K、E、Y、D或T;

其中所述LC-CDR1包含S-S-N-X<sub>11</sub>-G-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-X<sub>14</sub> (SEQ ID NO:293) 或N-I-G-S-X<sub>15</sub>-S (SEQ ID NO:294), 且其中X<sub>11</sub>是I或V, X<sub>12</sub>是N、S或T, X<sub>13</sub>是N、H或K, X<sub>14</sub>是Y、A或T, 且X<sub>15</sub>是K或E; 和/或

其中所述LC-CDR2包含X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub> (SEQ ID NO:295), 且其中X<sub>16</sub>是D、E、S、R或Y, X<sub>17</sub>是N或D, 且X<sub>18</sub>是N、Y、S或D。

2. 一种专一性结合人类CD19的抗体药剂,其中所述抗体药剂包含

至少一个包含与SEQ ID NO:73-123中任一个至少95%一致的序列的重链CDR (HC-CDR), 和/或

至少一个包含与SEQ ID NO:181-231中任一个至少95%一致的序列的轻链CDR (LC-CDR)。

3. 根据权利要求2所述的抗体药剂,其中所述抗体药剂包含

(a) 各自具有分别与SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3, 和各自具有分别与SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(b) 各自具有分别与SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3, 和各自具有分别与SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(c) 各自具有分别与SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3, 和各自具有分别与SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(d) 各自具有分别与SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3, 和各自具有分别与SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(e) 各自具有分别与SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3, 和各自具有分别与SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(f) 各自具有分别与SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3, 和各自具有分别与SEQ ID NO:196、



SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(g) 各自具有分别与SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(h) 各自具有分别与SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(i) 各自具有分别与SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(j) 各自具有分别与SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(k) 各自具有分别与SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(l) 各自具有分别与SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(m) 各自具有分别与SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(n) 各自具有分别与SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(o) 各自具有分别与SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;

(p) 各自具有分别与SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120中所示的氨基酸

序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3;或

(q) 各自具有分别与SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,和各自具有分别与SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231中所示的氨基酸序列至少95%一致的序列的LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3。

4. 根据权利要求3所述的抗体药剂,其中所述抗体药剂包含

(a) SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75的HC-CDR,和SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183的LC-CDR;

(b) SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78的HC-CDR,和SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186的LC-CDR;

(c) SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81的HC-CDR,和SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189的LC-CDR;

(d) SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84的HC-CDR,和SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192的LC-CDR;

(e) SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87的HC-CDR,和SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195的LC-CDR;

(f) SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90的HC-CDR,和SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198的LC-CDR;

(g) SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93的HC-CDR,和SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201的LC-CDR;

(h) SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96的HC-CDR,和SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204的LC-CDR;

(i) SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99的HC-CDR,和SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207的LC-CDR;

(j) SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102的HC-CDR,和SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210的LC-CDR;

(k) SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105的HC-CDR,和SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213的LC-CDR;

(l) SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108的HC-CDR,和SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216的LC-CDR;

(m) SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111的HC-CDR,和SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219的LC-CDR;

(n) SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114的HC-CDR,和SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222的LC-CDR;

(o) SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的HC-CDR,和SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225的LC-CDR;

(p) SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120的HC-CDR,和SEQ ID NO:226、SEQ

ID NO:227和SEQ ID NO:228的LC-CDR;或

(q) SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123的HC-CDR,和SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231的LC-CDR。

5. 一种抗体药剂,其与包含以下的抗体药剂竞争结合CD19

(a) SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75的HC-CDR,和SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183的LC-CDR;

(b) SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78的HC-CDR,和SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186的LC-CDR;

(c) SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81的HC-CDR,和SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189的LC-CDR;

(d) SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84的HC-CDR,和SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192的LC-CDR;

(e) SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87的HC-CDR,和SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195的LC-CDR;

(f) SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90的HC-CDR,和SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198的LC-CDR;

(g) SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93的HC-CDR,和SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201的LC-CDR;

(h) SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96的HC-CDR,和SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204的LC-CDR;

(i) SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99的HC-CDR,和SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207的LC-CDR;

(j) SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102的HC-CDR,和SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210的LC-CDR;

(k) SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105的HC-CDR,和SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213的LC-CDR;

(l) SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108的HC-CDR,和SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216的LC-CDR;

(m) SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111的HC-CDR,和SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219的LC-CDR;

(n) SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114的HC-CDR,和SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222的LC-CDR;

(o) SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的HC-CDR,和SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225的LC-CDR;

(p) SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120的HC-CDR,和SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228的LC-CDR;或

(q) SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123的HC-CDR,和SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231的LC-CDR。

6. 一种专一性结合人类CD19的抗体药剂,其中所述抗体药剂包含

重链可变区HCVR,其具有与SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32和34中任一个的HCVR至少95%一致的序列,和轻链可变区LCVR,其具有与SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32和34中任一个的LCVR至少95%一致的序列。

7. 根据权利要求6所述的抗体药剂,其中所述抗体药剂包含

(a) 具有与SEQ ID NO:2的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:2的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(b) 具有与SEQ ID NO:4的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:4的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(c) 具有与SEQ ID NO:6的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:6的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(d) 具有与SEQ ID NO:8的HCVR至少95%一致的序列的HCVR区域,和具有与SEQ ID NO:8的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(e) 具有与SEQ ID NO:10的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:10的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(f) 具有与SEQ ID NO:12的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:12的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(g) 具有与SEQ ID NO:14的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:14的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(h) 具有与SEQ ID NO:16的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:16的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(i) 具有与SEQ ID NO:18的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:18的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(j) 具有与SEQ ID NO:20的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:20的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(k) 具有与SEQ ID NO:22的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:22的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(l) 具有与SEQ ID NO:24的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:24的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(m) 具有与SEQ ID NO:26的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:26的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(n) 具有与SEQ ID NO:28的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:28的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(o) 具有与SEQ ID NO:30的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:30的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;

(p) 具有与SEQ ID NO:32的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:32的LCVR至少95%一致的序列的LCVR;或

(q) 具有与SEQ ID NO:34的HCVR至少95%一致的序列的HCVR,和具有与SEQ ID NO:34的LCVR至少95%一致的序列的LCVR。

8. 根据权利要求6或7所述的抗体药剂,其中所述抗体药剂包含SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:34中任一个的HCVR和LCVR序列。

9. 一种专一性结合人类CD19的抗体药剂,其中所述抗体药剂与亲本抗体药剂相比包含一或多个氨基酸取代,且其中所述亲本抗体药剂包含根据权利要求2所述的任一组HC-CDR和LC-CDR序列。

10. 根据权利要求1到9中任一权利要求所述的抗体药剂,其中所述抗体药剂进一步包含一到五个氨基酸取代在HC-CDR、HC构架、LC-CDR、LC构架或其组合中。

## 对人类CD19具有专一性的抗体药剂和其用途

[0001] 本申请是申请日为2016年10月11日、申请号为“201680025409.6”、名称为“对人类CD19具有专一性的抗体药剂和其用途”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请案的交叉参考

[0003] 本申请案要求2015年10月13日提交的美国临时专利申请案第62/240,624号的权益,其以全文引用的方式并入本文中。

[0004] 序列表

[0005] 本发明参考以名是“ETI-2015-11\_ST25.txt”的.txt文件形式以电子方式提交的序列表。所述.txt文件创建于2016年10月5日且大小是178,524个字节。所述序列表的全部内容以引用的方式并入本文中。

### 技术领域

[0006] 本发明一般涉及对人类CD19具有专一性的抗体药剂和其用途。

### 背景技术

[0007] 随着基于抗体的技术的出现,在过去十年里,研发新颖的基于抗体的疗法来治疗癌症已吸引了极大关注。实际上,多种形式(例如嵌合、人类化、人类、放射性标记、药物结合、多专一性等)继续经研发且一些已经在癌症治疗中显示显著前景。一份2015年清单报道接近二十四种治疗性抗体药剂已经在美国或欧洲获得上市许可或正在经审查用于各种癌症适应症(参见珍妮斯赖克特(Janice M.Reichert),PhD,赖克特生物技术咨询有限公司(Reichert Biotechnology Consulting LLC),2015年5月26日)。特别有效抗体药剂的研发仍然是挑战。

### 发明内容

[0008] 本发明尤其提供专一性结合CD19,具体地说人类CD19的人类抗体药剂、多专一性结合剂(例如双专一性抗体)和嵌合抗原受体。在一些实施例中,与一或多种参考人类抗体药剂、多专一性结合剂和/或嵌合抗原受体相比,所提供的人类抗体药剂、多专一性结合剂和嵌合抗原受体显示对原生形式(例如在细胞表面上表达)的人类CD19的较高专一性。在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂、多专一性结合剂(例如双专一性抗体)和嵌合抗原受体克服与用现有技术(例如工程改造的非人类动物、噬菌体呈现、由鼠来源的抗体产生的人类化抗体等)研发的基于抗体的抗CD19疗法相关的次佳选择性。在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂、多专一性结合剂(例如双专一性抗体)和嵌合抗原受体有效介导以CD19表达为特征的癌细胞(例如淋巴瘤和/或白血病)的杀死。

[0009] 虽然本文深入讨论使用含有人类序列(即包括人类CDR序列的人类重链和轻链可变区序列)的抗体药剂的实施例,本发明还提供非人类抗体药剂。在一些实施例中,非人类抗体药剂包含来自如本文所描述的抗体药剂的人类CDR序列和非人类构架序列。在一些实施例中,非人类构架序列包括可用于使用一或多个如本文所描述的人类CDR序列产生合成

重链和/或轻链可变区的任何序列,包括例如哺乳动物,例如小鼠、大鼠、兔、猪、牛(例如母牛、公牛、水牛)、鹿、绵羊、山羊、鸡、猫、狗、雪貂、灵长类动物(例如狨猴、恒河猴)等。在一些实施例中,所提供的抗体药剂包括通过将如本文所描述的一或多个人类CDR序列移植到非人类构架序列(例如小鼠或鸡构架序列)上产生的抗体药剂。在许多实施例中,所提供的抗体药剂是人类抗体药剂(例如人类单克隆抗体或其片段、人类抗原结合蛋白质或多肽、人类多专一性结合剂[例如人类双专一性抗体]、具有人类免疫球蛋白多肽的一或多种结构组分的人类多肽)。

[0010] 在一些实施例中,本发明提供专一性结合人类CD19的抗体药剂,其中所述抗体药剂包含重链CDR1(HC-CDR1)、重链CDR2(HC-CDR2)和重链CDR3(HC-CDR3),和轻链CDR1(LC-CDR1)、轻链CDR2(LC-CDR2)和轻链CDR3(LC-CDR3),

[0011] 其中所述HC-CDR1包含G-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-F-X<sub>3</sub>-S-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>(SEQ ID NO:291),且其中X<sub>1</sub>是F、G、Y或V,X<sub>2</sub>是S或T,X<sub>3</sub>是S或T,X<sub>4</sub>是N或Y,且X<sub>5</sub>是A、W或Y;

[0012] 其中所述HC-CDR2包含I-X<sub>6</sub>-P-X<sub>7</sub>-X<sub>8</sub>-X<sub>9</sub>-X<sub>10</sub>-T(SEQ ID NO:292),且其中X<sub>6</sub>是S、D或Y,X<sub>7</sub>是E、S、G或I,X<sub>8</sub>是D、F或V,X<sub>9</sub>是G或S,且X<sub>10</sub>是K、E、Y、D或T;

[0013] 其中所述LC-CDR1包含S-S-N-X<sub>11</sub>-G-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-X<sub>14</sub>(SEQ ID NO:293)或N-I-G-S-X<sub>15</sub>-S(SEQ ID NO:294),且其中X<sub>11</sub>是I或V,X<sub>12</sub>是N、S或T,X<sub>13</sub>是N、H或K,X<sub>14</sub>是Y、A或T,且X<sub>15</sub>是K或E;和/或

[0014] 其中所述LC-CDR2包含X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub>(SEQ ID NO:295),且其中X<sub>16</sub>是D、E、S、R或Y,X<sub>17</sub>是N或D,且X<sub>18</sub>是N、Y、S或D。

[0015] 在一些实施例中,本发明提供专一性结合人类CD19的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含一或多个各自具有与一或多个选自表2的重链CDR至少50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列的重链CDR,和/或一或多个各自具有与一或多个选自表3的轻链CDR至少50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列的轻链CDR。

[0016] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0017] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0018] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链

CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0019] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0020] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0021] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0022] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0023] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0024] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0025] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0026] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ



ID NO:213中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的 每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0027] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95% 一致的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的 每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0028] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95% 一致的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的 每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0029] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95% 一致的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的 每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0030] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95% 一致的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的 每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0031] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95% 一致的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的 每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0032] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95% 一致的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的 每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0033] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75 的重链CDR和SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183的轻链CDR。

[0034] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78 的重链CDR和SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186的轻链CDR。

[0035] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81 的重链CDR和SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189的轻链CDR。

[0036] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:

84 的重链CDR和SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192的轻链CDR。

[0037] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87 的重链CDR和SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195的轻链CDR。

[0038] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90 的重链CDR和SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198的轻链CDR。

[0039] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93 的重链CDR和SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201的轻链CDR。

[0040] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96 的重链CDR和SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204的轻链CDR。

[0041] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99 的重链CDR和SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207的轻链CDR。

[0042] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102的重链CDR和SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210的轻链CDR。

[0043] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105的重链CDR和SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213的轻链CDR。

[0044] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108的重链CDR和SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216的轻链CDR。

[0045] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111的重链CDR和SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219的轻链CDR。

[0046] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114的重链CDR和SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222的轻链CDR。

[0047] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的重链CDR和SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225的轻链CDR。

[0048] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120的重链CDR和SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228的轻链CDR。

[0049] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123的重链CDR和SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231的轻链CDR。

[0050] 在一些实施例中,本发明提供与包含以下的人类抗体药剂竞争结合CD19的人类抗体药剂:(a) SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75的重链CDR和SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183的轻链CDR;(b) SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78 的重链CDR和SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186的轻链CDR;(c) SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81的重链CDR 和SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189的轻链CDR;(d) SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84的重链CDR和SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192的轻链CDR;(e) SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87的重链CDR 和SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195的轻链CDR;(f) SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90的重链CDR和SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198的轻链CDR;(g) SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93的重链CDR 和SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201的轻链CDR;(h) SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96的重链CDR和SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:

204的轻链CDR; (i) SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99的重链CDR 和SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207的轻链CDR; (j) SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102的重链CDR和SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和 SEQ ID NO:210的轻链CDR; (k) SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105 的重链CDR和SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213的轻链CDR; (l) SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108的重链CDR和SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216的轻链CDR; (m) SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111的重链CDR和SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219的轻链CDR; (n) SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114的重链CDR和SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222的轻链CDR; (o) SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116 和SEQ ID NO:117的重链CDR和SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225的轻链CDR; (p) SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120的重链CDR和SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228的轻链CDR;或(q) SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123的重链CDR和SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231的轻链CDR。

[0051] 在一些实施例中,人类抗体药剂更包含一或多种在重链CDR和/或轻链CDR中的氨基酸取代。

[0052] 在一些实施例中,人类抗体药剂更包含至少一种或最多五种在重链CDR和/或轻链CDR中的氨基酸取代。

[0053] 在一些实施例中,人类抗体药剂更包含至少一种或最多三种在重链CDR和/或轻链CDR中的氨基酸取代。

[0054] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含一或多种在重链构架和/或轻链构架中的氨基酸 取代。在某些实施例中,人类抗体药剂包含1-5种在重链构架和/或轻链构架中的氨基酸 取代。

[0055] 在某些实施例中,一或多种氨基酸取代(例如1-5种氨基酸取代)在构架区(即重链和/或轻链构架)和/或CDR(即重链和/或轻链CDR)内。

[0056] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含表8中出现的一或多种氨基酸取代。在一些实施例中,人类抗体药剂包含表8中出现的在变异克隆中发现的氨基酸取代。

[0057] 在一些实施例中,本发明提供专一性结合人类CD19的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与表1中出现的重链可变区序列至少50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列的重 链可变区,和具有与表1中出现的轻链可变区序列至少50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列的轻 链可变区。

[0058] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:2中出现的重链可变区序列 至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:2中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0059] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:4中出现的重链可变区序列 至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:4中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0060] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:6中出现的重链可变区序列 至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:6中出现的轻链可变区序列至

少95%一致的序列的轻链可变区。

[0061] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:8中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:8中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0062] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:10中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:10中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0063] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:12中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:12中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0064] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:14中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:14中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0065] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:16中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:16中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0066] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:18中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:18中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0067] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:20中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:20中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0068] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:22中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:22中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0069] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:24中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:24中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0070] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:26中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:26中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0071] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:28中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:28中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0072] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:30中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:30中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0073] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:32中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:32中出现的轻链可变区序列

至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0074] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:34中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:34中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0075] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:34中的任一个中出现的重链和轻链可变区序列。

[0076] 在一些实施例中,本发明提供专一性结合人类CD19的人类抗体药剂,其中与亲本(或参考)人类抗体药剂相比,所述人类抗体药剂包含一或多种氨基酸取代,且其中所述人类抗体药剂包含(a) SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125和SEQ ID NO:126的重链CDR和SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233和SEQ ID NO:234的轻链CDR;(b) SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129的重链CDR和SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236和SEQ ID NO:237的轻链CDR;(c) SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131和SEQ ID NO:132的重链CDR和SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239和SEQ ID NO:240的轻链CDR;(d) SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134和SEQ ID NO:135的重链CDR和SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242和SEQ ID NO:243的轻链CDR;(e) SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137和SEQ ID NO:138的重链CDR和SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245和SEQ ID NO:246的轻链CDR;(f) SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:140和SEQ ID NO:141的重链CDR和SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248和SEQ ID NO:249的轻链CDR;(g) SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143和SEQ ID NO:144的重链CDR和SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251和SEQ ID NO:252的轻链CDR;(h) SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146和SEQ ID NO:147的重链CDR和SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254和SEQ ID NO:255的轻链CDR;(i) SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:150的重链CDR和SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:257和SEQ ID NO:258的轻链CDR;(j) SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152和SEQ ID NO:153的重链CDR和SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:261的轻链CDR;(k) SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:155和SEQ ID NO:156的重链CDR和SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:263和SEQ ID NO:264的轻链CDR;(l) SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:158和SEQ ID NO:159的重链CDR和SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:266和SEQ ID NO:267的轻链CDR;(m) SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161和SEQ ID NO:162的重链CDR和SEQ ID NO:268、SEQ ID NO:269和SEQ ID NO:270的轻链CDR;(n) SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:164和SEQ ID NO:165的重链CDR和SEQ ID NO:271、SEQ ID NO:272和SEQ ID NO:273的轻链CDR;(o) SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:167和SEQ ID NO:168的重链CDR和SEQ ID NO:274、SEQ ID NO:275和SEQ ID NO:276的轻链CDR;(p) SEQ ID NO:169、SEQ ID NO:170和SEQ ID NO:171的重链CDR和SEQ ID NO:277、SEQ ID NO:278和SEQ ID NO:279的轻链CDR;(q) SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:173和SEQ ID NO:174的重链CDR和SEQ ID NO:280、SEQ ID NO:281和SEQ ID NO:282的轻链CDR;(r) SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:176和SEQ ID NO:177的重链CDR和SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284和SEQ ID NO:285的轻链CDR;或(s) SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179和SEQ ID NO:180的重链CDR和SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:287和SEQ ID NO:288的轻链CDR。在某些实施例中,与如本文所描述的亲本(或参考)抗体药剂相比,如本文所描述的抗体药剂包含1-5种氨基酸取代。

[0077] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含在选自由10、16、25、34、52、54、68、69、72、75、93、95和其组合组成的群组的氨基酸位置中的任一个处包含一或多种氨基酸取代的轻链可变区。在某些实施例中,一或多种氨基酸取代包括V10M、K16E、S25N、V34I、D52N、L54Q、N68T、T69M、L72M、S75N、S93T、D95E、D95G或其组合。

[0078] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含在选自由3、12、16、17、25、26、32、63、69、97、102、106、108、109、113、116、117和其组合组成的群组的氨基酸位置中的任一个处包含一或多种氨基酸取代的重链可变区。在某些实施例中,一或多种氨基酸取代包括Q3R、K12E、E16G、S17F、S25A、G26A、Y32F、S63F、T69A、A97V、T102S、M106L、Y108N、D109E、Q113L、L116M、M117L或其组合。

[0079] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代S75N的轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代T69M的轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代D52N和D95E的轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代V10M和D95G的轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代S93T的轻链可变区和具有氨基酸取代S17F和T69A的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代N68T的轻链可变区和具有氨基酸取代S17F和Y108N的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代S63F的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代Q3R、Y32F和A97V的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代K16E的轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代M117L的重链可变区。

[0080] 在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代L72M的轻链可变区,和具有氨基酸取代S25A的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代T102S和L116M的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代S25N和V34I的轻链可变区,和具有氨基酸取代K12E和D109E的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代E16G的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代L54Q的轻链可变区,和具有氨基酸取代M106L的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代S25N的轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代G26A和Q113L的重链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代L54Q的轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂包含具有氨基酸取代T102S的重链可变区。

[0081] 在一些实施例中,氨基酸取代选自表8。

[0082] 在一些实施例中,本发明提供专一性结合人类CD19的人类抗体药剂,其中与亲本(或参考)人类抗体药剂相比,所述人类抗体药剂包含一或多种氨基酸取代(例如1-5种氨基酸取代),且其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:72中的任一个中出现的重链和轻链可变区序列。在某些实施例中,亲本(或参考)抗体药剂包含SEQ ID NO:30或SEQ ID NO:32的HCVR和LCVR。

[0083] 在一些实施例中,人类抗体药剂是人类单克隆抗体或其片段。

[0084] 在一些实施例中,人类抗体药剂是包含变异Fc区的人类单克隆抗体。在一些实施例中,与亲本(或参考)Fc区相比,变异Fc区包含一或多种氨基酸取代。在一些实施例中,与包含野生型(或亲本或参考)Fc区的亲本人类单克隆抗体相比,人类单克隆抗体包含变异糖基化模式。在一些实施例中,人类单克隆抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗体。在某些实施例中,人类单克隆抗体是IgG1。

[0085] 在一些实施例中,人类抗体药剂与治疗剂或检测剂结合。

[0086] 在一些实施例中,人类抗体药剂与细胞毒性剂或部分结合。

[0087] 在一些实施例中,人类抗体药剂与放射性同位素结合。

[0088] 在一些实施例中,人类抗体药剂是或包含免疫球蛋白、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv、单链Fv(scFv)或dAb。在某些实施例中,人类抗体药剂是或包含scFv。在一些实施例中,scFv包含连接序列。在一些实施例中,scFv与治疗剂或检测剂结合。在一些实施例中,scFv是嵌合抗原受体的一部分。

[0089] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的人类抗体药剂用于疗法或诊断。

[0090] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的人类抗体药剂用于治疗、预防或改善以CD19表达为特征的疾病。

[0091] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的人类抗体药剂用于治疗、预防或改善癌症。

[0092] 在一些实施例中,本发明提供抗体-药物结合物,其包含如本文所描述的人类抗体药剂的一个抗原结合位点(或多个抗原结合位点),和细胞毒性剂或部分。

[0093] 在一些实施例中,细胞毒性剂或部分包含单甲基奥瑞他汀(auristatin)E(MMAE)、单甲基奥瑞他汀F(MMAF)或美登素(maytansine)。

[0094] 在一些实施例中,本发明提供双专一性抗体,其包含来自(或基于)如本文所描述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点,和第二抗原结合位点。

[0095] 在一些实施例中,第一和/或第二抗原结合位点是选自由免疫球蛋白分子、scFv、scFab、Fab、Fv和其组合组成的群组。在一些实施例中,第一和第二抗原结合位点经配置使得其形成单个多肽链。在一些实施例中,第一和第二抗原结合位点是scFv。在一些实施例中,第一和第二抗原结合位点由肽连接子连接。在一些实施例中,第二抗原结合位点连接到第一抗原结合位点的C端。在一些实施例中,第二抗原结合位点连接到第一抗原结合位点的N端。

[0096] 在一些实施例中,第一抗原结合位点由免疫球蛋白分子构成且第二抗原结合位点由scFv、scFab、Fab或Fv构成。

[0097] 在一些实施例中,第二抗原结合位点结合选自由以下组成的群组的免疫细胞:T细胞、NK细胞、B细胞、树突状细胞、单核细胞、巨噬细胞、嗜中性白血球、间叶干细胞和神经干细胞。在一些实施例中,第二抗原结合位点结合T细胞上的CD3。

[0098] 在一些实施例中,本发明提供双专一性T细胞接合单克隆抗体,其包含如本文所描述的人类抗体药剂的抗原结合位点。

[0099] 在一些实施例中,本发明提供双专一性抗体,其由专一性结合CD19的第一scFv和专一性结合T细胞上的CD3的第二scFv构成,其中第一scFv包含SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、

SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:72中的任一个。

[0100] 在一些实施例中,第一scFv的N端连接到第二scFv的C端。在一些实施例中,第一scFv的C端连接到第二scFv的N端。

[0101] 在一些实施例中,第一scFv的N端经由连接序列连接到第二scFv的C端。在一些实施例中,第一scFv的C端经由连接序列连接到第二scFv的N端。

[0102] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的双专一性抗体用于疗法或诊断。

[0103] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的双专一性抗体用于治疗、预防或改善以CD19表达为特征的疾病。

[0104] 在一些实施例中,本发明提供嵌合抗原受体,其包含如本文所描述的人类抗体药剂的抗原结合位点。在一些实施例中,嵌合抗原受体包含如本文所描述的人类抗体药剂的抗原结合位点且更包含天然细胞受体的跨膜域和/或细胞内信号传导域。在某些实施例中,天然细胞受体是T细胞受体(TCR)。在一些实施例中,嵌合抗原受体包含如本文所描述的人类抗体药剂的抗原结合位点且更包含跨膜域和细胞内信号传导域,所述细胞内信号传导域包含CD3(例如CD3 $\zeta$ )细胞内信号传导序列和CD28细胞内信号传导序列。

[0105] 在一些实施例中,嵌合抗原受体的抗原结合位点是或包含scFv。

[0106] 在一些实施例中,如本文所描述的嵌合抗原受体的抗原结合位点是或包含V<sub>L</sub>区。在某些实施例中,V<sub>L</sub>区包含以下的轻链CDR:(a) SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183;(b) SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186;(c) SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189;(d) SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192;(e) SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195;(f) SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198;(g) SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201;(h) SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204;(i) SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207;(j) SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210;(k) SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213;(l) SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216;(m) SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219;(n) SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222;(o) SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225;(p) SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228;(q) SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231;(r) SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233和SEQ ID NO:234;(s) SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236和SEQ ID NO:237;(t) SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239和SEQ ID NO:240;(u) SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242和SEQ ID NO:243;(v) SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245和SEQ ID NO:246;(w) SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248和SEQ ID NO:249;(x) SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251和SEQ ID NO:252;(y) SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254和SEQ ID NO:255;(z) SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:257和SEQ ID NO:258;(ab) SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:261;(ac) SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:263和SEQ ID NO:264;(ad) SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:266和SEQ ID NO:267;(ae) SEQ ID NO:268、SEQ ID NO:269和SEQ ID NO:270;(af) SEQ ID NO:271、SEQ ID NO:272和



SEQ ID NO:273; (ag) SEQ ID NO:274、SEQ ID NO:275和SEQ ID NO:276; (ah) SEQ ID NO:277、SEQ ID NO:278和SEQ ID NO:279; (ai) SEQ ID NO:280、SEQ ID NO:281和SEQ ID NO:282; (aj) SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284和SEQ ID NO:285; 或 (ak) SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:287和SEQ ID NO:288。在某些实施例中,  $V_L$  区包含以下中的任一个中出现的序列: SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:72。

[0107] 在一些实施例中, 如本文所描述的嵌合受体的抗原结合位点是或包含  $V_H$  区。在某些实施例中,  $V_H$  区包含以下的重链CDR: (a) SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75; (b) SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78; (c) SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81; (d) SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84; (e) SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87; (f) SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90; (g) SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93; (h) SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96; (i) SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99; (j) SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102; (k) SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105; (l) SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108; (m) SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111; (n) SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114; (o) SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117; (p) SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120; (q) SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123; (r) SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125和SEQ ID NO:126; (s) SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129; (t) SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131和SEQ ID NO:132; (u) SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134和SEQ ID NO:135; (v) SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137和SEQ ID NO:138; (w) SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:140和SEQ ID NO:141; (x) SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143和SEQ ID NO:144; (y) SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146和SEQ ID NO:147; (z) SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:150; (ab) SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152和SEQ ID NO:153; (ac) SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:155和SEQ ID NO:156; (ad) SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:158和SEQ ID NO:159; (ae) SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161和SEQ ID NO:162; (af) SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:164和SEQ ID NO:165; (ag) SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:167和SEQ ID NO:168; (ah) SEQ ID NO:169、SEQ ID NO:170和SEQ ID NO:171; (ai) SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:173和SEQ ID NO:174; (aj) SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:176和SEQ ID NO:177; 或 (ak) SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179和SEQ ID NO:180。在某些实施例中,  $V_H$  区包含以下中的任一个中出现的序列: SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、

SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:72。

[0108] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的嵌合抗原受体用于疗法或诊断。

[0109] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的嵌合抗原受体用于治疗、预防或改善以CD19表达为特征的疾病。

[0110] 在一些实施例中,本发明提供表达如本文所描述的嵌合抗原受体(或抗体药剂或双专一性抗体)的免疫效应细胞。在一些实施例中,免疫效应细胞是T细胞(例如细胞毒性T细胞、辅助T细胞或自然杀手T细胞)或NK细胞。

[0111] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的免疫效应细胞用于疗法或诊断。

[0112] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的免疫效应细胞用于治疗、预防或改善以CD19表达为特征的疾病。

[0113] 在一些实施例中,本发明提供全部或部分编码如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体的多肽链或双专一性抗体或嵌合抗原受体的经分离核酸分子。在一些实施例中,经分离核酸序列包括经密码子优化的序列。

[0114] 在一些实施例中,经分离核酸序列是或包含以下中的任一个中出现的序列:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69和SEQ ID NO:71。

[0115] 在一些实施例中,本发明提供包含如本文所描述的经分离核酸分子的载体。在一些实施例中,载体是重组、表达、lent病毒或反转录病毒载体。

[0116] 在一些实施例中,本发明提供包含载体或核酸分子,或表达如本文所描述的抗体药剂、双专一性抗体或嵌合抗原受体的细胞。在一些实施例中,细胞选自细菌、酵母、昆虫或哺乳动物细胞。在一些实施例中,细胞是哺乳动物淋巴细胞(例如人类淋巴细胞)。

[0117] 在一些实施例中,本发明提供包含如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体、嵌合抗原受体、经分离核酸分子、载体或细胞的试剂盒。

[0118] 在一些实施例中,本发明提供用于诊断罹患CD19相关疾病或有其素因的个体,或用于提供个体的病状的预后的试剂盒,所述试剂盒包含用于检测来自测试个体的样品中存在的CD19的浓度的检测构件,其中检测构件包含各自任选地衍生的如本文所描述的人类抗体药剂、如本文所描述的双专一性结合剂、如本文所描述的嵌合抗原受体或如本文所描述的免疫效应细胞的抗原结合位点,其中样品中CD19的存在指示个体罹患CD19相关疾病。

[0119] 在一些实施例中,本发明提供包含如本文所描述的经分离核酸分子的疫苗。

[0120] 在一些实施例中,本发明提供包含如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌合抗原受体的组合物。在某些实施例中,如本文所描述的组合物的人类抗体药剂或双专一性抗体与细胞毒性剂或部分结合。

[0121] 在一些实施例中,本发明提供包含如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体、嵌合抗原受体或表达嵌合抗原受体的免疫细胞(或其群体),且更包含医药学上可接受的载剂或稀释剂的医药组合物。

[0122] 在一些实施例中,本发明提供产生如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌合抗原受体(或表达嵌合抗原受体的细胞)的方法,其包含在培养基中在允许表达人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌合抗原受体(或表达嵌合抗原受体的细胞)的条件下培养如本文所描述的细胞,且自培养基分离人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌合抗原受体(或表达嵌合抗原受体的细胞)的步骤。

[0123] 在一些实施例中,本发明提供治疗个体的以CD19表达为特征的医学病状的方法,其包含向所述个体投与治疗有效量的如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体、嵌合抗原受体(或表达嵌合抗原受体的免疫效应细胞)、核酸分子或载体的步骤。

[0124] 在一些实施例中,以CD19表达为特征的医学病状是B细胞淋巴瘤、急性淋巴母细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)或急性骨髓性白血病。

[0125] 在一些实施例中,以CD19表达为特征的医学病状是类风湿性关节炎(RA)、全身性红斑性狼疮症(SLE)、糖尿病或硬皮病。

[0126] 在一些实施例中,本发明提供治疗癌症的方法,所述方法包含向个体投与如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体、嵌合抗原受体(或表达嵌合抗原受体的免疫效应细胞)、核酸分子或载体的步骤。

[0127] 在一些实施例中,本发明提供抑制肿瘤生长的方法,所述方法包含使肿瘤细胞与双专一性抗体(或如本文所描述的人类抗体药剂、如本文所描述的嵌合抗原受体或如本文所描述的免疫效应细胞、如本文所描述的核酸分子或如本文所描述的载体)接触的步骤,所述双专一性抗体由基于如本文所描述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点和结合免疫细胞的第二抗原结合位点构成,接触在足以使得观察到肿瘤细胞杀死(或双专一性抗体结合的免疫细胞抑制肿瘤细胞生长)的条件和时间下进行。

[0128] 在一些实施例中,本发明提供杀死肿瘤细胞的方法,所述方法包含使肿瘤细胞与双专一性抗体(或如本文所描述的人类抗体药剂、如本文所描述的嵌合抗原受体或如本文所描述的免疫效应细胞、如本文所描述的核酸分子或如本文所描述的载体)接触的步骤,所述双专一性抗体由基于如本文所描述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点和结合免疫细胞的第二抗原结合位点构成,接触在足以使得观察到肿瘤细胞生长抑制(或双专一性抗体结合的免疫细胞介导肿瘤细胞的杀死)的条件和时间下进行。

[0129] 在一些实施例中,本发明提供诊断个体的以CD19表达为特征的医学病状的方法,所述方法包含投与如本文所描述的抗体药剂(或如本文所描述的双专一性抗体或嵌合抗原受体),且测量所述抗体药剂(或双专一性抗体或嵌合抗原受体)与所述个体中的表达CD19的细胞的结合的步骤。

[0130] 在诊断医学病状的方法的一些实施例中,所述方法更包含测量所述个体的一或多个细胞的一或多种活性的步骤。在某些实施例中,一或多种活性包括细胞生长和/或细胞凋亡。

[0131] 在一些实施例中,本发明提供由基于如本文所描述的人类抗体药剂的第一抗原结

合 位点和结合免疫细胞的第二抗原结合位点构成的双专一性抗体用于抑制肿瘤生长。

[0132] 在一些实施例中,本发明提供由基于如本文所描述的人类抗体药剂的第一抗原结合 位点和结合免疫细胞的第二抗原结合位点构成的双专一性抗体用于杀死肿瘤细胞。

[0133] 在一些实施例中,免疫细胞是T细胞或NK细胞。

[0134] 在一些实施例中,第一和第二抗原结合位点是scFv。

[0135] 在一些实施例中,第二抗原结合位点结合T细胞上的CD3。

[0136] 在一些实施例中,本发明提供引导T细胞杀死表达CD19的标靶细胞的方法,所述方法包含使一或多个表达CD19的标靶细胞与一或多个T细胞和/或双专一性抗体(或如 本文所描述的人类抗体药剂、如本文所描述的嵌合抗原受体或如本文所描述的免疫效应 细胞) 接触的步骤,所述双专一性抗体包含如本文所描述的人类抗体药剂的第一抗原结合 位点和结合T细胞上的CD3的第二抗原结合位点,接触在足以使得双专一性抗体结合 的T细胞介导表达CD19的标靶细胞的杀死的条件和时间下进行。在某些实施例中,第 一和第二抗原结合位点是scFv。

[0137] 在一些实施例中,本发明提供由基于如本文所描述的人类抗体药剂的第一抗原结 合 位点和结合T细胞上的CD3的第二抗原结合位点构成的双专一性抗体用于引导T细胞 杀死表达CD19的标靶细胞。

[0138] 在各种实施例中,连接序列是或包含  $(G_4S)_n$  序列。在一些实施例中,n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多。

[0139] 在各种实施例中,连接序列是或包含SRGGGSGGGSGGGGSLEMA (SEQ ID NO:289)。

[0140] 在各种实施例中,CD19是人类CD19。

[0141] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌 合 抗原受体(或表达嵌合抗原受体的免疫效应细胞)用于治疗或检测与CD19表达相关的病 状的用途。

[0142] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌 合 抗原受体(或表达嵌合抗原受体的免疫效应细胞)在制造用于药物的药剂中的用途。

[0143] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌 合 抗原受体(或表达嵌合抗原受体的免疫效应细胞)在制造用于诊断测试或分析的药剂中 的 用途。

[0144] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌 合 抗原受体(或表达嵌合抗原受体的免疫效应细胞)在制造用于诊断或治疗癌症的药剂中 的 用途。

[0145] 在一些实施例中,本发明提供如本文所描述的人类抗体药剂、双专一性抗体或嵌 合 抗原受体(或表达嵌合抗原受体的免疫效应细胞)在制造用于诊断或治疗以CD19表达为 特征的医学病状的药剂中的用途。

## 附图说明

[0146] 本文中包括的由以下诸图构成的图式仅出于说明的目的而非限制。

[0147] 图1显示对于所选抗CD19人类抗体药剂,对人类CD19的代表性噬菌体克隆结合。图1A显示重组人类CD19-Fc的代表性噬菌体克隆结合(以OD<sub>450</sub>)。图1B显示在细胞表 面表达

的人类CD19的代表性噬菌体克隆结合(以平均荧光强度,MFI)。对照1:非CD19 结合噬菌体 scFv抗体克隆;对照2:市售小鼠抗人类CD19抗体(Biolegend);对照3: 仅二级抗体。

[0148] 图2显示在流式细胞测量术分析中对于所选抗CD19人类抗体药剂,人类CD19阳性 Raji细胞(Raji)、CD19基因剔除Raji细胞(Raji-CD19k.o.)和人类CD19阴性Jurkat细胞(Jurkat)的噬菌体克隆结合的代表性平均荧光强度(MFI)。对照1:仅二级抗体,包括抗 M13 小鼠抗体和PE标记的抗小鼠抗体。

[0149] 图3显示SDS-PAGE的代表性图像,其说明实例2中描述的所选双专一性抗体。在凝胶图像的顶部指示泳道号。泳道1:标记物;泳道2:使用克隆2的CD19×CD3双专一性抗体;泳道3:使用克隆3的CD19×CD3双专一性抗体;泳道4:使用克隆4的 CD19×CD3双专一性抗体;泳道5:使用克隆37的CD19×CD3双专一性抗体;泳道6: BL19(比较双专一性抗体;参见美国专利第7,635,472号的SEQ ID NO:30)。

[0150] 图4显示随时间(x轴,秒)例示性双专一性抗体分子与重组人类CD19ECD-Fc融合蛋白的结合(y轴,nm)的代表性octet结合/解离曲线。在各感测器图谱上方指示动力学步骤(由垂直虚线隔开)。a:基线;b:经生物素标记的人类CD19-Fc(5μg/mL);c:再平衡;d:与人类CD19-Fc结合的抗体(10μg/mL);e:抗体解离。测试的双专一性抗体包括基于噬菌体克隆4、5、6、7、37的CD19×CD3双专一性抗体和BL19(比较双专一性抗体;参见美国专利第7,635,472号的SEQ ID NO:30)。

[0151] 图5A显示用CD20(y轴)和CD3(x轴)染色的人类PBMC的代表性流式细胞测量术分析和用于分析图5B中的双专一性抗体结合的B细胞群体分选。

[0152] 图5B显示基于克隆4、5、6和37的例示性双专一性抗体分子对各种细胞系的代表性癌细胞杀死(专一性细胞溶解%,y轴)。

[0153] 图6A显示通过所选亲本抗体噬菌体克隆的亲和力成熟产生的例示性变异抗体噬菌体克隆的代表性细胞结合(如通过MFI在流式细胞测量术分析中所测量)。变异克隆用连字符表示(即克隆5-1、5-3、5-4等来源于亲本克隆5;克隆6-1、6-2等来源于亲本克隆6)。星号:不测试克隆5-13与Jeko-1、Raji-CD19k.o.或Jurkat细胞系的结合。

[0154] 图6B显示与各别亲本克隆与Raji细胞的结合相比,所选变异抗体噬菌体克隆的代表性细胞结合。变异克隆用连字符标注,即克隆5-1、5-3、5-4等来源于亲本克隆5;克隆6-1、6-2等来源于亲本克隆6。虚线指示在对应双专一性抗体的竞争性结合下,各别亲本克隆的背景结合。

[0155] 图7A显示SDS-PAGE的代表性图像,其说明由实例4中描述的亲和力成熟的抗体噬菌体克隆构筑的所选双专一性抗体。在各泳道上方指示克隆号。

[0156] 图7B显示由亲和力成熟的抗CD19人类抗体药剂构筑的所选双专一性抗体分子对各种细胞系的代表性癌细胞杀死(专一性细胞溶解%,y轴)。

[0157] 图8显示由抗CD19人类抗体药剂产生的所选嵌合抗原受体表达T细胞(CAR-T)对各种细胞系的代表性癌细胞杀死(专一性细胞溶解%,y轴)。靶细胞系(CD19<sup>+</sup>)包括Raji和Jeko-1;阴性对照细胞系(CD19<sup>-</sup>)包括Jurkat和Raji-CD19k.o.细胞;BL19:基于美国专利第7,635,472号的SEQ ID NO:30的比较CAR;FMC63:基于基因库寄存号 DD064902,美国专利第7,446,179号的比较CAR;对照:模拟转导的T细胞。

[0158] 图9显示使用所选抗CD19CAR-T或对照T细胞(模拟转导)进行的各种癌细胞系的

代表性CAR表达(上图)和活体外细胞杀死(下图)。CD19<sup>+</sup>细胞:Raji、CA46、Jeko-1和 Daudi; CD19<sup>-</sup>细胞:Raji-CD19K0(即Raji-CD19k.o.)、Jurkat、THP-1、HeLa、MDA-MB-231、MCF-7、SK-Hep-1和HepG2。

[0159] 图10显示在与各种CD19<sup>+</sup>(Raji、CA46)和CD19<sup>-</sup>(Raji-K/0,即Raji-CD19k.o.、Jurkat)细胞系共培养之后,模拟转导的T细胞(模拟)或用抗CD19CAR转导的T细胞(Car,基于克隆5-3)的代表性细胞因子释放。

[0160] 图11显示在NSG小鼠中活体内肿瘤生长通过基于抗CD19人类抗体药剂克隆5-9的例示性抗CD19CAR-T的代表性抑制。左边:来自肿瘤携带NSG小鼠的光子发射的代表性动力学,由曲线下面积(AUC)呈现和分析;右边:在第3周时来自每个处理组的Raji-luc-GFP肿瘤携带小鼠的代表性光子发射图像。

[0161] 图12显示3T3(左边)和Raji(右边)衍生细胞系中的CD19表达的FAC直方图。

[0162] 图13显示来自用基于抗CD19人类抗体药剂克隆5-13的例示性抗CD19CAR-T处理的NSG小鼠中的Raji淋巴瘤异种移植物的代表性源自肿瘤的生物发光。图13A:来自用以下处理一次的NSG小鼠中的Raji淋巴瘤异种移植物的源自肿瘤的生物发光的代表性彩虹图像:磷酸盐缓冲盐水(媒剂,n=5),在无CAR编码构筑体的情况下转导的T细胞(模拟,n=6),或用编码抗CD19CAR-T克隆5-13的构筑体转导的T细胞(CAR-T 5-13,n=7;每只小鼠 $5 \times 10^6$ 个CAR<sup>+</sup>T细胞;天数是在肿瘤植入后;在第5天进行给药)。灰阶转换热图指示肿瘤位置处的总光子/秒,其以在小鼠图像上重叠的深色点显现;图13B:模拟和CAR-T 5-13处理组的肿瘤生长的代表性定量,其呈现是总通量(p/s)对在NSG小鼠中植入Raji淋巴瘤异种移植物的天数;C:模拟和CAR-T 5-13处理组的肿瘤生长的代表性定量,其呈现是总通量(p/s)对在初始植入和处理(n=3,在初始植入后35天每只小鼠注射 $0.5 \times 10^6$ 个Raji细胞)后七周在用肿瘤细胞再攻击的NSG小鼠中再攻击后的天数。在注射 $1 \times 10^6$ 个模拟转导的T细胞作为对照后一天,向未处理小鼠(n=2)植入Raji细胞。

[0163] 图14显示来自用基于抗CD19人类抗体药剂克隆5-13的例示性抗CD19CAR-T处理的NSG小鼠中的NALM-6白血病异种移植物的代表性源自肿瘤的生物发光。图14A:来自用以下处理一次的NSG小鼠中的NALM-6白血病异种移植物的源自肿瘤的生物发光的代表性彩虹图像:磷酸盐缓冲盐水(媒剂,n=6),在无CAR编码构筑体的情况下转导的T细胞(模拟,n=6),或用编码抗CD19CAR-T克隆5-13的构筑体转导的T细胞(CAR-T 5-13,n=6;每只小鼠 $5 \times 10^6$ 个CAR<sup>+</sup>T细胞;天数是在肿瘤植入后;在第5天进行给药);图14B:媒剂、模拟和CAR-T 5-13处理组的肿瘤生长的代表性定量,呈现是总通量(p/s)对在NSG小鼠中植入NALM-6白血病异种移植物的天数。

[0164] 图15显示使用所选抗CD19CAR-T或对照T细胞(模拟转导)进行的各种癌细胞系的代表性CAR表达(下图)和活体外细胞杀死(上图)。CD19<sup>+</sup>细胞:Raji、IM9和Jeko-1;CD19<sup>-</sup>细胞:Raji-CD19K0(即Raji-CD19k.o.)和THP-1。

## 具体实施方式

[0165] 定义

[0166] 本发明的范围由所附权利要求书界定且不受本文中描述的具体实施例限制;所属领域的技术人员阅读本发明,将知道可等效于这类所描述的实施例,或以其它方式在权利

要求书的范围内的各种修改。

[0167] 一般来说,除非另外明确指示,否则本文所用的术语是根据其在所属领域中所理解的含义。以下提供某些术语的明确定义;所属领域的技术人员将从上下文了解这些和其它术语在具体情况下在本说明书通篇中的含义。

[0168] 为了使本发明可更易于理解,首先在下文对某些术语进行定义。以下术语和其它术语的额外定义贯穿本说明书阐述。

[0169] 投药:如本文所用,术语“投药”是指向个体或系统(例如向细胞、器官、组织、生物体或其相关组分或一组组分)投与组合物。一般技术人员将了解投药途径可例如视组合物投与的个体或系统、组合物的性质、投药目的等而变化。举例来说,在某些实施例中,向动物个体(例如向人类)投与可以是支气管(包括通过支气管滴注)、经颊、经肠、皮间、动脉内、皮内、胃内、肝内、髓内、肌肉内、鼻内、腹膜内、鞘内、瘤内、静脉内、室内、经粘膜、经鼻、经口、经直肠、皮下、舌下、局部、气管(包括通过气管内滴注)、经皮、经阴道和/或玻璃体。在一些实施例中,投药可涉及间歇性给药。在一些实施例中,投药可涉及持续给药(例如灌注)持续至少所选时间段。

[0170] 亲和力:如所属领域中已知,“亲和力”是具体配位体与其搭配物的结合的紧密性的量度。亲和力可以不同方式测量。在一些实施例中,亲和力通过定量分析测量。在一些这类实施例中,结合搭配物浓度可固定成超过配位体浓度以模拟生理条件。或者或另外,在一些实施例中,结合搭配物浓度和/或配位体浓度可变化。在一些这类实施例中,亲和力可在可比条件(例如浓度)下与参考物进行比较。

[0171] 亲和力成熟(或亲和力成熟抗体):如本文所用,是指在其一或多个CDR(或在一些实施例中,构架区)中具有一或多种变化的抗体,与不具有这些变化的亲本抗体相比,所述变化引起抗体对抗原的亲和力改良。在一些实施例中,亲和力成熟抗体将对靶抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔的亲和力。亲和力成熟抗体可通过所属领域中已知的多种程序中的任一个产生。马克思(Marks)等人,1992,生物技术(BioTechnology) 10:779-783描述通过 $V_H$ 和 $V_L$ 域改组的亲和力成熟。CDR和/或构架残基的随机突变诱发由以下描述:巴尔巴斯(Barbas)等人,1994,美国科学院院刊(Proc.Nat.Acad.Sci.,U.S.A.) 91:3809-3813;希尔(Schier)等人,1995,基因学(Gene) 169:147-155;伊尔顿(Yelton)等人,1995,免疫学杂志(J.Immunol.) 155:1994-2004;杰克逊(Jackson)等人,1995,免疫学杂志 154(7):3310-9;和霍金斯(Hawkins)等人,1992,分子生物学杂志(J.Mol.Biol.) 226:889-896。具有改良的结合特性的结合剂的选择由蒂(Thie)等人,2009,分子生物学方法(Methods Mol.Bio.) 525:309-22描述。

[0172] 药剂:如本文所用,可指任何化学类别的化合物或实体,包括(例如)多肽、核酸、糖、脂质、小分子、金属或其组合。在一些实施例中,药剂是或包含天然产物,因为其在自然界中发现和/或从自然界获得。在一些实施例中,药剂是或包含一或多种人造实体,因为其经由人工操作来设计、工程改造和/或产生和/或在自然界中未发现。在一些实施例中,药剂可以经分离或纯形式利用;在一些实施例中,药剂可以粗物质形式利用。在一些实施例中,以集合或库的形式提供潜在药剂,例如其可经筛选以鉴定或表征其内的活性剂。可根据本发明利用的药剂的一些具体实施例包括小分子、抗体、抗体片段、适配体、核酸(例如 siRNA、shRNA、DNA/RNA混合物、反义寡核苷酸、核糖核酸酶)、肽、肽模拟物等。在一些实施

例中,药剂是或包含聚合物。在一些实施例中,药剂不是聚合物和/或基本上不含任何聚合物。在一些实施例中,药剂含有至少一个聚合部分。在一些实施例中,药剂缺乏或基本上不含任何聚合部分。

[0173] 改善:如本文所用,是指预防、减少或缓和个体的病况,或改良病况。改善包括(但不要求)疾病、病症或病状(例如辐射损伤)的完全恢复或完全预防。

[0174] 氨基酸:如本文所用,术语“氨基酸”在其最广泛意义上是指可并入多肽链中的任何化合物和/或物质。在一些实施例中,氨基酸具有通式结构 $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{H})(\text{R})-\text{COOH}$ 。在一些实施例中,氨基酸是天然存在的氨基酸。在一些实施例中,氨基酸是合成氨基酸;在一些实施例中,氨基酸是d-氨基酸;在一些实施例中,氨基酸是l-氨基酸。“标准氨基酸”是指通常发现于天然存在的肽中的二十种标准l-氨基酸中的任一种。“非标准氨基酸”是指除标准氨基酸以外的任何氨基酸,不管其以合成方式制备或获自天然来源。如本文所用,“合成氨基酸”涵盖经化学修饰的氨基酸,包括(但不限于)盐、氨基酸衍生物(如酰胺)和/或取代物。氨基酸,包括肽中的羧基和/或氨基端氨基酸,可通过甲基化、酰胺化、乙酰化、保护基和/或用可改变肽的循环半衰期而不会不利地影响其活性的其它化学基团进行的取代来修饰。氨基酸可参与二硫键。氨基酸可包含一或多个翻译后修饰,如与一或多个化学实体(例如甲基、乙酸酯基、乙酰基、磷酸酯基、甲酰基部分、类异戊二烯基、硫酸酯基、聚乙二醇部分、脂质部分、碳水化合物部分、生物素部分等)结合。术语“氨基酸”可与“氨基酸残基”互换使用,且可指游离氨基酸和/或肽的氨基酸残基。将从使用术语的上下文显而易见其是指游离氨基酸或肽的残基。

[0175] 动物:如本文所用是指动物界的任何成员。在一些实施例中,“动物”是指任一性别且处于任何发育阶段的人类。在一些实施例中,“动物”是指任何发育阶段的非人类动物。在某些实施例中,非人类动物是哺乳动物(例如啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、羊、牛、灵长类动物和/或猪)。在一些实施例中,动物包括(但不限于)哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物、鱼类、昆虫和/或蠕虫。在一些实施例中,动物可以是转殖基因动物、基因工程改造动物和/或克隆。

[0176] 抗体:如本文所用,具有其在技术中理解的含义且是指专一性结合于具体抗原的免疫球蛋白(Ig)。如一般技术人员所已知,自然界中产生的抗体通常由四个多肽链,两个重(H)链和两个轻(L)链构成。各重链和轻链由可变区(本文中分别缩写是 $\text{H}_\text{CV}$ 或 $\text{V}_\text{H}$ 和 $\text{L}_\text{CV}$ 或 $\text{V}_\text{L}$ )和恒定区构成。重链的恒定区包含 $\text{C}_\text{H}1$ 、 $\text{C}_\text{H}2$ 和 $\text{C}_\text{H}3$ 域(和在IgM和IgE的情况下,任选地存在的 $\text{C}_\text{H}4$ 域)。轻链的恒定区由一个域 $\text{C}_\text{L}$ 构成。 $\text{V}_\text{H}$ 和 $\text{V}_\text{L}$ 区更含有高变区,称为互补决定区(CDR),穿插有称为构架区(FR)的更保守区。每个 $\text{V}_\text{H}$ 和 $\text{V}_\text{L}$ 由从氨基端到羧基端按以下顺序排列的三个CDR和四个FR构成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。免疫球蛋白分子可具有任何类型(例如IgM、IgD、IgG、IgA和IgE)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或子类。

[0177] 抗体药剂:如本文所用,术语“抗体药剂”是指专一性结合于具体抗原的药剂。在一些实施例中,所述术语涵盖任何具有足以赋予专一性结合的免疫球蛋白结构元件的多肽。在各种实施例中,适合的抗体药剂可包括(但不限于)单克隆抗体、多克隆抗体、人类化抗体、灵长类化抗体、嵌合抗体、人类抗体、双专一性或多专一性抗体、单域抗体(例如鲨鱼单域抗体(例如IgNAR或其片段))、结合抗体(即与其它蛋白质、放射性标记、细胞毒素结合



或融合的抗体)、小模块免疫药物(“SMIPsTM”)、单链抗体、骆驼科动物 抗体、抗体片段等。在一些实施例中,所述术语可指订书肽。在一些实施例中,所述术语可指抗体样结合肽模拟物。在一些实施例中,术语可指抗体样结合骨架蛋白质。在一些实施例中,术语可指单功能抗体或阿德奈汀(adnectin)。在许多实施例中,抗体药剂是或包含氨基酸序列包括一或多个由所属领域的技术人员识别为互补决定区(CDR)的结构元件的多肽;在一些实施例中,抗体药剂是或包含氨基酸序列包括至少一个与在参考抗体(例如亲本抗体)中发现的CDR基本上一致的CDR(例如至少一个重链CDR和/或至少一个轻链CDR)的多肽。在一些实施例中,所包括的CDR与参考CDR基本上一致,其中其在序列上相同或如与参考CDR相比含有1-5个之间的氨基酸取代。在一些实施例中,所包括的CDR与参考CDR基本上一致,其中其显示与参考CDR的至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些实施例中,所包括的CDR与参考CDR基本上一致,其中其显示与参考CDR的至少96%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些实施例中,所包括的CDR与参考CDR基本上一致,其中如与参考CDR相比所包括的CDR内的至少一个氨基酸缺失、添加或经取代,否则所包括的CDR具有与参考CDR一致的氨基酸序列。在一些实施例中,所包括的CDR与参考CDR基本上一致,其中如与参考CDR相比所包括的CDR内的1-5个氨基酸缺失、添加或经取代,否则所包括的CDR具有与参考CDR一致的氨基酸序列。在一些实施例中,所包括的CDR与参考CDR基本上一致,其中如与参考CDR相比所包括的CDR内的至少一个氨基酸经取代,否则所包括的CDR具有与参考CDR一致的氨基酸序列。在一些实施例中,所包括的CDR与参考CDR基本上一致,其中如与参考CDR相比所包括的CDR内的1-5个氨基酸经取代,否则所包括的CDR具有与参考CDR一致的氨基酸序列。在一些实施例中,抗体药剂是或包含氨基酸序列包括由所属领域的技术人员识别为免疫球蛋白可变域的结构元件的多肽。在一些实施例中,抗体药剂是具有与免疫球蛋白-结合域同源或基本上同源的结合域的多肽蛋白质。在一些实施例中,抗体药剂是或包含多肽,其包括在具体参考抗体链(例如重链和/或轻链)中发现的所有CDR。

[0178] 抗体组分:如本文所用,是指专一性结合于抗原决定基或抗原且包括一或多个免疫球蛋白结构特征的多肽元件(可以是完整多肽,或较大多肽的一部分,如本文所描述的融合多肽)。一般来说,抗体组分是氨基酸序列包括抗体结合区(例如抗体轻链或可变区或其一或多个互补决定区(“CDR”),或抗体重链或可变区或其一或多个CDR,任选地在一或多个构架区存在下)所特有的元件的任何多肽。在一些实施例中,抗体组分是或包含全长抗体。在一些实施例中,抗体组分小于全长但包括至少一个结合位点(包含至少一个,且优选至少两个具有已知抗体“可变区”的结构的序列)。在一些实施例中,术语“抗体组分”涵盖任何具有与免疫球蛋白-结合域同源或基本上同源的结合域的蛋白质。在具体实施例中,所包括的“抗体组分”涵盖具有显示与免疫球蛋白-结合域的至少99%一致性的结合域的多肽。在一些实施例中,所包括的“抗体组分”是具有显示与免疫球蛋白-结合域(例如参考免疫球蛋白-结合域)的至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或98%一致性的结合域的任何多肽。所包括的“抗体组分”可具有与在天然来源中发现的抗体(或其一部分,例如其抗原结合部分)一致的氨基酸序列。抗体组分可以是单专一性、双专一性或多专一性。抗体组分可包括任何免疫球蛋白类别所特有的结构元件,所述类别包括以下人类类别中的一种:IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。已显示抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段来进行。

这类抗体实施例也可以是双专一性、双重专一性或多专一性形式；专一性结合于两个或多个不同抗原。术语抗体的“抗原结合部分”内涵的结合片段的实例包括(i) Fab片段，其是由 $V_H$ 、 $V_L$ 、 $C_H1$ 和 $C_L$ 域组成的单价片段；(ii)  $F(ab')_2$ 片段，其是包含两个在铰链区由二硫桥键连接的Fab片段的二价片段；(iii) 由 $V_H$ 和 $C_H1$ 域组成的Fd片段；(iv) 由抗体单臂的 $V_H$ 和 $V_L$ 域组成的Fv片段，(v) dAb片段(沃德(Ward)等人, 1989, 自然(Nature) 341:544-546)，其包含单一可变域；和(vi) 经分离的互补决定区(CDR)。此外，虽然Fv片段的两个域 $V_H$ 和 $V_L$ 由各别基因编码，但其可使用重组方法通过合成连接子接合，所述连接子能够将其制成 $V_H$ 和 $V_L$ 区配对形成单价分子的单一蛋白质链(称为单链Fv(scFv)；参见例如伯德(Bird)等人, 1988, 科学(Science) 242:423-426；和赫斯顿(Huston)等人, 1988, 美国科学院院刊85:5879-5883)。在一些实施例中，如本文所描述的“抗体组分”是或包含这类单链抗体。在一些实施例中，“抗体组分”是或包含双功能抗体。双功能抗体是二价双专一性抗体，其中 $V_H$ 和 $V_L$ 域在单一多肽链上表达，但使用过短而使在同一链上的两个域之间不配对的连接子，进而迫使域与另一链的互补域配对且产生两个抗原结合位点(参见例如霍利格(Holliger, P.)等人, 1993, 美国科学院院刊90:6444-6448；波利亚克(Poljak, R.J.)等人, 1994, 结构学(Structure) 2:1121-1123)。这类抗体结合部分在所属领域中已知(孔特曼(Kontermann)和杜贝尔(Dubel)编, 抗体工程(Antibody Engineering), 2001, 施普林格出版公司(Springer-Verlag). 纽约(New York). 第790页ISBN 3-540-41354-5)。在一些实施例中，抗体组分是或包含单链“线抗体”，其包含一对串联Fv区段( $V_H-C_H1-V_H-C_H1$ )，所述区段连同互补轻链多肽一起形成一对抗原结合区(萨帕塔(Zapata)等人, 1995, 蛋白质工程(Protein Eng.) 8(10):1057-1062；和美国专利第5,641,870号)。在一些实施例中，抗体组分可以具有嵌合、人类化或人类抗体所特有的结构元件。一般来说，人类化抗体是人类免疫球蛋白(接受者抗体)，其中来自接受者的互补决定区(CDR)的残基经具有所要专一性、亲和力和能力的来自非人类物种(供体抗体)(如小鼠、大鼠或兔)的CDR的残基置换。在一些实施例中，抗体组分可具有人类抗体所特有的结构元件。在一些实施例中，抗体组分可包括于嵌合分子中，所述嵌合分子更包含一或多个其它多肽或多肽片段(例如信号传导组分、跨膜组分等)。

[0179] 抗体片段：如本文所用，“抗体片段”包括完整抗体的一部分，如抗体的抗原结合或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、 $F(ab')_2$ 和Fv片段；三功能抗体；四功能抗体；线抗体；单链抗体分子；和由抗体片段形成的多专一性抗体中包括的含CDR部分。所属领域的技术人员应了解术语“抗体片段”不暗示且不限于任何具体产生模式。抗体片段可经由使用任何合适方法产生，包括(但不限于)裂解完整抗体、化学合成、重组产生等。

[0180] 抗体多肽：如本文所用，可互换使用的术语“抗体多肽”或“抗体”或“其抗原结合片段”指能够结合于抗原决定基的多肽。在一些实施例中，抗体多肽是全长抗体，且在一些实施例中，小于全长但包括至少一个结合位点(包含至少一个，且优选至少两个具有抗体“可变区”的结构的序列)。在一些实施例中，术语“抗体多肽”涵盖任何具有与免疫球蛋白-结合域同源或基本上同源的结合域的蛋白质。在具体实施例中，“抗体多肽”涵盖具有显示与免疫球蛋白-结合域的至少99%一致性的结合域的多肽。在一些实施例中，“抗体多肽”是具有显示与免疫球蛋白-结合域，例如参考免疫球蛋白-结合域的至少70%、80%、85%、90%或95%一致性的结合域的任何蛋白质。所包括的“抗体多肽”可具有与在天然来源中

发现的抗体一致的氨基酸序列。根据本发明的抗体多肽可通过任何 可用方式制备,包括(例如)从天然来源或抗体库分离、在宿主系统中或用宿主系统进行 重组产生、化学合成等或其组合。抗体多肽可以是单克隆或多克隆。抗体多肽可以是任 何免疫球蛋白类别的成员,所述类别包括以下人类类别中的任一种:IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。在某些实施例中,抗体可以是IgG免疫球蛋白类别的成员。如本文所用,术语“抗体多肽”或“抗体的特征部分”可互换使用且指拥有结合于相关抗原决定基的 能力的任何抗体衍生物。在某些实施例中,“抗体多肽”是保留全长抗体的专一性结合 能力的至少显著部分的抗体片段。抗体片段的实例包括(但不限于)Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、scFv、Fv、dsFv双功能抗体和Fd片段。或者或另外,抗体片段可包含多个例如通过二 硫键连接在一起的链。在一些实施例中,抗体多肽可以是人类抗体。在一些实施例中,抗体多肽可以是人类化抗体。人类化抗体多肽包括/可以是含有来源于非人类免疫球蛋白 的最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或抗体多肽(如Fv、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>或 抗体的其它抗原结合子序列)。一般来说,人类化抗体是人类免疫球蛋白(接受者抗体),其中来自接受者的互补决定区(CDR)的残基经具有所要专一性、亲和力和能力的来自非 人类物种(供体抗体)(如小鼠、大鼠或兔)的CDR的残基置换。

[0181] 抗原结合片段:如本文所用,术语“抗原结合片段”是指抗体的保留结合于抗原的能力的一或多个片段。已显示抗体的抗原结合功能可由完整抗体的片段来进行。术语抗 体的“抗原结合片段”内涵盖的结合片段的实例包括(i) Fab片段,其是由V<sub>L</sub>、V<sub>H</sub>、C<sub>L</sub>和C<sub>H</sub>1域组成的单价片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段,其是包含两个在铰链区由二硫桥键连接的 Fab片段的二价片段;(iii) 由V<sub>H</sub>和C<sub>H</sub>1域组成的Fd片段;(iv) 由抗体单臂的V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>域组成的Fv片段,(v) dAb片段(沃德等人,(1989)自然341:544-546),其由V<sub>H</sub>域组成;(vi) 经分离的互补决定区(CDR),例如包含或不包含额外序列(连接子、构架区等)的V<sub>H</sub> CDR3;和(vii) 两个到六个包含或不包含额外序列(连接子、构架区等)的经分离CDR的 组合。此外,虽然Fv片段的两个域V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>由单独基因编码,其可使用重组方法通过 合成连接子接合,所述连接子能够将其制成V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>区配对形成单价分子的单一多肽链(称为单链Fv(scFv);参见例如伯德等人(1988)结构学242:423-426;和赫斯顿等人(1988)美国科学院院刊85:5879-5883))。这类单链抗体还意图涵盖于术语抗体的“抗原 结合片段”内。此外,抗原结合片段包括结合域免疫球蛋白融合蛋白,其包含(i) 融合至 免疫球蛋白铰链区多肽的结合域多肽(如重链可变区、轻链可变区或经由连接肽融合至轻 链可变区的重链可变区),(ii) 融合至铰链区的免疫球蛋白重链C<sub>H</sub>2恒定区,和(iii) 融合至 C<sub>H</sub>2恒定区的免疫球蛋白重链C<sub>H</sub>3恒定区。铰链区可通过用丝氨酸残基置换一或多个半 胱氨酸残基以便防止二聚来修饰。这类结合域免疫球蛋白融合蛋白进一步公开于美国专 利申请公开案第2003/0118592A1号和美国专利申请公开案第2003/0133939A1号中。使 用所属领域的技术人员已知的常规技术获得抗体片段,且以与完整抗体相同的方式筛选 供使用的片段。此外,抗原结合片段包括二价(或双价)单链可变片段(二scFv、双scFv) 或替代地,可通过标准分子生物方式工程改造的所谓双功能抗体。

[0182] 生物活性:如本文所用,是指通过相关药剂或实体实现的可观察的生物效果或结果。举例来说,在一些实施例中,专一性结合相互作用是生物活性。在一些实施例中,生物路径或事件的调节(例如诱导、增强或抑制)是生物活性。在一些实施例中,生物活性的 存在或程度经由检测通过相关生物路径或事件产生的直接或间接产物来评估。

[0183] 双专一性抗体:如本文所用,是指双专一性结合剂,其中结合部分中的至少一个,

且通常两个是或包含抗体组分。多种不同双专一性抗体结构在所属领域中已知。在一些实施例中,双专一性抗体中是或包含抗体组分的各结合部分包括 $V_H$ 和/或 $V_L$ 区;在一些这类实施例中 $V_H$ 和/或 $V_L$ 区是在具体单克隆抗体中发现的这些区。在一些实施例中,当双专一性抗体含有两个抗体组分-结合部分时,各自包括来自不同单克隆抗体的 $V_H$ 和/或 $V_L$ 区。

[0184] 双专一性结合剂:如本文所用,是指具有两个各别结合部分,其中的每一个结合不同标靶的多肽药剂。在一些实施例中,双专一性结合剂是单一多肽;在一些实施例中,双专一性结合剂是或包含多种肽,其在一些这类实施例中可例如通过交联彼此共价结合。在一些实施例中,双专一性结合剂的两个结合部分识别同一标靶(例如抗原)的不同位点(例如抗原决定基);在一些实施例中,其识别不同标靶。在一些实施例中,双专一性结合剂能够同时结合于两个具有不同结构的标靶。

[0185] 载剂:如本文所用,是指与组合物一起投与的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒剂。在一些例示性实施例中,载剂可包括无菌液体,如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的油,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。在一些实施例中,载剂是或包括一或多种固体组分。

[0186] CDR:如本文所用,是指抗体可变区内的互补决定区。重链和轻链的可变区中各自存在三个CDR,对于每个可变区,所述CDR命名是CDR1、CDR2和CDR3。“一组CDR”或“CDR组”是指一组三个或六个在能够结合抗原的单一可变区中出现的CDR或能够结合抗原的同源重链和轻链可变区的CDR。CDR的边界已视系统而不同地界定,其中数种在所属领域中已知(例如Kabat、Chothia、IMGT等)。

[0187] 嵌合抗原受体(CAR):本发明的抗体药剂(包括单链可变片段(scFv))可用于制备嵌合抗原受体,其制备和使用在所属领域中大体上已知。嵌合抗原受体(CAR)通常是含有scFv或其它抗体药剂的抗原结合域,连接到免疫细胞(例如T细胞或NK细胞)信号传导域的人工构筑的混合蛋白质或多肽。CAR的特征包括其以MHC限制(在TCR-模拟抗体的情况下)或非MHC限制(在针对细胞表面蛋白质的抗体的情况下)方式,利用单克隆抗体的抗原结合特性重新引导免疫细胞(例如T细胞或NK细胞)对所选标靶的专一性和反应性的能力。非MHC限制抗原识别给予表达CAR的免疫细胞(例如T细胞或NK细胞)识别与抗原处理无关的抗原的能力,因此略过肿瘤逃避的主要机制。

[0188] 嵌合抗原受体(CAR)疗法(或授受细胞疗法):如本文所用,是指使用嵌合抗原受体用于治疗性处理,包括(例如)用于授受细胞疗法。授受细胞疗法是治疗性方法,其通常包括分离和离体扩增和/或处理免疫细胞(例如NK细胞或T细胞)且随后向患者投与这些细胞例如以便治疗癌症。投与的细胞可以是自体或同种异体。细胞可经处理来以已知方式中的任一种表达嵌合抗原受体,包括(例如)通过使用RNA和DNA转染、病毒转导、电穿孔,其皆是所属领域中已知的技术。

[0189] 相当:如本文所用,是指两种或多于两种药剂、实体、情况、病状组等可彼此不一致但充分类似以允许在其之间进行比较以使得可基于观察的差异或类似性合理地得出结论。在一些实施例中,相当病状组、情形、个体或群体的特征在于多个基本上一致的特征和一个或少数不同特征。一般技术人员将在上下文中理解在任何给定情形中两种或多于两种这类药剂、实体、情况、病状组等视为相当所需要的一致性程度。举例来说,一般技术人员应了解,当通过保证在不同情形组、个体或群体下或在所述情况下获得的结果或观察的

现象中的差异由变化的这些特征的变化引起或表明所述变化的合理结论 的足够数目和类型的基本上一致特征表征时,情形组、个体或群体彼此相当。

[0190] 对照:如本文所用,是指所属领域中理解的如下含义:“对照”是结果与其比较的标准物。通常,对照用于通过分离变量以便得出关于这类变量的结论来强化实验的完整性。在一些实施例中,对照是与测试反应或分析同时进行以提供比较的反应或分析。如 本文所用,“对照”可指“对照抗体”。“对照抗体”可以是如本文所描述的人类、嵌合、人类化、CDR移植、多专一性或双专一性抗体;与本文所描述不同的抗体;抗体片段或 抗体组分;或亲本抗体。在一个实验中,应用“测试”(即测试的变量)。在第二实验中,不应用“对照”(测试的变量)。在一些实施例中,对照是历史对照(即先前进行的测试或 分析的对照,或先前已知的量或结果)。在一些实施例中,对照是或包含印刷或以其它方 式保存的记录。对照可以是阳性对照或阴性对照。

[0191] 对应于:如本文所用,表示氨基酸残基在相关多肽中的位置/一致性。一般技术人员 将了解出于简单性的目的,多肽中的残基通常使用典型编号系统基于参考相关多肽命名,以使得“对应于”位置190处的残基的氨基酸例如无需实际上是具体氨基酸链中的 第190个氨基酸,而是对应于在参考多肽中的190处发现的残基;一般技术人员容易了 解如何鉴定“对应”氨基酸。

[0192] 检测实体/检测剂:如本文所用,是指可检测的任何元件、分子、官能团、化合物、片段或部分。在一些实施例中,单独提供或利用检测实体。在一些实施例中,检测实体 与另一药剂结合(例如与其接合)提供和/或利用。检测实体的实例包括(但不限于):各种 配位体、放射性核种(例如 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{19}\text{F}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{135}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{187}\text{Re}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ 等)、荧光染料(关于专一性例示性荧光染料,参见以下)、化学发光剂(如吖啶酯、稳定二氧杂环丁烷等)、生物发光剂、光谱可解析无机荧光半导 体纳米晶(即量子点)、金属纳米粒子(例如金、银、铜、铂等)纳米簇、顺磁金属离子、酶 (关于酶的具体实例,参见以下)、比色标签(如染料、胶态金等)、生物素、洋地黄毒苷、半抗原和可获得免疫血清或单克隆抗体的蛋白质。

[0193] 效应功能:如本文所用,指由抗体Fc区与Fc受体或配位体的相互作用引起的生物化学事件。效应功能包括(但不限于)抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖 性细胞介导的吞噬作用(ADCP)和补体介导的细胞毒性(CMC)。在一些实施例中,效应功 能是在结合抗原的后操作的功能,独立于抗原结合操作的功能,或两者。

[0194] 效应细胞:如本文所用,是指介导一或多种效应功能的免疫系统细胞。在一些实施 例中,效应细胞可包括(但可不限于)以下中的一或多个:单核细胞、巨噬细胞、嗜中性 白血球、树突状细胞、嗜伊红血球、肥大细胞、血小板、大颗粒淋巴细胞、兰格汉氏细 胞(Langerhans' cell)、自然杀手(NK)细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞且可来自任何生物体, 包括(但不限于)人类、小鼠、大鼠、兔和猴。

[0195] 工程改造:如本文所用,一般指已经人工处理的方面。举例来说,在一些实施例中, 当两个或多于两个不以自然界中的顺序连接在一起的序列经人工处理以在工程改造聚 核苷酸中彼此直接连接时,所述聚核苷酸可视为经“工程改造”。在一些这类具体实施 例中,工程改造聚核苷酸可包含发现本质上与第一编码序列可操作结合但不与第二编码 序列可操作结合,通过人工连接以使得其与第二编码序列可操作地结合的调节序列。或 者或另

外,在一些实施例中,每个编码多肽元件或域的本质彼此不连接的第一和第二 核酸序列可在单一工程改造聚核苷酸中彼此连接。类似地,在一些实施例中,如果细胞 或生物体已经处理以使得其基因信息改变(例如已经引入先前不存在的新颖遗传物质或 先前存在的遗传物质已经改变或移除),则其可视为经“工程改造”。作为惯例且如一般 技术人员所理解,工程改造聚核苷酸或细胞的后代通常仍称为“工程改造”,即使实际 处理是对先前实体进行。此外,如所属领域的技术人员将了解,可使用多种可实现如本 文所描述的“工程改造”的方法。举例来说,在一些实施例中,“工程改造”可涉及经 由使用经编程以执行分析或比较或另外分析、推荐和/或选择序列、变化等的计算机系统 来选择或设计(例如选择或设计核酸序列、多肽序列、细胞、组织和/或生物体)。或者或 另外,在一些实施例中,“工程改造”可涉及使用活体外化学合成方法和/或重组核酸技 术,如核酸扩增(例如经由聚合酶链反应)、杂交、突变、转形、转染等,和/或多种控制 配对方法中的任一种。如所属领域的技术人员将了解,多种现有这类技术(例如对于重组 DNA,寡核苷酸合成,和组织培养和转形(例如电穿孔、脂质体转染等))在所属领域中众 所周知且描述于在本发明通篇引用和/或讨论的各种通用和更具体参考文献中。参见例如 桑布鲁克(Sambrook)等人,分子克隆:实验室手册(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)(第2版,冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press),纽约冷泉港 (Cold Spring Harbor,N.Y.),1989)。

[0196] 抗原决定基:如本文所用,包括由免疫球蛋白(例如抗体或受体)结合组分专一性 识别的任何部分。在一些实施例中,抗原决定基由抗原上的多个化学原子或基团构成。在 一些实施例中,当抗原采用相关三维构形时这类化学原子或基团经表面曝露。在一些实 施例中,当抗原采用这类构形时,这类化学原子或基团在空间中以物理方式彼此接近。在 一些实施例中,当抗原采用替代构形(例如线性化)时,至少一些这类化学原子或基团 以物理方式彼此分离。

[0197] 赋形剂:如本文所用,是指可包括于医药组合剂中例如以提供或促成所需稠度或 稳定效果的非治疗剂。适合的医药赋形剂包括例如淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦 芽、稻谷、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、甘油单硬脂酸酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、 甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。

[0198] Fc配位体:如本文所用,是指来自任何生物体的结合于抗体的Fc区以形成Fc-配 位体复合物的分子,优选地多肽。Fc配位体包括(但不限于)Fc $\gamma$ RIIA(CD32A)、Fc $\gamma$ RIIB (CD32B)、Fc $\gamma$ RIIIA(CD16A)、Fc $\gamma$ RIIIB(CD16B)、Fc $\gamma$ RI(CD64)、Fc $\epsilon$ RII(CD23)、FcRn、 Clq、C3、葡萄球菌蛋白质A、链球菌蛋白质G和病毒Fc $\gamma$ R。Fc配位体可包括未发现的 结合Fc 的分子。

[0199] 构架或构架区:如本文所用,是指可变区减CDR的序列。因为CDR序列可通过不 同系统确定,同样地构架序列相对应地有不同解释。六个CDR将重链和轻链上的构架 区分成各链上的四个子区(FR1、FR2、FR3和FR4),其中CDR1位于FR1与FR2之间, CDR2位于FR2与FR3之间,且CDR3位于FR3与FR4之间。在不将具体子区指定为 FR1、FR2、FR3或FR4的情况下,如 由其它提及的构架区代表单一、天然存在的免疫 球蛋白链的可变区内的组合FR。如本文所 用,FR代表四个子区中的一个,例如FR1代 表最接近可变区的氨基端和相对于CDR1的5'的 第一构架区,且FR代表构成构架区的 子区中的两个或多于两个。

[0200] 宿主细胞:如本文所用,是指已引入外源DNA(重组或以其它方式)的细胞。一般技

术人员在阅读本发明后应理解这类术语不仅指具体个体细胞,而且指这类细胞的后代。由于某些修饰可能因突变或环境影响而于后代中发生,所述子代可能实际上不与亲本细胞相同,但仍包括于如本文中所述的术语“宿主细胞”的范围内。在一些实施例中,宿主细胞包括选自适用于表达外源DNA(例如重组核酸序列)的生物界中的任一种的原核和真核细胞。例示性细胞包括以下的这些:原核细胞和真核细胞(单细胞或多细胞)、细菌细胞(例如大肠杆菌(*E.coli*)、芽孢杆菌属(*Bacillus spp.*)、链霉菌属等(*Streptomyces spp.*)的菌株)、分枝杆菌细胞、真菌细胞、酵母细胞(例如酿酒酵母(*S.cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*S.pombe*)、巴斯德毕赤酵母(*P.pastoris*)、甲醇毕赤酵母(*P.methanolica*)等)、植物细胞、昆虫细胞(例如SF-9、SF-21、感染杆状病毒的昆虫细胞、粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)等)、非人类动物细胞、人类细胞或细胞融合物,如融合瘤或四源杂交瘤(quadroma)。在一些实施例中,宿主细胞是人类、猴、猿、仓鼠、大鼠或小鼠细胞。在一些实施例中,宿主细胞是真核且选自以下细胞:CHO(例如CHO K1、DXB-11CHO、Veggie-CHO)、COS(例如COS-7)、视网膜细胞、Vero、CV1、肾脏(例如HEK293、293EBNA、MSR 293、MDCK、HaK、BHK)、HeLa、HepG2、WI38、MRC 5、Colo205、HB 8065、HL-60(例如BHK21)、Jurkat、Daudi、A431(表皮)、CV-1、U937、3T3、L细胞、C127细胞、SP2/0、NS-0、MMT 060562、塞特利氏细胞(Sertoli cell)、BRL 3A细胞、HT1080细胞、骨髓瘤细胞、肿瘤细胞和来源于前述细胞的细胞系。在一些实施例中,宿主细胞包含一或多种病毒基因,例如表达病毒基因的视网膜细胞(例如PER.C6<sup>TM</sup>细胞)。

[0201] 人类抗体:如本文所用,意图包括具有自人类免疫球蛋白序列产生(或组装)的可变和恒定区的抗体。在一些实施例中,即使其氨基酸序列例如在一或多个CDR且具体地说CDR3中包括不由人类生殖系免疫球蛋白序列(例如包括序列变异体,例如其可能(最初)已经通过活体外随机或位点专一性突变诱发或通过活体内体细胞突变引入)编码的残基或元件,抗体(或抗体组分)可仍视为“人类”。

[0202] 人类化:如所属领域中已知,术语“人类化”常用于指如下抗体(或抗体组分),其氨基酸序列包括来自在非人类物种(例如小鼠)中产生的参考抗体的V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>区序列,而且包括相对于参考抗体的在这些序列中的修饰,所述修饰意图使其更“像人类”,即更类似于人类生殖系可变序列。在一些实施例中,“人类化”抗体(或抗体组分)是免疫专一地结合于相关抗原且具有基本上具有如人类抗体的氨基酸序列的构架(FR)区,和基本上具有如非人类抗体的氨基酸序列的互补决定区(CDR)的抗体。人类化抗体基本上包含所有至少一个且通常两个可变域(Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、FabC、Fv),其中所有或基本上所有CDR区对应于非人类免疫球蛋白(即,供体免疫球蛋白)的CDR区且所有或基本上所有构架区是具有人类免疫球蛋白共同序列的构架区。在一些实施例中,人类化抗体还包含至少一部分免疫球蛋白恒定区(Fc),通常至少一部分人类免疫球蛋白恒定区。在一些实施例中,人类化抗体含有轻链以及至少重链的可变域。抗体还可以包括重链恒定区的C<sub>H</sub>1、铰链、C<sub>H</sub>2、C<sub>H</sub>3和任选地,C<sub>H</sub>4区。在一些实施例中,人类化抗体仅含有人类化V<sub>L</sub>区。在一些实施例中,人类化抗体仅含有人类化V<sub>H</sub>区。在某些实施例中,人类化抗体含有人类化V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>区。

[0203] 亲水性:如本文所用,术语“亲水性”和/或“极性”是指与水混合或容易地溶解于水中的趋势。

[0204] 疏水性:如本文所用,术语“疏水性”和/或“非极性”是指排斥水、不与水组合或不



能容易地溶解于水中的趋势。

[0205] 改良、增加或减少:如本文所用,或其语法等效物,指示相对于基线测量值的值,如在开始本文中描述的治疗之前同一个体的测量值,或在不存在本文中描述的治疗的情况下对照个体(或多名对照个体)的测量值。“对照个体”是罹患与治疗个体相同的形式疾病或损伤的个体。

[0206] 活体外:如本文所用,是指在人工环境中,例如在试管或反应容器中,在细胞培养物中等,而非在多细胞生物体内发生的事件。

[0207] 活体内:如本文所用,是指在多细胞生物体(如人类和非人类动物)内发生的事件。在基于细胞的系统的情况下,所述术语可用于指在活细胞(相较于例如活体外系统)内发生的事件。

[0208] 经分离:如本文所用,是指如下物质和/或实体:已经(1)与最初产生时与其结合的至少一些组分分离(无论在自然界中和/或在实验环境中),和/或(2)通过人工经设计、产生、制备和/或制造。经分离物质和/或实体可与约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或多于99%的与其最初结合的其它组分分离。在一些实施例中,经分离药剂是约80%、约85%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或大于约99%纯。如本文所用,如果物质基本上不含其它组分,那么其是“纯的”。在一些实施例中,如所属领域的技术人员将理解,在已与某些其它组分(如一或多种载剂或赋形剂(例如缓冲剂、溶剂、水等)组合之后,物质可仍视为“经分离”或甚至“纯的”;在这类实施例中,物质的分离或纯度%在不包括这类载剂或赋形剂的情况下计算。仅给出一个实例,在一些实施例中,当a)藉助于其衍生起源或来源,不与在自然界中在其天然状态中伴随其的组分中的一些或全部结合;b)其基本上不含与在自然界中产生其的物种相同的物种的其它多肽或核酸;c)由来自不是在自然界中产生其的物种的细胞或其它表达系统的组分表达或另外与所述组分结合时,自然界中存在的生物聚合物(如多肽或聚核苷酸)视为“经分离”。因此,举例来说,在一些实施例中,化学合成或在与在自然界中产生其的系统不同的细胞系统中合成的多肽视为“经分离”多肽。或者或另外,在一些实施例中,已经受一或多种纯化技术的多肽可在其已与a)在自然界中与其结合;和/或b)在最初产生时与其结合的其它组分分离的程度上视为“经分离”多肽。

[0209]  $K_D$ :如本文所用,是指结合剂(例如抗体药剂或其结合组分)自其与其搭配物(例如抗体药剂或其结合组分结合的抗原决定基)的复合物解离的常数。

[0210]  $k_{\text{离}}$ :如本文所用,是指用于将结合剂(例如抗体药剂或其结合组分)自其与其搭配物(例如抗体药剂或其结合组分结合的抗原决定基)的复合物解离的解离速率常数。

[0211]  $k_{\text{合}}$ :如本文所用,是指用于将结合剂(例如抗体药剂或其结合组分)与其搭配物(例如抗体药剂或其结合组分结合的抗原决定基)结合的结合速率常数。

[0212] 连接子:如本文所用,用以指多元件多肽的将不同元件彼此连接的部分。举例来说,一般技术人员了解结构包括两个或多于两个功能或组织域的多肽通常包括在将其彼此连接的域之间的一段氨基酸。在一些实施例中,包含连接子元件的多肽具有通式S1-L-S2的整体结构,其中S1和S2可相同或不同且表示通过连接子彼此结合的两个域。在一些实施例中,连接子长度是至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、



21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100或更多个氨基酸。在一些实施例中,连接子的特征在于其趋向于不采用刚性三维结构,而是向多肽提供柔性。可适当地在工程改造多肽(例如融合多肽)时使用的多种不同连接子元件在所属领域中已知(参见例如霍利格等人,1993,美国科学院院刊90:6444-6448;波利亚克等人,1994,结构学(Structure) 2:1121-1123)。

[0213] 多价结合剂(或多专一性结合剂):如本文所用,指能够结合于两种或多于两种可在同一分子上或在不同分子上的抗原的结合剂。在一些实施例中,如本文所描述的多价结合剂经工程改造以具有两个或多于两个抗原结合位点,且通常不是天然存在的蛋白质。如本文所描述的多价结合剂指能够结合两个或多于两个相关或不相关标靶的结合剂。多价结合剂可由单一抗体组分的多个复本或不同抗体组分的多个复本构成。这类结合剂能够结合于两种或多于两种抗原且是四价或多价结合剂。多价结合剂可另外包含治疗剂,如免疫调节剂、毒素或RNA酶。在一些实施例中,如本文所描述的多价结合剂能够同时结合于至少两个具有不同结构的标靶,例如两种不同抗原、同一抗原上的两个不同抗原决定基或半抗原和/或抗原或抗原决定基。在许多实施例中,本发明的多价结合剂是经工程改造以具有如本文所描述的多价结合剂的特征的蛋白质。本发明的多价结合剂可以是单专一性(能够结合一种抗原)或多专一性(能够结合两种或多于两种抗原),且可由两个重链多肽和两个轻链多肽构成。在一些实施例中,每个结合位点由每个抗原结合位点,具有总共六个参与抗原结合的CDR的重链可变域和轻链可变域构成。

[0214] 核酸:如本文所用,在其最广泛意义上,是指任何可并入寡核苷酸链中的化合物和/或物质。在一些实施例中,核酸是经由磷酸二酯键并入或可并入寡核苷酸链中的化合物和/或物质。如将从上下文了解,在一些实施例中,“核酸”是指个别核酸残基(例如核苷酸和/或核苷);在一些实施例中,“核酸”是指包含个别核酸残基的寡核苷酸链。在一些实施例中,“核酸”是或包含RNA;在一些实施例中,“核酸”是或包含DNA。在一些实施例中,核酸是、包含一或多个天然核酸残基或由一或多个天然核酸残基组成。在一些实施例中,核酸是、包含一或多种核酸类似物或由一或多种核酸类似物组成。在一些实施例中,核酸类似物与核酸的不同在于其不利用磷酸二酯主链。举例来说,在一些实施例中,核酸是、包含一或多种“肽核酸”或由一或多种“肽核酸”组成,所述肽核酸在所属领域中已知且在主链中具有肽键而非磷酸二酯键,视为在本发明的范围内。或者或另外,在一些实施例中,核酸具有一或多个硫代磷酸酯和/或5'-N-氨基磷酸酯键而非磷酸二酯键。在一些实施例中,核酸是、包含一或多种天然核苷(例如腺苷、胸苷、鸟苷、胞嘧啶核苷、尿苷、脱氧腺苷、脱氧胸苷、脱氧鸟苷和脱氧胞嘧啶核苷)或由一或多种天然核苷组成。在一些实施例中,核酸是、包含一或多种核苷类似物(例如2-氨基腺苷、2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并-嘧啶、3-甲基腺苷、5-甲基胞嘧啶核苷、C-5丙炔基-胞嘧啶核苷、C-5丙炔基-尿苷、2-氨基腺苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-丙炔基-尿苷、C5-丙炔基-胞嘧啶核苷、C5-甲基胞嘧啶核苷、2-氨基腺苷、7-脱氮腺苷、7-脱氮鸟苷、8-侧氧基腺苷、8-侧氧基鸟苷、0(6)-甲基鸟嘌呤、2-硫代胞嘧啶核苷、甲基化碱基、插入碱基和其组合)或由一或多种核苷类似物组成。在一些实施例中,如与天然核酸中的这些糖相比,核酸包含一或多种经修饰的糖(例如2'-氟核糖、核糖、2'-脱氧核糖、阿拉伯糖和己糖)。在一些实施例中,核酸具有编码功能性基因产物(如RNA或蛋白质)的核苷酸序列。在一些实施例中,核酸包括一或多个内含子。在一

些实施例中,核酸通过以下中的一或多个制备:自天然来源分离、通过基于互补模板聚合进行酶合成(活体内或活体外)、在重组细胞或系统中复制和化学合成。在一些实施例中,核酸长度是至少3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000或更多个残基。在一些实施例中,核酸是单股;在一些实施例中,核酸是双股。在一些实施例中核酸具有包含至少一个元件的核苷酸序列,所述元件编码对多肽编码的序列或是所述序列的补体。在一些实施例中,核酸具有酶活性。

[0215] 可操作地连接:如本文所用,是指所描述的组分处于准许其以其预期方式作用的关系中的并接。“可操作地连接”至编码序列的控制序列是以使编码序列的表达在与控制序列相容的条件下实现的方式接合。“可操作地连接”的序列包括与相关基因相邻的表达控制序列和以反式起作用或在一定距离起作用以控制所述相关基因的表达控制序列。如本文所用,术语“表达控制序列”是指实现所接合的编码序列的表达和加工所需的聚核苷酸序列。表达控制序列包括适当转录起始、终止、启动子和强化子序列;有效RNA加工信号,如剪接和聚腺苷酸化信号;使细胞质mRNA稳定的序列;增强翻译效率的序列(即科扎克共同序列(Kozak consensus sequence));增强蛋白质稳定性的序列;和必要时增强蛋白质分泌的序列。这类控制序列的性质视宿主生物体而不同。举例来说,在原核细胞中,这类控制序列大体上包括启动子、核糖体结合位点和转录终止序列,而在真核生物中,这类控制序列通常包括启动子和转录终止序列。术语“控制序列”意图包括其存在对表达和加工来说至关重要的组分,且还可包括其存在有利的额外组分,例如前导序列和融合搭配物序列。

[0216] 肽:术语“肽”是指通过肽键或经修饰肽键彼此接合的两个或多于两个氨基酸。在具体实施例中,“肽”是指长度是小于约100个氨基酸、小于约50个氨基酸、小于20个氨基酸或小于10个氨基酸的多肽。

[0217] 生理条件:如本文所用,具有其在所属领域中理解的参考细胞或生物体生存和/或再生的条件的含义。在一些实施例中,所述术语是指可在自然界中存在的用于生物体或细胞系统的外部或内部环境条件。在一些实施例中,生理条件是存在于人类或非人类动物身体内的这些条件,尤其存在于手术部位处和/或内的这些条件。生理条件通常包括例如20-40℃的温度范围、1的大气压、6-8的pH、1-20mM的葡萄糖浓度、常压水准下的氧浓度和如在地球上遇到的重力。在一些实施例中,实验室中的条件经处理和/或维持在生理条件下。在一些实施例中,在生物体中遇到生理条件。

[0218] 多肽:如本文所用,是指氨基酸的任何聚合链。在一些实施例中,多肽具有自然界中存在的氨基酸序列。在一些实施例中,多肽具有在自然界中不存在的氨基酸序列。在一些实施例中,多肽具有经工程改造的氨基酸序列,因为其经由人工操作设计和/或产生。在一些实施例中,多肽可包含天然氨基酸、非天然氨基酸或两者或由天然氨基酸、非天然氨基酸或两者组成。在一些实施例中,多肽可仅包含天然氨基酸或仅包含非天然氨基酸或仅由天然氨基酸或仅由非天然氨基酸组成。在一些实施例中,多肽可包含D-氨基酸、L-氨基酸或两者。在一些实施例中,多肽可仅包含D-氨基酸。在一些实施例中,多肽可仅包含L-氨基酸。在一些实施例中,多肽可包括一或多个侧基或其它修饰,例如在多肽的N端、在多肽

的C端修饰或连接到一或多个氨基酸侧链,或其任何组合。在一些实施例中,这类侧基或修饰可选自由以下组成的群组:乙酰化、酰胺化、脂质化、甲基化、聚乙二醇化等,包括其组合。在一些实施例中,多肽可以是环状和/或可包含环状部分。在一些实施例中,多肽不是环状和/或不包含任何环状部分。在一些实施例中,多肽是线性的。在一些实施例中,多肽可以是或包含订书多肽。在一些实施例中,术语“多肽”可附加到参考多肽、活性或结构的名称;在这些情况下其在本文中用于指共有相关活性或结构的多肽且因此可视为同一多肽类别或家族的成员。对于各这类类别,本发明提供和/或所属领域的技术人员将知道在氨基酸序列和/或功能已知的类别内的例示性多肽;在一些实施例中,这类例示性多肽是多肽类别的参考多肽。在一些实施例中,一种多肽类别或家族的成员与所述类别的一种参考多肽显示显著序列同源性或一致性,共有共同序列基元(例如特征序列元件),和/或共有共同活性(在一些实施例中在相当水准或在指定范围内);在一些实施例中,是与所述类别内的所有多肽。举例来说,在一些实施例中,一种成员多肽显示与一种参考多肽的序列同源性或一致性的整体程度是至少约30至40%,且通常大于约50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大和/或包括至少一个区(即在一些实施例中可以是或包含特征序列元件的保守区)显示极高序列一致性,通常大于90%或甚至95%、96%、97%、98%或99%。这一保守区通常涵盖至少三到四个且通常多达20或更多个氨基酸;在一些实施例中,保守区涵盖至少一个具有至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更多个相邻氨基酸的片段。在一些实施例中,适用多肽可包含亲本多肽的片段或由亲本多肽的片段组成。在一些实施例中,适用多肽可包含多个片段或由多个片段组成,各片段发现在同一亲本多肽中的相互空间排列与在相关多肽中所发现不同(例如在亲本中直接连接的片段可能在相关多肽中空间分离或反之亦然,和/或片段可以与亲本中不同的顺序存在于相关多肽中),因此相关多肽是亲本多肽的衍生物。

[0219] 预防(prevent或prevention):如本文所用,当与疾病、病症和/或病状的发生结合使用时,是指降低发生所述疾病、病症和/或病状的风险和/或延迟所述疾病、病症或病状的一或多种特征或症状的发作。当疾病、病症或病状的发作已经延迟预定时间段时,预防可视为完成。

[0220] 重组体:如本文所用,意图指通过重组方式设计、工程改造、制备、表达、产生或分离的多肽(例如本文所述的抗体或抗体组分,或多专一性结合剂),如使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的多肽,从重组、组合人类多肽库分离的多肽(霍根布姆(Hoogenboom H.R.),1997,TIB技术(TIB Tech.)15:62-70;阿扎茨(Azzazy H.)和海史密斯(Highsmith W.E.),2002,临床生物化学(Clin.Biochem.)35:425-45;加维隆多(Gavilondo J.V.)和拉里克(Larrick J.W.),2002,生物技术29:128-45;霍根布姆(Hoogenboom H.)和查恩斯(Chames P.),2000,现代免疫学(Immunol.Today)21:371-8),从人类免疫球蛋白基因转基因的动物(例如小鼠)分离的抗体(参见例如泰勒(Taylor,L.D.)等人,1992,核酸研究(Nucl.Acids Res.)20:6287-95;凯勒曼(Kellermann S-A.)和格林(Green L.L.),2002,生物技术新观点(Curr.Opin.Biotechnol.)13:593-7;利特尔(Little,M.)等人,2000,现代免疫学21:364-70;穆菲(Murphy,A.J.)等人,2014,美国科学院院刊111(14):5153-8),或通过涉及所选序列元件相互剪接的任何其它方式制备、表达、产生或分离的多肽。在一些实施例中,在自然界中发现这类所选序列元件中的一或多个。在一些实施例中,

这类所选序列元件中的一或多个经计算机设计。在一些实施例中,一或多个这类所选序列元件由例如来自天然或合成来源的已知序列元件的突变诱发(例如活体内或活体外)产生。举例来说,在一些实施例中,重组抗体多肽由在相关源生物体(例如人类、小鼠等)的生殖系中发现的序列构成。在一些实施例中,重组抗体具有由突变诱发(例如活体外或活体内,例如在转基因动物中)产生的氨基酸序列,以使得重组抗体的 $V_H$ 和 $V_L$ 区的氨基酸序列是尽管源自生殖系 $V_H$ 和 $V_L$ 序列且与其相关,但并非活体内在生殖系抗体谱系内天然存在的序列。

[0221] 参考物:如本文所用,描述标准物、对照或如本文所描述与其进行比较的其它合适参考物。举例来说,在一些实施例中,参考物是标准或对照药剂、动物、个体、群体、样品、序列、一系列步骤、一组条件或值,相关药剂、动物、个体、群体、样品、序列、一系列步骤、一组条件或值与其进行比较。在一些实施例中,参考物基本上与相关测试或测定同时测试和/或测定。在一些实施例中,参考物是任选地在有形介质中体现的历史参考物。通常,如所属领域的技术人员将理解,参考物在与相关评估中利用的这些条件相当的条件下测定或表征。

[0222] 专一性结合:如本文所用,是指结合剂在发生结合的环境中区别可能的搭配物的能力。当存在其它潜在标靶时与一种具体标靶相互作用的结合剂称为“专一性结合”于与其相互作用的标靶。在一些实施例中,专一性结合通过检测或测定结合剂与其搭配物之间的结合程度来评估;在一些实施例中,专一性结合通过检测或测定结合剂-搭配物复合物的解离程度来评估;在一些实施例中,专一性结合通过检测或测定结合剂竞争其搭配物与另一实体之间的替代相互作用的能力来评估。在一些实施例中,通过在一系列浓度下进行这类检测或测定来评估专一性结合。在一些实施例中,通过测定同源与非同源标靶之间的结合亲和力差异评估专一性结合。举例来说,结合剂对同源标靶的结合亲和力可以是对非同源标靶的结合亲和力的约3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多倍。

[0223] 专一性:如所属领域中已知,“专一性”是具体配位体将其结合搭配物与其它潜在结合搭配物区分的能力的量度。

[0224] 个体:如本文所用,意指任何哺乳动物,包括人类。在本发明的某些实施例中,个体是成人、青年或婴儿。在一些实施例中,使用术语“个体(individual)”或“患者”且意图可与“个体(subject)”互换。本发明还涵盖医药组合物的投与和/或子宫内治疗方法的性能。

[0225] 基本上:如本文所用,术语“基本上”是指显示相关特征或特性的全部或接近全部界限或程度的定性病状。生物技术中的一般技术人员应理解,生物和化学现象很少(如果曾有)进行完全和/或继续进行到完全或实现或避免绝对结果。因此本文中使用术语“基本上”以获得许多生物和化学现象中所固有的完整性的潜在缺乏。

[0226] 基本上序列同源性:如本文所用,片语“基本上同源性”是指氨基酸或核酸序列之间的比较。如一般技术人员将了解,如果两个序列在对应位置中含有同源残基,则其大体上视为“基本上同源”。同源残基可以是一致残基。替代地,同源残基可以是具有适当类似的结构和/或功能特性的不一致残基。举例来说,如一般技术人员所众所周知,某些氨基酸通常分类是“疏水性”或“亲水性”氨基酸,和/或分类是具有“极性”或“非极性”侧链。用一种氨基酸取代另一相同类型可通常视为“同源”取代。典型氨基酸分类如下概述:

[0227]	丙氨酸	Ala	A	非极性	中性	1.8
	精氨酸	Arg	R	极性	阳性	-4.5
	天冬酰胺	Asn	N	极性	中性	-3.5
	天冬氨酸	Asp	D	极性	阴性	-3.5
	半胱氨酸	Cys	C	非极性	中性	2.5
	谷氨酸	Glu	E	极性	阴性	-3.5
	谷氨酰胺	Gln	Q	极性	中性	-3.5
	甘氨酸	Gly	G	非极性	中性	-0.4
	组氨酸	His	H	极性	阳性	-3.2
	异白氨酸	Ile	I	非极性	中性	4.5
	白氨酸	Leu	L	非极性	中性	3.8
	离氨酸	Lys	K	极性	阳性	-3.9
	甲硫氨酸	Met	M	非极性	中性	1.9
	苯丙氨酸	Phe	F	非极性	中性	2.8
	脯氨酸	Pro	P	非极性	中性	-1.6
	丝氨酸	Ser	S	极性	中性	-0.8
	苏氨酸	Thr	T	极性	中性	-0.7
	色氨酸	Trp	W	非极性	中性	-0.9
	酪氨酸	Tyr	Y	极性	中性	-1.3
	缬氨酸	Val	V	非极性	中性	4.2

多义氨基酸	3 字母	1 字母
天冬酰胺或天冬氨酸	Asx	B
谷氨酰胺或谷氨酸	Glx	Z
白氨酸或异白氨酸	Xle	J
未规定或未知的氨基酸	Xaa	X

[0228] 如所属领域中所众所周知,氨基酸或核酸序列可使用多种算法中的任一种比较,包括这些可在市售计算机程序中获得的算法,如用于核苷酸序列的BLASTN,和用于氨基酸序列的BLASTP、有间隙的BLAST和PSI-BLAST。例示性这类程序描述于以下中:阿特休尔(Altschul)等人,1990,分子生物学杂志,215(3):403-410;阿特休尔等人,1996,酶学方法(Meth.Enzymology) 266:460-480;阿特休尔等人,1997,核酸研究 25:3389-3402;巴克斯范尼斯(Baxeavanis)等人,生物信息:基因和蛋白质分析的实践指导(Bioinformatics:A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins),威利出版社(Wiley),1998;和米塞纳(Misener),等人,(编),生物信息学方法和协议(Bioinformatics Methods and Protocols)(分子生物学中的方法(Methods in Molecular Biology),第132卷),胡马纳出版社(Humana Press),1999。除鉴定同源序列以外,上文所提及的程序通常提供同源性程度的指示。在一些实施例中,如果两个序列的对应残基中的至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更多在相关残基片段上同源,则其视为基本上同源。在一些实施例中,相关片段是完整序列。在一些实施例中,相关片段是至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少35、至少40、至少

45、至少50、至少55、至少60、至少65、至少70、至少75、至少80、至少85、至少90、至少95、至少100、至少125、至少150、至少175、至少200、至少225、至少250、至少275、至少300、至少325、至少350、至少375、至少400、至少425、至少450、至少475、至少500或更多个残基。

[0229] 基本上一致性:如本文所用,片语“基本上一致性”是指氨基酸或核酸序列之间的比较。如一般技术人员将了解,如果两个序列在对应位置中含有一致残基,则其大体上视为“基本上一致”。如所属领域中所众所周知,氨基酸或核酸序列可使用多种算法中的任一种比较,包括这些可在市售计算机程序中获得的算法,如用于核苷酸序列的BLASTN,和用于氨基酸序列的BLASTP、有间隙的BLAST和PSI-BLAST。例示性这类程序描述于以下中:阿特休尔(Altschul)等人,1990,分子生物学杂志,215(3):403-410,1990;阿特休尔等人,1996,酶学方法(Methods in Enzymology)266:460-480;阿特休尔等人,1997,核酸研究25:3389-3402;巴克斯范尼斯(Baxeavanis)等人,生物信息:基因和蛋白质分析的实践指导(Bioinformatics:A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins),威利出版社(Wiley),1998;和米塞纳(Misener),等人,(编),生物信息学方法和协议(Bioinformatics Methods and Protocols)(分子生物学中的方法(Methods in Molecular Biology),第132卷),胡马纳出版社,1999。除鉴定一致序列以外,上文所提及的程序通常提供一致性程度的指示。在一些实施例中,如果两个序列的对应残基中的至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多在相关残基片段上一致,则其视为基本上一致。在一些实施例中,相关片段是完整序列。在一些实施例中,相关片段是至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500或更多个残基。在CDR的情况下,提及“基本上一致性”通常是指具有与参考CDR的序列至少80%、优选至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%一致的氨基酸序列的CDR。

[0230] 表面等离子共振:如本文所用,是指允许例如经由在生物感测器矩阵内检测蛋白质浓度的变化(如通过使用BIAcore系统(玛西亚生物传感器公司(Pharmacia Biosensor AB),瑞典乌普萨拉(Uppsala,Sweden)和新泽西州皮斯卡塔韦(Piscataway,N.J.))实时地分析专一性结合相互作用的光学现象。关于进一步描述,参见琼森(Jonsson,U.)等人,1993,临床生物学年鉴(Ann.Biol.Clin.)51:19-26;琼森等人,1991,生物技术(Biotechniques)11:620-627;琼森(Johnsson,B.)等人,1995,分子识别杂志(J.Mol.Recognit.)8:125-131;和琼森等人,1991,生物化学分析(Anal.Biochem.)198:268-277。

[0231] 治疗剂:如本文所用,大体上是指当向生物体投与时引发所需药理学效果的任何药剂。在一些实施例中,如果药剂在合适群体中显示统计显著效果,则其视为治疗剂。在一些实施例中,合适群体可以是模型生物体的群体。在一些实施例中,合适群体可由各种准则定义,如某一年龄组、性别、遗传背景、先前存在的临床病状等。在一些实施例中,治疗剂是可用以缓解、改善、减轻、抑制、预防疾病、病症和/或病状的一或多种症状或特征、延迟症状或特征的发作、降低症状或特征的严重性和/或降低症状或特征的发生率的物质。在一些实施例中,“治疗剂”是在可出售以向人类投与之前已经或需要经政府机构批准的药剂。在一些实施例中,“治疗剂”是医学处方所需要以用于向人类投与的药剂。

[0232] 治疗有效量:如本文所用,意指产生投与所期望的效果的量。在一些实施例中,所述术语是指当根据治疗给药方案向罹患或易患疾病、病症和/或病状的群体投与时足以治疗所述疾病、病症和/或病状的量。在一些实施例中,治疗有效量是降低疾病、病症和/或病状的一或多种症状的发生率和/或严重性,和/或延迟其发作的量。一般技术人员将了解术语“治疗有效量”实际上不需要在具体个体中实现成功治疗。确切来说,治疗有效量可以是当向需要这类治疗的患者投与时在显著数目的个体中提供具体所需药理学反应的所述量。在一些实施例中,提及治疗有效量可以是提及如在一或多种具体组织(例如受疾病、病症或病状影响的组织)或流体(例如血液、唾液、血清、汗液、泪液、尿液等)中测量的量。一般技术人员将了解,在一些实施例中,治疗有效量的具体药剂或疗法可以单次剂量配制和/或投与。在一些实施例中,治疗有效的药剂可以多个剂量,例如作为给药方案的一部分配制和/或投与。

[0233] 转形:如本文所用,是指将外源DNA引入宿主细胞中的任何方法。转形可在天然或人工条件下使用所属领域中众所周知的各种方法来进行。转形可依赖于将外来核酸序列插入原核或真核宿主细胞中的任何已知方法。在一些实施例中,基于转形的宿主细胞选择具体转形方法,且可包括(但不限于)病毒感染、电穿孔、配对、脂质体转染。在一些实施例中,“转形”细胞是稳定转形,因为插入的DNA能够作为自主复制质体或作为宿主染色体的一部分进行复制。在一些实施例中,转形细胞短暂表达引入的核酸持续有限时段。

[0234] 治疗:如本文所用,术语“治疗(treatment)”(以及“治疗(treat/treating)”)在其最广泛意义上是指部分或完全减轻、改善、缓解、抑制具体疾病、病症和/或病状的一或多种症状、特征和/或病因、延迟其发作、降低其严重性和/或降低其发生率的任何物质(例如所提供组合物)投与。在一些实施例中,这类治疗可向不显示相关疾病、病症和/或病状的征象的个体和/或仅显示疾病、病症和/或病状的早期征象的个体投与。或者或另外,在一些实施例中,治疗可向显示相关疾病、病症和/或病状的一或多种已确立征象的个体投与。在一些实施例中,治疗可以是对已诊断为罹患相关疾病、病症和/或病状的个体的治疗。在一些实施例中,治疗可以是对已知具有一或多种在统计学上与相关疾病、病症和/或病状发展风险增加相关的易感性因素的个体的治疗。

[0235] 变异体:如本文所用,术语“变异体”是指显示与参考实体的显著结构一致性,但与参考实体结构上的不同之处在于与参考实体相比,一或多个化学部分的存在或水准的实体。在许多实施例中,变异体还在功能上与其参考实体不同。一般来说,具体实体是否恰当地视为参考实体的“变异体”是基于其与参考实体的结构一致性的程度。如所属领域的技术人员将了解,任何生物或化学参考实体都具有某些特征结构元件。根据定义,变异体是共有一或多种这类特征结构元件的不同化学实体。仅给出一些实例,多肽可具有由多个在线性或三维空间中具有相对于彼此的指定位置和/或促成具体生物功能的氨基酸构成的特征序列元件,核酸可具有由多个在线性或三维空间中具有相对于彼此的指定位置的核苷酸残基构成的特征序列元件。举例来说,变异体多肽可因氨基酸序列中的一或多种差异和/或共价连接于多肽主链的化学部分(例如碳水化合物、脂质等)中的一或多种差异而不同于参考多肽。在一些实施例中,变异体多肽显示与参考多肽至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%或99%的总体序列一致性。或者或另外,在一些实施例中,变异体多肽并不与参考多肽共有至少一种特征序列元件。在一

些实施例中,参考多肽具有一或多种生物活性。在一些实施例中,变异体多肽共有参考多肽的生物活性中的一或多种。在一些实施例中,变异体多肽缺乏参考多肽的生物活性中的一或多种。在一些实施例中,变异体多肽与参考多肽相比显示一或多种生物活性水准降低。在许多实施例中,如果相关多肽的氨基酸序列与亲本或参考多肽的氨基酸序列一致但在具体位置有少量序列变化,则相关多肽视为所述亲本的“变异体”。通常,与亲本相比,变异体中少于20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%的残基经取代。在一些实施例中,与亲本相比,变异体具有10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个经取代的残基。变异体通常具有极少数目(例如少于5、4、3、2或1个)的经取代功能残基(即参与具体生物活动的残基)。此外,如与亲本相比,变异体通常具有不超过5、4、3、2或1个插入或缺失,且通常不具有插入或缺失。此外,任何添加或缺失通常少于约25、约20、约19、约18、约17、约16、约15、约14、约13、约10、约9、约8、约7、约6,且通常少于约5、约4、约3或约2个残基。在一些实施例中,亲本或参考多肽是在自然界中发现的多肽。如一般技术人员将理解,具体相关多肽的多种变异体可通常在自然界中发现,尤其当相关多肽是感染物多肽时。

[0236] 载体:如本文所用,是指能够输送其已连接的另一核酸的核酸分子。一种载体类型是“质体”,其是指可接合额外DNA区段的环形双股DNA环。另一类型的载体是病毒载体,其中额外DNA区段可接合到病毒基因组中。某些载体能够在引入其的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和游离型哺乳动物载体)。其它载体(例如非游离型哺乳动物载体)在引入宿主细胞中后可整合到宿主细胞的基因组中,且由此与宿主基因组一起复制。另外,某些载体能够导引其可操作地连接的基因的表达。这类载体在本文中称为“表达载体”。

[0237] 野生型:如本文所用,术语“野生型”具有其在所属领域中所了解的含义,是指具有如自然界中在“正常”(相对于突变、变异、患病、更改等来说)状态或情况下所发现的结构和/或活性的实体。一般技术人员将了解,野生型基因和多肽常常以多种不同形式(例如,对偶基因)存在。

[0238] 本发明部分地基于以下认识:可将CD19,具体地说人类CD19具有较高专一性的人类抗体药剂(例如人类单克隆抗体)制成具有与原生形式的(即形成是在细胞表面上表达)CD19的优选结合。另外,与优先结合于重组或固定形式的CD19(例如盘结合CD19)的抗体药剂相比,这类人类抗体药剂大体上与较好活体内特性相关。本发明还基于以下认识:由未处理谱系研发的人类抗体药剂可能在一些实施例中不提供对临床相关抗原决定基具有专一性的人类抗体药剂。仅给出一个实例,本发明特别显示本文中描述的抗CD19人类抗体药剂,具体地说,使用由从自体免疫疾病个体获得的序列产生的抗体库研发的人类抗体药剂显示与在细胞表面上表达的CD19的结合,但在融合蛋白的情况下不与重组人类CD19结合。因此,所提供的人类抗体药剂可在一些实施例中以对天然人类CD19而非潜在地具有极少治疗相关性到无治疗相关性的非天然形式的人类CD19的较高专一性为特征。

[0239] 本发明尤其显示结合在数种癌细胞系和初级人类B细胞的表面上表达的人类CD19的多专一性结合剂(例如双专一性抗体)的成功产生。具体地说,本发明特别提供以CD19-专一性方式结合数种癌细胞系且介导高效靶细胞溶解的多专一性结合剂(例如双专一性抗体)。这类多专一性结合剂的特征在于在细胞毒性分析中的高专一性和性能。

[0240] 本发明还显示嵌合抗原受体(CAR)的成功产生,其是使用所提供的人类抗体药剂



和随后在转导T细胞中表达,由此产生工程改造的CAR-T细胞(CAR-T)。具体地说,本发明提供专一性识别在各种癌细胞系的表面上表达的人类CD19的CAR-T。如本文所描述,所提供的抗CD19CAR-T显示在一些实施例中,优于由其它抗CD19抗体组分产生的CAR-T的高效靶细胞杀死。另外,如本文所描述,所提供的抗CD19CAR-T有效从植入有人类淋巴瘤异种移植物的动物根除肿瘤。因此,本发明至少在一些实施例中,包涵研发对天然人类CD19具有较高专一性的人类抗体药剂用于癌症诊断和治疗,且提供抗体组分来源以产生用于人类的多专一性结合剂和表达CAR的免疫细胞。

[0241] CD19

[0242] 分化簇19或CD19是在B细胞,具体地说许多除浆细胞外的B细胞谱系上表达的跨膜糖蛋白。CD19还在许多恶性B细胞上表达。在调节抗原-BCR相互作用的刺激阈值中CD19在B细胞表面上充当共受体。CD19还与细胞表面上的其它分子(如CD21、CD81和CD82)相互作用。CD19的活化(即细胞质域的磷酸化)触发涉及各种激酶(例如Src-家族)的各种信号转导路径且引起各种免疫细胞过程。CD19已牵涉各种癌症和自体免疫疾病。实际上,CD19已作为研发用于治疗癌症的基于抗体的疗法的靶被频繁研究(参见例如汉默(Hammer),2012,mAbs 4:5,571-577;赖克特(Reichert,J.M.)和迪莫莱(E. Dhimolea),2012,今日药物发现(Drug Discovery Today) 17 (17/18):954-963;苏雷什(Suresh,T.)等人,2014,血液学杂志(J.Hematol.) 7:58);然而,大多数这类基于抗体的疗法是鼠抗体的人类化和/或嵌合形式。理想地,全人类抗体药剂对于治疗人类患者来说优选。人类CD19的氨基酸序列在以下阐述(信号序列加底线)。

[0243]

人类 CD19 多肽 (SEQ ID NO:290)	<u>MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGT</u> SDGPTQQLTWSRESPLKPFLLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIF NVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWN VSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEI WEGEPPCLPPRDSLNSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVS RGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMMETGLLLP RATAQDAGKYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGG WKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPTR RFFKVTTPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLG GTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEGEGYEEDPS
[0244]	EEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFS NAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSADWDPSREATSLGSQ SYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDG PDPAWGGGGGRMGTWSTR

[0245] 抗CD19抗体药剂

[0246] 虽然抗CD19抗体已知且已显示作为治疗剂用于在人类中治疗癌症和自体免疫病症的前景,但许多是鼠来源。在这种情形下使用人类抗体药剂尤其优选,因为其降低对所投与抗体的免疫反应的可能性。因此,本发明提供全人类抗体药剂(例如人类单克隆抗体和其片段),其由显示对人类CD19的较高专一性,且在一些实施例中克服与非人类来源(例如鼠)抗体的现有人类化和/或嵌合形式相关的限制的人类B细胞库研发。

[0247] 本发明提供基于投与抗CD19人类抗体药剂(例如单克隆抗体)和在一些实施例中,具有结合人类CD19的第一抗原结合位点和结合免疫细胞(例如T细胞)的第二抗原结合位点的多专一性结合剂(例如双专一性抗体)来治疗CD19相关疾病、病症和病状和相关恶性

病的方法和组合物。

[0248] 本发明特别提供结合人类CD19,且尤其结合于其天然形式(即在细胞表面上表达)的某些人类抗体序列,以及某些亲和力成熟的抗体序列。举例来说,本文中尤其例示的是包括含有本文中描述的序列元件的多肽的人类抗体药剂(例如全长抗体、其片段、单链抗体、双专一性抗体或如本文所描述或另外在所属领域中已知的其它抗体药剂形式)。

[0249] 结合人类CD19的例示性人类抗体药剂(例如scFv)呈现在表1中(轻链可变区序列(DNA和氨基酸)呈现为粗体文字;重链可变区序列(DNA和氨基酸)呈现为斜体文字;连接序列呈现为加底线文字)。

[0250] 表1

	9 DNA
[0251]	<p><b>CAGACTGTGGTGACTCAGGAGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAAGGT</b> <b>CACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTATGTATCCTGG</b> <b>TACCAGCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCATTTATGACAATAATAAGC</b> <b>GACCCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCA</b> <b>CCCTGGGCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGA</b> <b>ACATGGGATAGCAGCCTGAGTGCTGGTGTCTTCGGAAGTGGGACCAAGCTGAC</b> <b>CGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTG</b> <b>GATCCCTCGAGATGGCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGGCTTGGTACAGCC</b> <b>TGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATG</b> <b>AGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAG</b> <b>TGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAA</b> <b>TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATAT</b> <b>TACTGTGCGCGCTACTACTACTCTCGTCTGGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCG</b> <b>TCTCCTCA</b> (SEQ ID NO:1)</p>

**9 氨基酸**

QTVVTQEPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPS  
GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAGVFGTGTKLTVLGSRG  
GGGSGGGSGGGGSLEMAQVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG  
KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYYSRLDY  
WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:2)

**23 DNA**

CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAAGGT  
CACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAATTATGTATCCTGG  
TACCGGCAACTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCATCTATGAAAATAATAAG  
CGACCCTCAGGGATTCTTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCC  
ACCCTGGGCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGG  
AACATGGGATAGCAGCCTGCGTGCTGGGGTCTTCGGAACCTGGGACCAAGGTCA  
CCGTCTTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGAGATGGCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTTACAGC  
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCAT  
GAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCGGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGCTA  
GTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGCTTACCATCTCCAGAGACA  
ATTCCAAGAATACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATA  
TTACTGTGCGCGCTACTACCTGTCTCAGATCGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACC  
GTCTCCTCA (SEQ ID NO:3)

**23 氨基酸**

[0252]

QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYRQLPGTAPKLLIYENNKRPSPG  
IPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSRAGVFGTGTKVTVLGSRG  
GGGSGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG  
KGLEWVSGISASGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYLSQIDSW  
GQGTLLTVSS (SEQ ID NO:4)

**31 DNA**

CAGTCTGTGTTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGT  
CACCATCTCTTGTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATACTGTAACTG  
GTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACCTCCTCATCTATAGTAATAATCAG  
CGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGCCATGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGC  
TGACCGTCTTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGT  
GGTGGATCCCTCGAGATGGCCGAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA  
AGCCTGGGGCTACAGTGAAAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATACACCTTCACCGACTACTA  
CATGCACTGGGTGCAACAGGCCCTGGAAGGGCTTGAGTGGATGGGACTTGTTGATCC  
TGAAGATGGTGAAACAATATACGCAGAGAAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGA  
CACGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGT  
GTATTACTGTGCAACCGGAATCTATAGCAGACCTCTGGGCTACTGGGGCCAGGGAACCTG  
GTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

**31 氨基酸**

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSG  
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGHVVFGGGTKLTVLGSRG  
GGGSGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGATVKISKVSGYFTDYIMHWVQAP

*GKGLEWMGLVDPEDGETIYAEKFQGRVTITADTSTDATAYMELSSLRSEDTAVYYCATGIYSRPL*  
*GYWQGTLVTVSS* (SEQ ID NO:6)

### 35 DNA

*TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGT*  
*CACCATCTCTTGTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAACTG*  
*GTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACCTCATCTATAGTAATAATCAG*  
*CGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC*  
*CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGC*  
*AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTATGTCTTCGGAAGTGGGACCAAGGTCAC*  
*CGTCCTAGGTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT*  
*GATCCCTCGAGATGGCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGGCTTGGTACAGCC*  
*TGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATG*  
*AGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAG*  
*TGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAAT*  
*TCCAAGAACACGCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATT*  
*ACTGTGCGCGCTCTGACGGTAAACATTTCTGGCAGCAGTACGATGCTTGGGGTCAAGGTA*  
*CTCTGGTGACCGTCTCCTCA* (SEQ ID NO:7)

### 35 氨基酸

*SYVLTQPPSASGTPGQRVITISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSG*  
*VPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG*  
*GGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG*  
*KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSDGKHFV*  
*QQYDAWGQTLVTVSS* (SEQ ID NO:8)

[0253]

### 36 DNA

*GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATATGTGGGAGACAGA*  
*GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGCATTACCAATTCTTTAGCCTGGTAT*  
*CAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGCTACATGCTGCATCCAGATTG*  
*GAGTCTGGGGTCCCATCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGATTTGGGACGGATTTAC*  
*TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAACAC*  
*TATTTAGGTACCCCGTACTCTTTTGGCCAGGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGT*  
*TCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAG*  
*ATGGCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCC*  
*TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGGTTACCGTCAGTAGCAACTACATGAGCTGGGTCC*  
*GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGC*  
*ACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACA*  
*CGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGC*  
*GCATGAACATCGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA* (SEQ ID NO:9)

### 36 氨基酸

*DIQLTQSPSSLSAYVGDRVITICRASQGITNSLAWYQQKPGKAPKLLLHAASRLESG*  
*VPSRFGSGFGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQHLYLGPYSFGQGTKVEIKRSRGGGGS*  
*GGGSGGGGSLEMAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLE*  
*WVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARMNIDYWGQGLV*  
*TVSS* (SEQ ID NO:10)

### 37 DNA

*GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA*  
*GTCACCATCTCTTGCCGGGCAAGTCAGAGCGTTAGCAGATTTTAAATTGGTATC*

AGCAGAAACCGGGTAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGTATCCACTTTGG  
AACGTGGGGTCCCTTCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAGAG  
AGTTACATTATCCCGCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGT  
TCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAG  
ATGGCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAGGCCCGGGGAGTCTC  
TGACGATCTCCTGTAAGGGTTCTGAATACAGCTTTGCCAGCTACTGGATCACCTGGGTGCG  
CCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGAGGATTGATCCTAGTGACTCTTATAC  
CAACTACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCACGTCACCATCTCAGCTGACAAGTCCATCAGCACT  
GCCTACTTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATATATTACTGTGCGAGA  
CCTTTTCAGTACGACTACGGTGGTTACTCCGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT  
GGTCACCGTCTCTTCA (SEQ ID NO:11)

### 37 氨基酸

EIVLTQSPSSLSASVGDRTVISCRAQSVSRLNWDYQQKPGKAPKLLIYGVTSLRGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQESYIPLTFGGGTGLEIKRSRGGGGSGG  
GGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKRPGESLTISCKGSEYSFASYWITWVRQMPGKGLEWMG  
RIDPSDSYTNYSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAIYYCARPFQYDYGYSDAFDIW  
GQGTMTVTSS (SEQ ID NO:12)

### 40 DNA

[0254]

GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCACTCTCCCTGTCCGTCACCCCTGGAGAGCCG  
GCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCTTGGACAGCAATGGATTCAAC  
TCTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAACCTCCTGATCCAT  
TTAGGTTCTGATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTTCAGCGGCAGTGGATC  
AGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGAAT  
TTATTACTGCATGCAGTCTCTACAAATTCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGT  
GGAAATCAAACGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTG  
GTGGATCCCTCGAGATGGCCAGATGCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTGAAGAAG  
GCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCTGCGAGACTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTCTAGT  
GTCAACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGAATCATCCC  
TATCGTTGGAACACCAAACTACGCACAGAAAGTTCCAGGACAGAGTCACGATTACCGCGGT  
GAATCCACCTTTACAGCCTACATGGAGCTGAGCGGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTT  
TATTACTGTGCGCGGGGGGGATATCGCGACTATATGGATGTCTGGGGCAGAGGGACCACG  
GTCACCGTCTCTTCA (SEQ ID NO:13)

### 40 氨基酸

EIVMTQSPLSLSVTPGEPASISCRSSQSLLDSNGFNSLDWYLQKPGQSPQLLIHLGSD  
RASGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQSLQIPTFGQGTKVEIKRSRG  
GGSGGGGSLEMAQMQLVQSGAEVKKAGSSVKVSCETSGGTFSSSVNWRQAPG  
QGLEWMGGIPIVGTPNYAQKFQDRVTITAVESTFTAYMELSGLRSEDATVYYCARGGYRDYMD  
VWGRGTTVTSS (SEQ ID NO:14)

### 43 DNA

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGT  
CACCATCTCTTGTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATTATGTATACTGG  
TACCAGCAGCTCCAGGAACGGCCCCCAAACCTCCTCATCTATAGGAATAATCAG  
CGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAGTGGTTATGTCTTCGGAACCTGGGACCAAGGTCA  
CCGTCTTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT

GGATCCCTCGAGATGGCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGATCCAGC  
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGGTTACCGTCAGTAGCAACTACA  
TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTATAGCG  
GTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTC  
CAAGAACACGCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTAC  
TGTGCGAGGGGGGGGTTTGGAGCTGAATTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCAC  
CGTCTCCTCA (SEQ ID NO:15)

#### 43 氨基酸

SYELTQPPSASGTPGQORVTISCSGSSSNIGSNYVYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSG  
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRG  
GGSGGGGSGGGGSLEMAEVLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGK  
GLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGFGAEFDY  
WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:16)

#### 54 DNA

[0255]

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCC  
AGCATCACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGCTTCCTGGTATCAGC  
AGAAGCCAGGCCAGTCCCCTGTACTGGTCATCTATCAAGATAACAAGCGGCCCT  
CAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGA  
CCATCAGCGGGACCCAGGCTATGGATGAGGCTGACTATTACTGTGAGGCGTGGG  
ACAGCAGCACTGAGGATGTCTTCGGACCTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAGGT  
TCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAG  
ATGGCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGATCCAGCCTGGGGGGTCCC  
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGGTTACCGTCAGTAGCAACTACATGAGCTGGGTCC  
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGTAGCAT  
ACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT  
GTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGG  
TGGTATTTGCGACGATTACTATGGTTCGGGGAGTTATGATAACTGGGGCCAGGGAACCCCTG  
GTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:17)

#### 54 氨基酸

SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYASWYQQKPGQSPVLVIYQDNKRPSGI  
PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTEDVFGPGTKVTVLGSRRGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGL  
EWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGISDDYYGSGSY  
DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:18)

#### 61 DNA

GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA  
GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATC  
AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC  
AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACCT  
TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGA  
GTTACAGTACCCCTTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTT  
CTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGA  
TGGCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCT  
GAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCGTCAGTAGCAACTACATGAGCTGGGTCCG  
CCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGTAGCATA  
CTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT  
GTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAA



AGGGGGATGGGATATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA  
(SEQ ID NO:19)

## 61 氨基酸

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGGGTKVEIKRSRGGGGSG  
GGSGGGGSLEMAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEW  
VSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERGMGYAFDIWGQG  
TMVTYSS (SEQ ID NO:20)

## 1 DNA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA  
GTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGGGCATTGGCAGTTATTTAGCCTGGTAT  
CAGCAAAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAACTCCTGATCTATCCTGCATCCACGTTG  
CAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTACAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACT  
CTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAA  
CTTAATAGTCTCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGTTCTAGAGGTG  
GTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCCAAGC  
TGCAGCTGCAGGAGTCGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACC  
TGCTCTGTCTCTGGTGTCTCCATGAGTGAAAACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCCA  
GGGAAGCGACTGGAGTGGATTGGGTGTGCCATTACTGGGGACACCCACTACAACCCC  
TCCCTCAAGGGTCGAGTCACCATATCACTAGACACGTCCATGAACCAGTTCTCCCTGAGGC  
TGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTCTATTACTGTGCGAGTTATCATCCCTTTAA  
CTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:21)

[0256]

## 1 氨基酸

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIGSYLAWYQQKPGKAPKLLIYPASTLQSG  
VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSLFGQGTRLEIKRSRGGGGSGGG  
GSGGGGSLEMAQLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCSVSGVSMSENYWSWIRQPPGKRLEWIGCA  
HYTGDTHYNPSLKGRVTISLDTSMNQFSLRLNSVTAADTAVYYCASYHPFNYWGQGLTVTVSS  
(SEQ ID NO:22)

## 2 DNA

CAGGCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGT  
CACCATCTCTTGTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAACATAAACTGTAACTG  
GTATCAGGTGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACCTCCTCATCTATAGTAATTATCGC  
CGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGACGATGAGGCTGATTATTACTGTGC  
ACTATGGGATGACAGCCTGGATGGTTATGTCTTCGGAACCTGGGACCAAGGTCAC  
CGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTG  
GATCCCTCGAGATGGCCGAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAGGAGGCC  
TGGGGCTACAGTGAAAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATACACCTTCAACGACTTCTACTTAC  
ACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGACGTATTGATCCTGAAG  
ATGGTAAAACAAGATATGCAGAGAAGTTCAGGGCAGACTACCATTACCGCGGACACGTC  
TACAGACACTCTTTACATGCAACTGGGCGGCCTGACATCTGACGACACGGCCGTCTATTAC  
TGTACAACCTGATTGGGGCTATAGCAGTCCCTACGTGAGGAGGACATCTGGTACGACTGCT  
GGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:23)

## 2 氨基酸

QAVLTQPPSASGTPGQRVITISCSGSSSNIGTKTVNWKYQVLPGTAPKLLIYSNYRRPSG  
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSDDEADYYCALWDDSLDGYVFGTGTKVTVLGSRG

GGGSGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVRRPGATVKISCKVSGYTFNDFYLHWVRQAPG  
KGLEWMGRIDPEDGKTRYAEKFQGRLTITADTSTDLYMQLGGLTSDDTAVYYCTTDWGYSSS  
LREEDIWYDCWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:24)

### 3 DNA

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCATCTATTATGATAGCGACCGGCC  
CTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCCACCCT  
GACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTGT  
GGGATAGTAGTAGTGATCATTATGTCTTCGGAACCTGGGACCAAGGTCACCGTCC  
TAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCC  
TCGAGATGGCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCT  
CTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTATCAGCTG  
GGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTG  
GTACAGCAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCA  
CGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT  
GTGCGAGAGATTATGGGTACGGTGACTACGGTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGAC  
AATGGTCACCGTCTCTTCA (SEQ ID NO:25)

### 3 氨基酸

SYELTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLYIYYDSDRPSGIP  
ERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHYVFGTGTKVTVLGSRRGG  
GSGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGL  
EWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDYVYYCARDYGYG DYGD  
AFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:26)

[0257]

### 4 DNA

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAGGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGCC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGAAACACGGCCACCC  
TGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTCTGTGTCAGGTG  
TGGGATAGCAGTAGTGATCATTATGTCTTCGGACCTGGGACCAAGGTCACCGTCT  
CTAGGTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCC  
CTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCCGGGG  
AGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTG  
GGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACT  
CTGATACCAGATACAGCCCGTCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCAT  
CAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTG  
TGCGCGCGTTGTTGGTACTATCTATCTATGCAGTACGATGTTTGGGGTCAAGGTACTCTGG  
TGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:27)

### 4 氨基酸

SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQRPGQAPVLYVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYSCQVWDSSSDHYVFGPGTKVTVLGSRRGGG  
GSGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG  
LEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGVITISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVVGTIYS  
MQYDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:28)

### 5 DNA



CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCTGAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCTGCTATGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT  
GTGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT  
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGAT  
CCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGG  
GGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGC  
TGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA  
CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCC  
ATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTAC  
TGTGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTAC  
AACATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCTCTCA (SEQ ID NO:29)

### 5 氨基酸

LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVPLVVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSDYVVFVGGGTKLTVLGSRGGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG  
LEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGM  
YPRSNWWYNMDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:30)

### 6 DNA

[0258]

CAGGCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCTGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACGTCGGAAATAATGCTGTAAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCCTCATCTATTATGATGATCT  
GCTGTCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC  
CGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATC  
GGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGG  
TGACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAG  
TCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTAT  
TACTGTGCGCGCTGGTCTTCTACTTGGGACTCTATGTACATGGATTACTGGGGTCAAGGTAC  
TCTGGTGACCGTCTCTCTCA (SEQ ID NO:31)

### 6 氨基酸

QAVLTQPPSVSEAPRQRTVITSCSGSSSNVGNNAVNWWYQQVPGKAPKLLIYYDDLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFVGGGTKLTVLGSRG  
GGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSTWDSM  
YMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:32)

### 7 DNA

CAGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCTGAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATCACCTGTGGAGGAAACAACATTGGAAGTGAAAGTGTGCACTGGTACC  
AGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTATGGTGGTCATCTATTATGATAGCAACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCGTCAGCAGGGTCTGAAGCCGAGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT

GTGGAATAGTAGTAGTGATCATCGAGGAGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC  
CGGGGAGTCTCTGAGGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATC  
GGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGG  
TGA CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAG  
TCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTAT  
TACTGTGCGCGGTTACTTACTCTATGGACTCTTACTACTTCGATTCTTGGGGTCAAGGTAC  
TCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:33)

## 7 氨基酸

QPVLTPPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSESVHWYQQKPGQAPMVVIYYDSNRPSGI  
PERFSGSNSGNATLTIVSRVEAEDEADYYCQVWNSSSDHRGVFGGGTKLTVLGSRG  
GGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVTYSMSDYY  
FDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:34)

## 5-1 DNA

[0259]

CTGCCTGTGCTTACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCA ACTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCATCAACAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT  
GTGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT  
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGAT  
CCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCTGG  
GGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGC  
TGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA  
CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCC  
ATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTAC  
TGTGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTAC  
AACATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGA CTGTCTCCTCA (SEQ ID NO:35)

## 5-1 氨基酸

LPVLTPPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNATLTINRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRG  
GGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGK  
GLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGG  
MYPRSNWWYNMDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:36)

## 5-10 DNA

CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCA ACTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT  
GTGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT  
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGAT  
CCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGG  
GGAGTCTCTGAAGATCTCCTGCAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTTCTGGATCGGC  
TGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA

*CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCC  
ATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCGATGTATTAC  
TGTGTGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTAC  
AACATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTAACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:37)*

#### 5-10 氨基酸

**LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFVGGGTKLTVLGSRGGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVRLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSFWIGWVRQMPGKGL  
EWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYVCVRQVWGWQGGMY  
PRSNWYNMDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:38)**

#### 5-11 DNA

**CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGAGTGGCCCCAGGAGAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT  
GTGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT  
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGAT  
CCCTCGAGATGGCAGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGG  
GGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGC  
TGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA  
CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCC  
ATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTAC  
TGTGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTAC  
AACATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:39)**

[0260]

#### 5-11 氨基酸

**LPVLTQPPSVSVAPGETARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFVGGGTKLTVLGSRGGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG  
LEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCARQVWGWQGGM  
YPRSNWYNMDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:40)**

#### 5-13 DNA

**CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT  
GTGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT  
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGCGGTGGTGGAT  
CCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGG  
GGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGC  
TGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA  
CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCC  
ATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTAC  
TGTGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTAC  
AAGTTGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:41)**

**5-13 氨基酸**

LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRRGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG  
LEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGM  
YPRSNWWYNLDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:42)

**5-15 DNA**

CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGCTGAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCTCAACTCTGGGAACACGGCCACCA  
TGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTG  
TGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC  
CTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCC  
CTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCCGGGG  
AGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTGCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTG  
GGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACT  
CTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCAT  
CAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTG  
TGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTACAA  
CATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCTCTCA (SEQ ID NO:43)

**5-15 氨基酸**

[0261]

LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNTATMTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRRGG  
GGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGAGYSFTSYWIGWVRQMPGK  
GLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGG  
MYPRSNWWYNMDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:44)

**5-2 DNA**

CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGCTGAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCTCAACTCTGGGAACATGGCCACCC  
TGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTG  
TGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC  
CTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCC  
CTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCCGGGG  
AGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTG  
GGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACT  
CTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCAT  
CAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTG  
TGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTACAA  
CATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCTCTCA (SEQ ID NO:45)

**5-2 氨基酸**

LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNTATMTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRRGG  
GGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGK  
GLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGG

*MYPRSNWWYNMDSWGQGLTVTVSS* (SEQ ID NO:46)

### 5-3 DNA

**CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCAACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT  
GTGGGATAGTAGTAGTGAGTATGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT  
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGAT  
CCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGG  
GGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGC  
TGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA  
CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCC  
ATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTAC  
TGTGCGCGTCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTAC  
AACATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA** (SEQ ID NO:47)

### 5-3 氨基酸

**LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSNRPSGI  
PERFSGSNSGNATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSEYVVFVGGGKLTVLGSRGGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG  
LEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGM  
YPRSNWWYNMDSWGQGLTVTVSS** (SEQ ID NO:48)

[0262]

### 5-4 DNA

**CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGATGTCAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT  
GTGGGATAGTAGTAGTGTTATGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT  
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGAT  
CCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGG  
GGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGC  
TGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA  
CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCC  
ATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTAC  
TGTGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTAC  
AACATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA** (SEQ ID NO:49)

### 5-4 氨基酸

**LPVLTQPPSMSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSEYVVFVGGGKLTVLGSRGGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG  
LEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGM  
YPRSNWWYNMDSWGQGLTVTVSS** (SEQ ID NO:50)

### 5-5 DNA

**CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA**



GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTACGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCTCAACTCTGGGAACACGGCCACC  
CTGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGT  
GTGGGATAGTACTAGTGATTATGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT  
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGAT  
CCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGG  
GGAGTTTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTCACCAGCTACTGGATCGGC  
TGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA  
CTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCGCCATCTCAGCCGACAAGTC  
CATCAGCACCGCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTA  
CTGTGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTA  
CAACATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:51)

#### 5-5 氨基酸

LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVPLVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSTSDYVVFGGGTKLTVLGSRRGG  
GGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGEFLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGK  
GLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQGGQVAISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGG  
MYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:52)

#### 5-7 DNA

[0263]

CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCTCAACTCTGGGACCACTGCCACCC  
TGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTG  
TGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC  
CTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCC  
CTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTAGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGA  
GTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTGG  
GTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACTC  
CGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCATC  
AGCACCGCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGT  
GCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGAACCCGCGTTCTAACTGGTGGTACAAC  
ATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:53)

#### 5-7 氨基酸

LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVPLVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRRGGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGEFLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG  
LEWMGHIYPGDS TRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGM  
NPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSS  
(SEQ ID NO:54)

#### 5-9 DNA

CTGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGAGTGGCCCCAGGAAAGACGGC  
CAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCA  
GCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGC  
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCTCAACTCTGGGAACACGGCCACCT  
TGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTG  
TGGGATAGTAGTAGTGATTATGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC

CTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGTGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCC  
CTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCCGGG  
AGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTACCAGCTACTGGATCGGCTG  
GGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGA  
CTGATACCAGATACAGCCCGTTCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCAT  
CAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTG  
TGCGCGCCAGGTTTGGGGTTGGCAGGGTGGTATGTACCCGCGTTCTAACTGGTGGTACAA  
CATGGATTCTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCTCTCA (SEQ ID NO:55)

#### 5-9 氨基酸

LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGI  
PERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRRGG  
GSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKG  
LEWMGIIYPGDSSDTRYSPFFQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGM  
YPRSNWWYNMDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:56)

#### 6-1 DNA

[0264]

CAGGCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCTGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACGTCGGAAATAATGCTGTAAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCCTCATCTATTATGATGATCT  
GCTGTCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAGGTGAAAAAGC  
CCGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTACCAGCTACTGGAT  
CGGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTG  
GTGACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAA  
GTCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTA  
TTACTGTGCGCGCTGGTCTTCTTCTTGGGACTCTATGTACATGGATTACTGGGGTCAAGGTA  
CTATGGTGACCGTCTCTCTCA (SEQ ID NO:57)

#### 6-1 氨基酸

QAVLTQPPSVSEAPRQRVTISCSGSSSNVGNNAVNHWYQQVPGKAPKLLIYYDDLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGTKLTVLGSRRG  
GSGSGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGIIYPGDSSDTRYSPSFQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSSWDSM  
YMDYWQQTMVTVSS (SEQ ID NO:58)

#### 6-2 DNA

CAGGCTGTGCTTACTCAGCCACCCTCGGTGTCTGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTGGAACAGCTCCAACGTCGGAAATAATGCTATAAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCCTCATCTATTATGATGATCT  
GCTGTCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGGAAAAAGC  
CCGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTACCAGCTACTGGAT  
CGGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTG  
GTGACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAA

---

GTCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTA  
TTACTGTGCGCGCTGGTCTTCTACTTGGGACTCTATGTACATGGAATACTGGGGTCAAGGTA  
CTCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:59)

#### 6-2 氨基酸

---

QAVLTQPPSVSEAPRQRTVITSCSGNSSNVGNNAINWYQQVPGKAPKLLIYYDDLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGSRG  
GGGSGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVEKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQGVQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSTWDSM  
YMEYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:60)

#### 6-4 DNA

---

CAGGCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCTGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACGTCGGAAATAATGCTGTAAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCCTCATCTATTATGATGATCT  
GCTGTCCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC  
CGGGGGGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATC  
GGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGG  
TGACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAG  
TCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTAT  
TACTGTGCGCGCTGGTCTTCTACTTGGGACTCTATGTACATGGATTACTGGGGTCAAGGTAC  
TCTGGTGACCGTCTCCTCAA (SEQ ID NO:61)

[0265]

#### 6-4 氨基酸

---

QAVLTQPPSVSEAPRQRTVITSCSGSSSNVGNNAVNWYQQVPGKAPKLLIYYDDLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGSRG  
GGGSGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGGSLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQGVQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSTWDSM  
YMDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:62)

#### 6-5 DNA

---

CAGGCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCTGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACGTCGGAAATAATGCTGTAAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCCTCATCTATTATGATGATCA  
GCTGTCCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC  
CGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATC  
GGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGG  
TGACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAG  
TCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTAT  
TACTGTGCGCGCTGGTCTTCTACTTGGGACTCTTTGTACATGGATTACTGGGGTCAAGGTA  
CTCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:63)

#### 6-5 氨基酸



QAVLTQPPSVSEAPRQRTVISCSSSSNVGNNAVNWYQQVPGKAPKLLIYYDDQLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGSRG  
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQGVQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSTWDSL  
YMDYWGGQTLTVSS (SEQ ID NO:64)

#### 6-6 DNA

CAGGCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCTGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTTGAAACAGCTCCAACGTCGGAAATAATGCTGTAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCTCATCTATTATGATGATCTG  
CTGTCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCC  
TCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGCA  
GCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGAC  
CGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GATCCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC  
GGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCG  
GCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCTGGT  
GACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGT  
CCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATT  
ACTGTGCGCGCTGGTCTTCTACTTGGGACTCTATGTACATGGATTACTGGGGTCAAGGTAC  
TCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:65)

#### 6-6 氨基酸

[0266]

QAVLTQPPSVSEAPRQRTVISCSSNSSNVGNNAVNWYQQVPGKAPKLLIYYDDLLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGSRG  
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQGVQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSTWDSM  
YMDYWGGQTLTVSS (SEQ ID NO:66)

#### 6-7 DNA

CAGGCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCCGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTTGAAAGCAGCTCCAACGTCGGAAATAATGCTGTAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCCTCATCTATTATGATGATCT  
GCTGTCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGTCCCTCGAGATGGCCGAAGTACAGCTGGTGCAGTCAGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC  
CGGGGAATCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTCTGCATACAGCTTTACCAGCTACTGGATC  
GGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCTGG  
TGACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAG  
TCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTAT  
TACTGTGCGCGCTGGTCTTCTACTTGGGACTCTATGTACATGGATTACTGGGGTCTAGGTAC  
TCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:67)

#### 6-7 氨基酸

QAVLTQPPSVSEAPRQRTVISCSSSSNVGNNAVNWYQQVPGKAPKLLIYYDDLLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGSRG  
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSAYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGHIYPGDS TRYSPSFQGVQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSTWDSM  
YMDYWGLGLTVTVSS (SEQ ID NO:68)

**6-8 DNA**

CAGGCTGTGCTGACTCAACCACCCTCGGTGTCTGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACGTCGGAAATAATGCTGTAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCCTCATCTATTATGATGATCA  
GCTGTCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGGGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC  
CGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATC  
GGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGG  
TGACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTTACCATCTCAGCCGACAAG  
TCCATCAGCACC GCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTAT  
TACTGTGCGCGCTGGTCTTCTACTTGGGACTCTATGTACATGGATTACTGGGGTCAAGGTAC  
TCTGGTAACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:69)

**6-8 氨基酸**

QAVLTQPPSVSEAPRQRVTISCSGSSSNVGNNAVNWWYQQVPGKAPKLLIYYDDQLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGSRG  
GGSGGGGSGGGGSLGMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGVVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSTWDSM  
YMDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:70)

[0267]

**6-9 DNA**

CAGGCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCTGAAGCCCCCAGGCAGAGGGT  
CACCATCTCCTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACGTCGGTAATAATGCTGTAACTG  
GTACCAGCAGGTCCCAGGAAAGGCTCCCAAACCTCCTCATCTATTATGATGATCT  
GCTGTCTCAGGGGTCTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGC  
CTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCCGATTATTATTGTGC  
AGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTCCGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGA  
CCGTCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGT  
GGATCCCTCGAGATGGCCGAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCC  
CGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATC  
GGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGG  
TGACTCTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAG  
TCCATCAGCACC GCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTAT  
TACTGTGCGCGCTGGTCTTCTTCTTGGGACTCTATGTACATGGATTACTGGGGTCAAGGTAC  
TCTGGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:71)

**6-9 氨基酸**

QAVLTQPPSVSEAPRQRVTISCSGSSSNVGNNAVNWWYQQVPGKAPKLLIYYDDLSS  
GVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGSRG  
GGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPG  
KGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGVVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWSSSWDSM  
YMDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:72)

[0268] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂由重链和轻链可变区构成,其中重链可变区具有与表1中出现的重链可变区至少约50% (例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列。

[0269] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂由重链和轻链可变区构成,其中重链可变区具有与表1中出现的重链可变区基本上一致或一致的序列。

[0270] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂由重链和轻链可变区构成,其中轻链可变区具有与表1中出现的轻链可变区至少约50% (例如至少约55%、60%、

65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列。

[0271] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂由重链和轻链可变区构成,其中轻链可变区具有与表1中出现的轻链可变区基本上一致或一致的序列。

[0272] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂由重链和轻链可变区构成,所述重链可变区具有与表1中出现的重链可变区至少约50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列,且所述轻链可变区具有与表1中出现的轻链可变区至少约50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列。

[0273] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂由重链和轻链可变区构成,所述重链可变区具有与表1中出现的重链可变区基本上一致或一致的序列,且所述轻链可变区具有与表1中出现的轻链可变区基本上一致或一致的序列。

[0274] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂由选自表1中出现的重链和轻链可变区序列的重链和轻链可变区构成。

[0275] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂是或包含单链可变片段(scFv),所述scFv包含与表1中出现的scFv至少约50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致的序列。

[0276] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂是或包含单链可变片段(scFv),所述scFv包含与表1中出现的scFv基本上一致或一致的序列。

[0277] 在各种实施例中,根据本发明的抗CD19人类抗体药剂是或包含单链可变片段(scFv),所述scFv选自表1。

[0278] 可通过任何可用方式产生所提供的抗体药剂,包括抗体和/或其特征部分,或编码其的核酸。举例来说,用于抗体产生的方案由哈洛(Harlow)和兰尼(Lane),抗体:实验室手册(Antibodies:A Laboratory Manual), (1988)描述。产生抗体(例如单克隆抗体和/或多克隆抗体)的技术是所属领域中众所周知。应了解各种动物物种可用于产生免疫血清,包括兔、小鼠、大鼠、仓鼠、天竺鼠或山羊。动物的选择可根据处理的容易性、成本或血清的所需要决定,如所属领域的技术人员将已知。应了解抗体药剂还可以转基因地经由产生转殖相关免疫球蛋白重链和轻链序列的哺乳动物或植物(例如转殖人类免疫球蛋白重链和轻链基因的转殖基因啮齿动物)来产生。结合哺乳动物中的转殖基因产生,抗体可在山羊、母牛或其它哺乳动物的乳汁中产生且从其回收(参见例如美国专利第5,827,690号、第5,756,687号、第5,750,172号和第5,741,957号;其以全文引用的方式并入本文中)。通常,抗体可在小鼠、大鼠、天竺鼠、仓鼠、骆驼、骆马、鲨鱼或其它合适宿主中产生。替代地,抗体可在鸡中制得,产生IgY分子(谢德(Schade)等人,1996,ALTEX 13(5):80-85)。在一些实施例中,适用于本发明的抗体是类人灵长类动物抗体。举例来说,在狒狒中产生治疗学上适用的抗体的通用技术可见于例如国际专利申请公开案第1991/11465号中和洛斯曼(Losman)等人,1990,国际癌症杂志(Int.J.Cancer)46:310中。在一些实施例中,单克隆抗体可使用融合瘤方法制备(米尔斯坦(Milstein)和奎洛(Cuello),1983,自然 305(5934):537-40)。在一些实施例中,单克隆抗体还可通过重组方法制得(参见例如美国专利第4,166,452号)。

[0279] 许多与通过B细胞永生产生单克隆抗体相关的困难可通过在大肠杆菌(或酵母)

中使用噬菌体呈现工程改造和表达抗体片段来克服。为了确保回收高亲和力单克隆抗体,组合免疫球蛋白库必须通常含有较大谱系尺寸。典型策略利用自免疫小鼠的淋巴细胞或脾细胞获得的mRNA来使用逆转录酶合成cDNA。重链和轻链基因单独地通过PCR扩增且接合到噬菌体选殖载体中。产生两个不同库,一个含有重链基因且一个含有轻链基因。库可以是未处理或其可以是半合成,其中合成重链CDR3,所有氨基酸(除半胱氨酸以外)同等可能地存在于重链CDR3区中的任何给定位置。从每个库分离噬菌体DNA,且将重链和轻链序列接合在一起且封装以形成组合库。每个噬菌体含有一对随机重链和轻链cDNA且在感染大肠杆菌后导引感染细胞中抗体链的表达。为了鉴定出识别相关抗原(例如CD19)的抗体,接种噬菌体库,且将斑块中存在的抗体分子转移到过滤器。过滤器与放射性标记的抗原一起培育且随后洗涤以移除过量未结合的配位体。自动放射摄影上的放射性斑点鉴定含有结合抗原的抗体的斑块。替代地,鉴定出识别相关抗原(例如CD19)的抗体可通过将噬菌体反复结合于与固体载体(例如珠粒或哺乳动物细胞)结合的抗原,接着移除未结合噬菌体且通过溶离专一性结合的噬菌体来实现。在这类实施例中,首先使抗原生物素化以固定到例如抗生物素蛋白结合的Dynabeads M-280上。将噬菌体库与细胞、珠粒或其它固体载体一起培育且通过洗涤移除未结合的噬菌体。选择结合相关抗原的抗体噬菌体克隆且测试以便进一步表征。

[0280] 一旦选择,即通过间接流式细胞测量术测试阳性scFv克隆与在活细胞表面上表达的相关抗原的结合。简单来说,将噬菌体克隆与表达或不表达抗原的细胞(例如工程改造以表达相关抗原,或天然表达抗原的这些细胞)一起培育。洗涤细胞且随后用小鼠抗M13鞘蛋白单克隆抗体标记。再次洗涤细胞且在流式细胞测量术之前用荧光结合二级抗体(例如FITC-山羊(Fab)<sub>2</sub>抗小鼠IgG)标记。可例如从Stratagene选殖系统(加利福尼亚州拉由拉市(La Jolla,CA))获得适用于产生人类免疫球蛋白噬菌体库的选殖和表达载体。

[0281] 可采用类似策略获得高亲和力scFv(参见例如沃恩(Vaughn)等人,1996,自然生物技术(Nat.Biotechnol.),14:309-314)。可通过使用对应于所有已知V<sub>H</sub>、V<sub>K</sub>和V<sub>L</sub>基因家族的PCR引子从未免疫的人类供体分离V基因来构筑具有较大谱系的scFv库。在扩增之后,合并V<sub>K</sub>和V<sub>L</sub>池以形成一个池。将这些片段接合到噬菌粒载体中。随后将scFv连接器(例如(G<sub>4</sub>S)<sub>H</sub>)接合到V<sub>L</sub>片段上游(或如果需要V<sub>H</sub>片段上游)的噬菌粒中。将V<sub>H</sub>和连接器-V<sub>L</sub>片段(或V<sub>L</sub>和连接器-V<sub>H</sub>片段)扩增和组装在J<sub>H</sub>区上。将所得V<sub>H</sub>-连接器-V<sub>L</sub>(或V<sub>L</sub>-连接器-V<sub>H</sub>)片段接合到噬菌粒载体中。噬菌粒库可使用过滤器如上文所描述或使用免疫管(Nunc;Maxisorp)淘选。可通过自免疫兔的淋巴细胞或脾细胞构筑组合免疫球蛋白库和通过在巴斯德毕赤酵母中表达scFv构筑体来实现类似结果(参见例如里德(Ridder)等人,1995,生物技术,13:255-260)。另外,在分离合适scFv之后,具有较高结合亲和力和较慢解离速率的抗体片段可经由亲和力成熟方法,如CDR3突变诱发和链改组(参见例如杰克逊(Jackson)等人,1998,英国癌症杂志(Br.J.Cancer,)78:181-188);奥斯本(Osborn)等人,1996,免疫技术(Immunotechnology),2:181-196)获得。

[0282] 抗体片段的另一形式是编码单一CDR的肽。CDR肽(“最小识别单位”)可通过构筑编码相关抗体的CDR的基因获得。这类基因例如通过使用聚合酶链反应从产抗体细胞的RNA合成可变区来制备(参见例如拉里克(Larrick)等人,1991,方法:酶学方法的指南(Methods:A Companion to Methods in Enzymology)2:106;考特尼(Courtenay)-拉克

(Luck), “单克隆抗体的遗传操作 (Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies)”, 单克隆抗体: 制备、工程改造和临床应用 (Monoclonal Antibodies: Production, Engineering And Clinical Application), 里特 (Ritter) 等人, 编, 第166-179页, 剑桥大学出版社 (Cambridge University Press) 1995; 和沃德等人, “基因操作和抗体表达 (Genetic Manipulation and Expression of Antibodies)”, 单克隆抗体: 原理和应用 (Monoclonal Antibodies: Principles And Applications), 白芝 (Birch) 等人, 编, 第137-185页, 威利里斯公司 (Wiley-Liss, Inc.) 1995)。

[0283] 人类抗体可使用各种技术产生, 包括噬菌体呈现库 (霍根布姆等人, 1991, 分子免疫学 (Mol. Immunol.) 28 (9): 1027-37; 马克思 (Marks) 等人, 1991, 分子生物学杂志 222 (3): 581-97) 和人类单克隆抗体的制备 (雷斯菲尔德 (Reisfeld) 和塞尔 (Sell), 1985, 癌症幸存者 (Cancer Surv.) 4 (1): 271-90)。类似地, 可采用将人类Ig基因引入内源Ig基因已经部分或完全失活的转殖基因动物中来合成人类抗体 (参见例如费什维尔德 (Fishwild) 等人, 1996, 自然生物技术14 (7): 845-51; 伦贝格 (Lonberg) 等人, 1994, 自然368 (6474): 856-9; 伦贝格和胡萨尔 (Huszar), 1995, 国际免疫学评论 (Int. Rev. Immunol.) 13: 65-93; 泰勒 (Taylor, L.D.) 等人, 1992, 核酸研究20: 6287-95; 凯勒曼 (Kellermann S-A.) 和格林 (Green L.L.), 2002, 生物技术新观点13: 593-7; 利特尔等人, 2000, 现代免疫学21: 364-70; 穆菲等人, 2014, 美国科学院院刊111 (14): 5153-8)。在攻击后, 观察人类抗体产生。在一些实施例中, 抗CD19人类抗体通过使经工程改造以制造对人类CD19的抗原攻击反应的人类抗体的非人类动物免疫制得。

[0284] 可例如通过利用经工程改造以表达本发明抗体编码核酸的宿主细胞系统产生所提供的人类抗体药剂 (包括抗体和/或特征部分)。或者或另外, 可部分或完全地通过化学合成 (例如使用自动化肽合成仪或基因合成编码抗体药剂的核酸) 制备所提供的人类抗体药剂。

[0285] 可使用任何合适载体表达相关人类抗体药剂。多种载体 (例如病毒载体) 在所属领域中已知; 已引入这类载体的细胞 (或这类细胞的后代) 可如所属领域中已知培养 (例如使用持续或分批进料培养系统)。在一些实施例中, 细胞可经基因工程改造; 基因工程改造细胞表达工程改造多肽 (例如抗体药剂多肽, 如本文所描述) 的技术是所属领域中众所周知 (参见例如奥苏伯尔 (Ausabel) 等人, 编, 1990, 分子生物学现代方法 (Current Protocols in Molecular Biology) (威利公司 (Wiley), 纽约 (New York)))。

[0286] 在一些实施例中, 所提供的人类抗体药剂可视需要使用过滤、离心和/或多种色谱技术 (如HPLC或亲和性色谱法) 纯化。在一些实施例中, 所提供的人类抗体药剂的片段通过包括用酶 (如胃蛋白酶或番木瓜蛋白酶) 消化的方法和/或通过经由化学还原裂解二硫键获得。

[0287] 在一些实施例中, 如本文所描述, 所提供的人类抗体药剂可以是或包括例如多克隆抗体; 单克隆抗体或其抗原结合片段; 经修饰抗体, 如亲和力成熟的抗体、变异抗体 (例如与参考抗体相比具有一或多种氨基酸取代) 或其片段 (例如Fab'、Fab、F(ab')<sub>2</sub>); 或生物合成抗体, 例如单链抗体、单域抗体 (DAB)、Fv、单链Fv (scFv)、多专一性结合剂 (例如双专一性抗体)、嵌合抗原受体 (CAR) 等。

[0288] 应了解所提供的人类抗体药剂可以使得改良抗体药剂的特征和/或活性的方式经

工程改造、产生和/或纯化。举例来说,所提供的抗体药剂的特征改良尤其包括(但不限于)稳定性增加、结合亲和力和/或亲合力改良、结合专一性增加、产生增加、聚集减少、非专一性结合减少。

[0289] 在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂可包含一或多种改良蛋白质稳定性、抗原结合、表达水准或为治疗、诊断或检测剂的结合提供位点或位置的氨基酸取代(例如在免疫球蛋白或其片段[例如scFv]的情况下在构架区中)。

[0290] 在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂是或包含免疫球蛋白(即抗体),其是选自由IgG、IgM、IgA、IgD、IgE或其片段组成的群组的抗体类别(即同型)的成员。

[0291] 在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂包括包含变异Fc区的人类单克隆抗体,其中所述变异Fc区相对于参考Fc区(或亲本Fc区)包含至少一种氨基酸修饰。在这类实施例中,包含变异Fc区的人类抗体药剂可显示改变的对Fc受体(例如Fc $\gamma$ R)的亲和力,其限制条件是基于Fc-Fc受体相互作用(如由松德尔曼(Sondermann)等人,2000,自然,406:267-273所公开的这些相互作用)的结晶和结构分析,所述变异Fc区不在与Fc受体直接接触的位置具有取代。Fc区内与Fc受体(如Fc $\gamma$ R)直接接触的位置的实例是氨基酸234-239(铰链区)、氨基酸265-269(B/C环)、氨基酸297-299(C'/E环)和氨基酸327-332(F/G)环。在一些实施例中,本发明的包含变异Fc区的所提供人类抗体药剂包含基于结构和结晶分析与Fc $\gamma$ R直接接触的至少一个残基的修饰。

[0292] 在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂是抗CD19人类单克隆抗体,其具有与参考Fc区(或亲本Fc区)相比,具有一或多种氨基酸修饰的变异Fc区。Fc区中产生变异Fc区的例如改变对活化和/或抑制受体的亲和力,引起改良的效应功能(如抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)),增加对C1q的结合亲和力,减少或消除FcR结合,增加半衰期的氨基酸修饰在所属领域中已知(参见例如美国专利第9,051,373号、第9,040,041号、第8,937,158号、第8,883,973号、第8,883,147号、第8,858,937号、第8,852,586号、第8,809,503号、第8,802,823号、第8,802,820号、第8,795,661号、第8,753,629号、第8,753,628号、第8,735,547号、第8,735,545号、第8,734,791号、第8,697,396号、第8,546,543号、第8,475,792号、第8,399,618号、第8,394,925号、第8,388,955号、第8,383,109号、第8,367,805号、第8,362,210号、第8,338,574号、第8,324,351号、第8,318,907号、第8,188,231号、第8,124,731号、第8,101,720号、第8,093,359号、第8,093,357号、第8,088,376号、第8,084,582号、第8,039,592号、第8,012,476号、第7,799,900号、第7,790,858号、第7,785,791号、第7,741,072号、第7,704,497号、第7,662,925号、第7,416,727号、第7,371,826号、第7,364,731号、第7,335,742号、第7,332,581号、第7,317,091号、第7,297,775号、第7,122,637号、第7,083,784号、第6,737,056号、第6,538,124号、第6,528,624号和第6,194,551号)。

[0293] 在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂是抗CD19人类单克隆抗体,其具有与亲本Fc区相比,具有变异糖基化(例如去糖基化)的Fc区。在一些实施例中,变异糖基化由在工程改造细胞系中表达引起(参见例如乌马尼亚(Umana,P.)等人,1999,自然生物技术17(2):176-80;大贯山根(Yamane-Ohnuki,N.)等人,2004,生物技术和生物工程(Biotechnol.Bioeng.);87(5):614-22;冯豪斯顿(von Horsten,H.H.)等人,2010,糖生物学(Glycobiol.)20(12):1607-18;贝克(Beck,A.)等人,2010,药物发现专家意见(Expert

Opin. Drug Discov.) 5 (1) :95-111; 和美国专利第8,080,415号和第8,084,222号; 其皆以引用的方式并入本文中)。在一些实施例中, 本发明提供多专一性结合剂, 其具有包含变异Fc区的人类抗CD19抗体组分。在一些实施例中, 所提供的多专一性结合剂包括如与可衍生组分的亲本抗体相比, 显示变异糖基化(例如经去糖基化)的抗体组分。

[0294] 在一些实施例中, 本发明提供和/或利用包含变异Fc区(即相对于合适参考Fc, Fc区包括一或多种添加、缺失和/或取代)的抗体或抗体药剂, 其特征在于相对于参考Fc, 改变(例如增加和/或减少)效应功能和/或对FcR的亲合力增强或减弱。这些变异在技术人员的技术内。

[0295] 因此, 本发明尤其提供包含以较大亲合力结合于一或多种Fc $\gamma$ R的变异Fc区的抗体药剂和多专一性结合剂(例如抗体药剂)。这类药剂优选地如下文所讨论更有效地介导效应功能。在一些实施例中, 本发明提供包含以较弱亲合力结合于一或多种Fc $\gamma$ R的变异Fc区的抗体药剂和多专一性结合剂(例如双专一性抗体)。减少或消除效应功能在某些情况下是理想的, 例如在作用机制涉及阻断或拮抗但不杀死携带标靶抗原的细胞的抗体的情况下。另外, 在一些实施例中, 当制备如下文所讨论的双专一性抗体时, 消除效应功能是理想的。减少或消除效应功能将在效应功能将阻断效应细胞中的Fc $\gamma$ R活化受体的自体免疫疾病(这种类型的功能将存在于宿主细胞中)的情况下理想的。一般来说, 可将增加的效应功能导向到表达外来抗原的肿瘤和细胞; 在一些实施例中, 可导向效应功能离开肿瘤细胞。

[0296] 根据本发明使用的Fc变异体可与其它Fc修饰组合, 包括(例如)改变效应功能的修饰。本发明包括组合如本文所描述的Fc变异体与其它Fc修饰以在抗体或Fc融合物中提供附加、协同或新颖特性。在一些这类实施例中, Fc变异体可增强与其组合的修饰的表型。举例来说, 如果Fc变异体与已知以比包含野生型Fc区的类似分子高的亲合力结合Fc $\gamma$ R1IIIA的突变体组合, 则与突变体的组合引起Fc $\gamma$ R1IIIA亲和力的较大倍数增强。

[0297] 在一些实施例中, 根据本发明, 将如本文所描述的Fc变异体并入抗体或Fc融合物中以产生将一或多种Fc糖型(即与一或多种碳水化合物共价连接的一或多种Fc多肽)包含到包含Fc区的分子中的工程改造药剂, 其中糖型的碳水化合物组成与包含Fc区的母体分子化学地不同。

[0298] 在一些实施例中, 如本文所描述的多专一性结合剂(例如抗体药剂)可包括显示变异糖基化的Fc变异体和/或可在缺乏糖基化的细胞系中表达使得产生与合适参考Fc区(例如亲本Fc区)或在不缺乏糖基化的细胞系中表达的Fc区相比, 缺乏糖基化的药剂Fc区。

[0299] 在一些实施例中, 根据本发明利用的抗体可相对于结合于相关抗原(例如CD19)的合适参考抗体具有经修饰糖基化位点, 优选地其不改变抗体的功能, 例如对抗原的结合活性。如本文所用, “糖基化位点”包括抗体中寡糖(即含有两种或多于两种连接在一起的单糖的碳水化合物)将专一性和共价连接的任何专一性氨基酸序列。寡糖侧链通常经由N或O-键连接到抗体的主链。N连接的糖基化是指寡糖部分连接到天冬酰胺残基的侧链。O连接的糖基化是指寡糖部分连接到羟基氨基酸, 例如丝氨酸、苏氨酸。举例来说, 缺乏某些寡糖(包括海藻糖和末端N-乙酰基葡萄糖胺)的Fc糖型可在特别CHO细胞中产生且显示增强的ADCC效应功能。

[0300] 在一些实施例中, 本发明涵盖通过添加或删除糖基化位点来修改如本文所描述的



抗体的碳水化合物含量的方法。修改抗体的碳水化合物含量的方法在所属领域中众所周知且包括在本发明内(参见例如美国专利第6,218,149号、第6,472,511号;美国专利公开案第2003-0115614 A1号、第2002-0028486 A1号;国际专利申请公开案WO 2003/035835;欧洲专利第0 359 096 B1号)。在一些实施例中,本发明提供通过使抗体的一或多个内源碳水化合物部分缺失来修改抗体(或其相关部分或组分)的碳水化合物含量的方法。

[0301] 经工程改造的糖型可适用于多种目的,包括(但不限于)增强或降低效应功能。经工程改造的糖型可通过所属领域的技术人员已知的任何方法产生,例如通过使用经工程改造或变异型表达株系、通过与一或多种酶(例如N-乙酰氨基葡萄糖转移酶I (GnTI))共表达、通过在各种生物体或来自各种生物体的细胞系中表达包含Fc区(或变异Fc区)的分子或通过在包含Fc区的分子已表达的后修饰碳水化合物。产生经工程改造的糖型的方法在所属领域中已知,且包括(但不限于)以下中描述的这些方法:乌马尼亚等人,1999,自然生物技术17:176-180;戴维斯(Davies)等人,2001,生物技术和生物工程 74:288-294;谢尔茨(Shields)等人,2002,生物化学杂志(J.Biol.Chem.) 277:26733-26740;新川(Shinkawa)等人,2003,生物化学杂志278:3466-3473;美国专利第6,602,684号;美国专利公开申请案第2003-0157108 A1号、第2003-0003097 A1号;国际专利公开案第WO 2000/61739号、第WO 2001/292246号、第WO 2002/311140号和第WO 2002/30954号;POTILLEGENT™技术(新泽西州普林斯顿的百奥瓦公司(Biowa, Inc. Princeton, N.J.));GLYCOMAB™糖基化工程改造技术(格里卡特生物技术股份公司(GLYCART biotechnology AG),瑞士苏黎世(Zurich, Switzerland))。参见例如冈崎(Okazaki)等人,2004,微生物学与生物技术杂志(JMB), 336:1239-49;美国专利公开案第2003-0115614A1号;国际专利公开案第WO 2000/061739号。

[0302] 具体例示性实施例-免疫球蛋白重链和轻链组合

[0303] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:2中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:2中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:2中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:2中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0304] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:4中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:4中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:4中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:4中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0305] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:6中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:6中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:6中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:6中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0306] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:8中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:8中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:8中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:8中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0307] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:10中出现的免疫球蛋白



重链可变区和/或SEQ ID NO:10中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:10中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:10中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0308] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:12中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:12中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:12中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:12中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0309] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:14中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:14中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:14中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:14中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0310] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:16中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:16中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:16中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:16中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0311] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:18中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:18中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:18中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:18中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0312] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:20中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:20中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:20中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:20中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0313] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:22中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:22中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:22中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:22中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0314] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:24中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:24中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:24中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:24中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0315] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:26中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:26中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:26中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:26中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0316] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:28中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:28中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:28中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:28中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0317] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:30中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:30中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:30中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:30中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0318] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:32中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:32中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:32中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:32中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0319] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括SEQ ID NO:34中出现的免疫球蛋白重链可变区和/或SEQ ID NO:34中出现的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,人类抗体药剂是包括SEQ ID NO:34中出现的免疫球蛋白重链可变区和SEQ ID NO:34中出现的免疫球蛋白轻链可变区的抗体。

[0320] 具体例示性实施例-具体氨基酸取代

[0321] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括在氨基酸位置3、12、16、17、25、26、32、63、69、97、102、106、108、109、113、116、117和其组合中的任一个处包含一或多种氨基酸取代的免疫球蛋白重链可变区。在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括在构架和/或CDR区中包含至少一种和最多五种氨基酸取代的免疫球蛋白重链可变区。

[0322] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括在选自由SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32和34组成的群组的SEQ ID NO. 中出现,且在氨基酸位置3、12、16、17、25、26、32、63、69、97、102、106、108、109、113、116、117和其组合中的任一个处更包含一或多种氨基酸取代的免疫球蛋白重链可变区。

[0323] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括包含一或多种选自由Q3R、K12E、E16G、S17F、S25A、G26A、Y32F、S63F、T69A、A97V、T102S、M106L、Y108N、D109E、Q113L、L116M、M117L和其组合组成的群组的取代的免疫球蛋白重链可变区。

[0324] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括与参考免疫球蛋白重链可变区相比包含一或多种取代的免疫球蛋白重链可变区,且所述免疫球蛋白重链可变区具有SEQ ID NO:36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70和72中的任一个中出现的序列。

[0325] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括在氨基酸位置10、16、25、34、52、54、68、69、72、75、93、95和其组合中的任一个处包含一或多种氨基酸取代的免疫球蛋白轻链可变区。在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括在构架和/或CDR区中包含至少一种和最多五种氨基酸取代的免疫球蛋白轻链可变区。

[0326] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括在选自由SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32和34组成的群组的SEQ ID NO. 中出现,且在氨基酸位置10、16、25、34、52、54、68、69、72、75、93、95和其组合中的任一个处更包含一或多种氨基酸取代的免疫球蛋白轻链可变区。

[0327] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括包含一或多种选自由V10M、K16E、S25N、V34I、D52N、L54Q、N68T、T69M、L72M、S75N、S93T、D95E、D95G和其组合组成的群组的取代的免疫球蛋白轻链可变区。

[0328] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括与参考免疫球蛋白轻链可变区相比包含一或多种取代的免疫球蛋白轻链可变区,且所述免疫球蛋白轻链可变区具有SEQ ID NO:36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70和 72中的任一个中出现的序列。

[0329] 在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂包括在构架和/或CDR区中一起包含至少一种和最多五种氨基酸取代的免疫球蛋白重链和轻链可变区。

[0330] 本发明尤其显示本发明的抗CD19人类抗体药剂中这类氨基酸取代的存在相对于亲 本人类抗体药剂,增加人类抗体药剂对人类CD19的结合亲和力和/或专一性。即,将这类氨基酸取代引入抗CD19人类抗体药剂中改良其对CD19,且尤其对天然CD19(即在 细胞表面上表达)的结合亲和力。

[0331] 所属领域的技术人员知道多种在所属领域中已知用于实现这类引入或用于另外制备、提供或制造含有这类序列的多肽的技术。就此来说适用的例示性技术例如提供于格林和桑布鲁克,分子克隆:实验室手册,冷泉港实验室出版社2012中。

[0332] 具体例示性实施例-专一性CDR

[0333] 如所属领域中大体上已知,单克隆抗体由两条重链和两条轻链制成,各自包含可变区和恒定区。重链可变区通常包含三个CDR,其在本文中标识是HCDR1、HCDR2和 HCDR3,由构架区侧接(参见例如威廉保罗(William E.Paul),基础免疫学(Fundamental Immunology)(第7版),利平科特威廉姆斯和威尔金斯出版社(Lippincott Williams&Wilkins)2013)。轻链可变区通常包含三个互补决定区(CDR),其在本文中标识是LCDR1、LCDR2和LCDR3,由构架区侧接。

[0334] 本发明提供包括表2(HCDR)和3(LCDR)中所示的呈任何可能组合的CDR的人类抗体药剂。举例来说(其不意指限制),本发明包括人类抗体药剂,其包括分别是SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0335] 具有所需CDR和/或构架区的抗体的制造在所属领域中大体上已知且描述于例如斯托赫尔(Stroh1)和斯托赫尔(Stroh1),治疗性抗体工程改造(Therapeutic Antibody Engineering),伍德海德出版有限公司(Woodhead Publishing Limited)2012中。

[0336] 表2

[0337]

克隆	HCDR1	HCDR2	HCDR3
9	GFTFSSYA (SEQ ID NO:73)	ISGSGGST (SEQ ID NO:74)	ARYYY SRLDY (SEQ ID NO:75)
23	GFTFSSYA (SEQ ID NO:76)	ISASGGST (SEQ ID NO:77)	ARYYLSQIDS (SEQ ID NO:78)
31	GYTFTDYY (SEQ ID NO:79)	VDPEDGET (SEQ ID NO:80)	ATGIYSRPLGY (SEQ ID NO:81)
35	GFTFSSYA (SEQ ID NO:82)	ISGSGGST (SEQ ID NO:83)	ARSDGKHFWQQYDA (SEQ ID NO:84)
36	GFTVSSNY (SEQ ID NO:85)	ISGSGGST (SEQ ID NO:86)	ARMNIDY (SEQ ID NO:87)
37	EYSFASYW (SEQ ID NO:88)	IDPSDSYT (SEQ ID NO:89)	ARPFQYDYGGYSDAFDI (SEQ ID NO:90)
40	GGTFSSSS (SEQ ID NO:91)	IPIVGTP (SEQ ID NO:92)	ARGGYRDYMDV (SEQ ID NO:93)
43	GFTVSSNY (SEQ ID NO:94)	IYSGGST (SEQ ID NO:95)	ARGGFGAEFDY (SEQ ID NO:96)
54	GFTVSSNY (SEQ ID NO:97)	IYSGGST (SEQ ID NO:98)	ARGGISDDYYGSGSYDN (SEQ ID NO:99)
61	GFTVSSNY (SEQ ID NO:100)	IYSGGST (SEQ ID NO:101)	ARERGMGYAFDI (SEQ ID NO:102)
1	GVSMSENY (SEQ ID NO:103)	AHYTGDT (SEQ ID NO:104)	ASYHPFNY (SEQ ID NO:105)
2	GYTFNDFY (SEQ ID NO:106)	IDPEDGKT (SEQ ID NO:107)	TTDWGYSSSLREEDIWYDC (SEQ ID NO:108)
3	GGTFSSYA (SEQ ID NO:109)	IPIFGTA (SEQ ID NO:110)	ARDYGYGDYGDFAFDI (SEQ ID NO:111)

4	GYSFTSYW (SEQ ID NO:112)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:113)	ARVVGTIYSMQYDV (SEQ ID NO:114)
5	GYSFTSYW (SEQ ID NO:115)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:116)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:117)
6	GYSFTSYW (SEQ ID NO:118)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:119)	ARWSSTWDSMYMDY (SEQ ID NO:120)
7	GYSFTSYW (SEQ ID NO:121)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:122)	ARVTYSMDSYYFDS (SEQ ID NO:123)
5-1	GYSFTSYW (SEQ ID NO:124)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:125)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:126)
5-2	GYSFTSYW (SEQ ID NO:127)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:128)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:129)
5-3	GYSFTSYW (SEQ ID NO:130)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:131)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:132)
5-4	GYSFTSYW (SEQ ID NO:133)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:134)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:135)
[0338] 5-5	GYSFTSYW (SEQ ID NO:136)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:137)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:138)
5-7	GYSFTSYW (SEQ ID NO:139)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:140)	ARQVWGWQGGMNPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:141)
5-9	GYSFTSYW (SEQ ID NO:142)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:143)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:144)
5-10	GYSFTSFVW (SEQ ID NO:145)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:146)	VRQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:147)
5-11	GYSFTSYW (SEQ ID NO:148)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:149)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:150)
5-13	GYSFTSYW (SEQ ID NO:151)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:152)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNLDS (SEQ ID NO:153)
5-15	GYSFTSYW (SEQ ID NO:154)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:155)	ARQVWGWQGGMYPNRSNWWYNMDS (SEQ ID NO:156)
6-1	GYSFTSYW (SEQ ID NO:157)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:158)	ARWSSSWDSMYMDY (SEQ ID NO:159)
6-2	GYSFTSYW (SEQ ID NO:160)	IYPGDSDT (SEQ ID NO:161)	ARWSSTWDSMYMEY (SEQ ID NO:162)

- 6-4 GYSFTSYW IYPGDSDT ARWSSTWDSMYMDY  
(SEQ ID NO:163) (SEQ ID NO:164) (SEQ ID NO:165)
- 6-5 GYSFTSYW IYPGDSDT ARWSSTWDSLYMDY  
(SEQ ID NO:166) (SEQ ID NO:167) (SEQ ID NO:168)
- 6-6 GYSFTSYW IYPGDSDT ARWSSTWDSMYMDY  
(SEQ ID NO:169) (SEQ ID NO:170) (SEQ ID NO:171)
- [0339] 6-7 AYSFTSYW IYPGDSDT ARWSSTWDSMYMDY  
(SEQ ID NO:172) (SEQ ID NO:173) (SEQ ID NO:174)
- 6-8 GYSFTSYW IYPGDSDT ARWSSTWDSMYMDY  
(SEQ ID NO:175) (SEQ ID NO:176) (SEQ ID NO:177)
- 6-9 GYSFTSYW IYPGDSDT ARWSSSWDSMYMDY  
(SEQ ID NO:178) (SEQ ID NO:179) (SEQ ID NO:180)

[0340] 表3

克隆	LCDR1	LCDR2	LCDR3
09	SSNIGNNY (SEQ ID NO:181)	DNN (SEQ ID NO:182)	GTWDSSLSAGV (SEQ ID NO:183)
23	SSNIGNNY (SEQ ID NO:184)	ENN (SEQ ID NO:185)	GTWDSSLRAGV (SEQ ID NO:186)
31	SSNIGSNT (SEQ ID NO:187)	SNN (SEQ ID NO:188)	AAWDDSLNGHV (SEQ ID NO:189)
35	SSNIGSHT (SEQ ID NO:190)	SNN (SEQ ID NO:191)	AAWDDSLNGYV (SEQ ID NO:192)
[0341] 36	QGITNS (SEQ ID NO:193)	AAS (SEQ ID NO:194)	QHLYLGTPYS (SEQ ID NO:195)
37	QSVSRF (SEQ ID NO:196)	GVS (SEQ ID NO:197)	QESYIPLT (SEQ ID NO:198)
40	QSLDSNGFNS (SEQ ID NO:199)	LGS (SEQ ID NO:200)	MQSLQIPT (SEQ ID NO:201)
43	SSNIGSNT (SEQ ID NO:202)	RNN (SEQ ID NO:203)	AAWDDSLSGYV (SEQ ID NO:204)
54	KLGDKY (SEQ ID NO:205)	QDN (SEQ ID NO:206)	QAWDSSTEDV (SEQ ID NO:207)
61	QSISSY (SEQ ID NO:208)	AAS (SEQ ID NO:209)	QQSYSTPFT (SEQ ID NO:210)

	1	QGIGSY (SEQ ID NO:211)	PAS (SEQ ID NO:212)	QQLNSL (SEQ ID NO:213)
	2	SSNIGTKT (SEQ ID NO:214)	SNY (SEQ ID NO:215)	ALWDDSLDGYV (SEQ ID NO:216)
	3	NIGSKS (SEQ ID NO:217)	YDS (SEQ ID NO:218)	QVWDSSSDHYV (SEQ ID NO:219)
	4	NIGSKS (SEQ ID NO:220)	DDS (SEQ ID NO:221)	QVWDSSSDHYV (SEQ ID NO:222)
	5	NIGSKS (SEQ ID NO:223)	DDS (SEQ ID NO:224)	QVWDSSSDYVV (SEQ ID NO:225)
	6	SSNVGNA (SEQ ID NO:226)	YDD (SEQ ID NO:227)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:228)
	7	NIGSES (SEQ ID NO:229)	YDS (SEQ ID NO:230)	QVWNSSSDHRGV (SEQ ID NO:231)
[0342]	5-1	NIGSKS (SEQ ID NO:232)	DDS (SEQ ID NO:233)	QVWDSSSDYVV (SEQ ID NO:234)
	5-2	NIGSKS (SEQ ID NO:235)	DDS (SEQ ID NO:236)	QVWDSSSDYVV (SEQ ID NO:237)
	5-3	NIGSKS (SEQ ID NO:238)	DDS (SEQ ID NO:239)	QVWDSSSEYVV (SEQ ID NO:240)
	5-4	NIGSKS (SEQ ID NO:241)	DDS (SEQ ID NO:242)	QVWDSSSGYVV (SEQ ID NO:243)
	5-5	NIGSKS (SEQ ID NO:244)	DDS (SEQ ID NO:245)	QVWDSTSDYVV (SEQ ID NO:246)
	5-7	NIGSKS (SEQ ID NO:247)	DDS (SEQ ID NO:248)	QVWDSSSDYVV (SEQ ID NO:249)
	5-9	NIGSKS (SEQ ID NO:250)	DDS (SEQ ID NO:251)	QVWDSSSDYVV (SEQ ID NO:252)
	5-10	NIGSKS (SEQ ID NO:253)	DDS (SEQ ID NO:254)	QVWDSSSDYVV (SEQ ID NO:255)
	5-11	NIGSKS (SEQ ID NO:256)	DDS (SEQ ID NO:257)	QVWDSSSDYVV (SEQ ID NO:258)
	5-13	NIGSKS (SEQ ID NO:259)	DDS (SEQ ID NO:260)	QVWDSSSDYVV (SEQ ID NO:261)
	5-15	NIGSKS	DDS	QVWDSSSDYVV

	(SEQ ID NO:262)	(SEQ ID NO:263)	(SEQ ID NO:264)
6-1	SSNVGNNA (SEQ ID NO:265)	YDD (SEQ ID NO:266)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:267)
6-2	SSNVGNNA (SEQ ID NO:268)	YDD (SEQ ID NO:269)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:270)
6-4	SSNVGNNA (SEQ ID NO:271)	YDD (SEQ ID NO:272)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:273)
[0343] 6-5	SSNVGNNA (SEQ ID NO:274)	YDD (SEQ ID NO:275)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:276)
6-6	SSNVGNNA (SEQ ID NO:277)	YDD (SEQ ID NO:278)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:279)
6-7	SSNVGNNA (SEQ ID NO:280)	YDD (SEQ ID NO:281)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:282)
6-8	SSNVGNNA (SEQ ID NO:283)	YDD (SEQ ID NO:284)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:285)
6-9	SSNVGNNA (SEQ ID NO:286)	YDD (SEQ ID NO:287)	AAWDDSLNGPV (SEQ ID NO:288)

[0344] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂包括表2中出现的HCDR中的至少一个和/或表3中出现的LCDR中的至少一个。

[0345] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂包括表2中出现的HCDR中的至少两个和/或表3中出现的LCDR中的至少两个。

[0346] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂包括表2中出现的任何三个HCDR和/或表3中出现的任何三个LCDR。

[0347] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂包括表2中出现的一组三个HCDR和/或表3中出现的一组对应三个LCDR。

[0348] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂包括三个HCDR,所述三个HCDR各自具有与表2中出现的三个HCDR至少约50% (例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 一致的序列。

[0349] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂包括三个LCDR,所述三个LCDR各自具有与表3中出现的三个LCDR至少约50% (例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 一致的序列。

[0350] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂包括三个HCDR和三个LCDR,所述三个HCDR各自具有与表2中出现的三个HCDR至少约50% (例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 一致的序列,且所述三个LCDR各自具有与表3中出现的三个LCDR至少约50% (例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 一致的序列。

[0351] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂包括三个HCDR和/或三个LCDR,所述HCDR和LCDR各自具有分别与表2和3中出现的HCDR和LCDR基本上一致或一致的序列。



[0352] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂是或包含免疫球蛋白(例如单克隆抗体),其包含分别选自表2和3的HCDR和LCDR。

[0353] 单链Fv(scFv)

[0354] 单链Fv(scFv)在所属领域中广泛已知和使用。单链Fv是免疫球蛋白的重链( $V_H$ )和轻链( $V_L$ )可变区的融合蛋白,其有时由短连接肽连接(参见例如本尼(Benny K.C.Lo)(编),抗体工程-方法和协议(Antibody Engineering-Methods and Protocols),胡马纳出版社2004,和其中引用的参考文献)。

[0355] 本发明提供专一性结合人类CD19的单链Fv(scFv),且在一些实施例中,提供含有连接序列的scFv。在一些实施例中,本文提供的scFv的 $V_H$ 和 $V_L$ 区包括连接序列,其是或包含SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA(SEQ ID NO:289)。在一些实施例中,连接序列是或包含 $(G_4S)_n$ 序列,其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更大。

[0356] 在一些实施例中,连接子长度是至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100或更多个氨基酸。在一些实施例中,连接子的特征在于其趋向于不采用刚性三维结构,而是向多肽(例如第一和/或第二结合组分)提供柔性。

[0357] 在一些实施例中,所提供的scFv多肽包含在以下中的任一个中出现的序列:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:72。

[0358] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂是或包含单链可变片段(scFv),所述scFv包含分别选自表2和3的HCDR和LCDR。

[0359] 在各种实施例中,本发明的人类抗体药剂是或包含单链可变片段(scFv),所述scFv包含表1中出现的重链和/或轻链可变区序列。

[0360] 在一些实施例中,所提供的scFv多肽结合于治疗或检测剂。

[0361] 如所属领域的技术人员已知,根据本发明,scFv的产生和其修饰在所属领域中已知(参见例如本尼(编),抗体工程-方法和协议,胡马纳出版社2004,和其中引用的参考文献)。

[0362] 多专一性结合剂

[0363] 如所属领域的技术人员所知道,多专一性结合剂是包括专一性结合于两个或多于两个靶(例如抗原决定基)的结合组分的分子实体或复合物。这类多专一性结合剂在所属领域中有多种用途,包括治疗性用途。仅给出一个实例,如所属领域的技术人员所知道,多专一性结合剂已经工程改造以通过将细胞毒性T细胞导引(或募集)到肿瘤部位来促进肿瘤细胞的杀死。肿瘤抗原的实例包括(但不限于) $\alpha$ 胎蛋白(AFP)、CA15-3、CA27-29、CA19-9、CA-125、钙网膜蛋白、癌胚抗原、CD34、CD99、CD117、染色颗粒素、细胞角蛋白、结蛋白、上皮膜蛋白质(EMA)、因子VIII、CD31FL1、胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)、巨囊性病液体蛋白

(GCDFP-15)、HMB-45、人绒毛膜促性腺激素(hCG)、抑制素、角蛋白、CD45、淋巴细胞标记物、MART-1(Melan-A)、Myo D1、肌肉专一性肌动蛋白(MSA)、神经丝、神经元专一性烯醇酶(NSE)、胎盘碱性磷酸酶(PLAP)、前列腺专一性抗原、S100蛋白质、平滑肌肌动蛋白(SMA)、突触素、甲状腺球蛋白、甲状腺转录因子-1、肿瘤M2-PK和波形蛋白。

[0364] 在一些实施例中,根据本发明使用的多专一性结合剂是双专一性结合剂。在许多实施例中,这类双专一性结合剂能够结合于肿瘤细胞。在许多实施例中,双专一性结合剂能够结合于CD19<sup>+</sup>细胞或在细胞表面上表达CD19多肽的细胞(例如肿瘤细胞)。

[0365] 在一些实施例中,本文提供的多专一性结合剂(例如双专一性结合剂)是或包含抗体组分。在所属领域中已知多种用于设计、构筑和/或产生包含抗体组分的多专一性结合剂的技术。

[0366] 举例来说,已构筑利用完整免疫球蛋白构架(例如IgG)、单链可变片段(scFv)或其组合的多专一性结合剂。由两个串联的scFv单元构成的双专一性结合剂已显示是临床上成功的双专一性抗体形式。在抗肿瘤免疫疗法的情况下,包含两个串联的单链可变片段(scFv)的双专一性结合剂已经设计使得结合肿瘤抗原的scFv与通过结合CD3(例如CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\zeta$ 等)接合T细胞的scFv连接。以这种方式,将T细胞募集到肿瘤部位,希望其可通过某些T细胞所具有的细胞毒性特性介导肿瘤细胞的杀死。已制得靶向CD19和CD3以用于淋巴瘤的这类双专一性结合剂的实例(称为双专一性T细胞接合,或BiTE;例如参见德赖尔(Dreier)等人,2003,免疫学杂志170:4397-4402;沃尔夫(Wolf,E.)等人,2005,今日药物发现10(18):1237-1244;莫霍耶(Molhoj,M.)等人2007,分子免疫学44:1935-43;巴格(Bargou)等人,2008,科学321:974-977;博伊尔勒(Baeuerle,P.A.)和莱因哈特(C.Reinhardt),2009,癌症研究(Cancer Res.)69(12):4941-44;霍夫曼(Hoffman,L.M)和戈尔(L.Gore),前沿神经内分泌学(Frontiers in Oncol.)4(论文63),5页),其在动物异种移植研究中已成功防止肿瘤生长。在人类研究中,这种双专一性结合剂显示客观肿瘤反应,包括五种部分和两种完全缓解。

[0367] 例示性双专一性结合剂包括具有对肿瘤抗原(例如CD19)具有专一性的第一抗体组分和对免疫细胞(例如T细胞、NK细胞等)具有专一性的第二抗体组分的这些结合剂。双专一性结合剂可例如通过组合识别同一或不同抗原的不同抗原决定基的重链和/或轻链制得。在一些实施例中,通过分子功能,双专一性结合剂在其两个结合臂中的一个(一对V<sub>H</sub>/V<sub>L</sub>)上结合一种抗原(或抗原决定基),且在其第二臂(一对不同V<sub>H</sub>/V<sub>L</sub>)上结合不同抗原(或抗原决定基)。通过这一定义,双专一性结合剂具有两个不同抗原结合臂(在专一性和CDR序列两者中),且对于其结合的每个抗原是单价。

[0368] 在一些实施例中,本发明的双专一性结合剂的特征在于同时结合两个具有不同结构的标靶的能力。在一些实施例中,本发明的双专一性结合剂具有至少一种专一性结合于例如B细胞、T细胞、骨髓、血浆或肥大细胞抗原或抗原决定基的组分和至少一种专一性结合CD19,具体地说在细胞表面上表达的CD19的其它组分。

[0369] 在各种实施例中,根据本发明的双专一性结合剂(例如双专一性抗体)由第一结合组分和第二结合组分构成。在许多实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第一和第二结合组分各由以不同专一性为特征的抗体组分构成。在许多实施例中,抗体组分是选自表1。

[0370] 在各种实施例中,根据本发明的双专一性结合剂包含第一结合组分和第二结合组分。在各种实施例中,根据本发明的双专一性结合剂包含第一结合组分、第二结合组分和连接到第一和第二结合组分两者(例如位于第一与第二结合组分之间)的连接子。

[0371] 在各种实施例中,如本文所描述的第一和/或第二结合组分包含或是抗体组分。在各种实施例中,如本文所描述的第一和/或第二结合组分包含连接序列或经由连接序列连接。

[0372] 在一些实施例中,连接子长度是至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100或更多个氨基酸。在一些实施例中,连接子的特征在于其趋向于不采用刚性三维结构,而是向多肽(例如第一和/或第二结合组分)提供柔性。在一些实施例中,基于赋予双专一性结合剂的具体特性(如聚集减少和/或稳定性增加),在本文中描述的双专一性结合剂中采用连接子。在一些实施例中,本发明的双专一性结合剂包含 $G_4S$ 连接子。在某些实施例中,本发明的双专一性结合剂包含 $(G_4S)_n$ 连接子,其中 $n$ 是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更大。

[0373] 在一些实施例中,如本文所描述的第一和/或第二结合组分是或包含免疫球蛋白(例如IgG)。在一些实施例中,如本文所描述的第一和/或第二结合组分是或包含抗体片段(例如scFv)。在一些实施例中,如本文所描述的第一结合组分是或包含抗体片段且第二结合组分是或包含免疫球蛋白。在一些实施例中,如本文所描述的第一结合组分是或包含免疫球蛋白且第二结合组分是或包含抗体片段。在某些实施例中,第一结合组分是免疫球蛋白且第二结合组分是抗体片段。在某些实施例中,第一结合组分是IgG且第二结合组分是scFv。

[0374] 在某些实施例中,根据本发明的双专一性结合剂包含第一和第二scFv。在某些实施例中,第一scFv连接到第二scFv的C端。在某些实施例中,第二scFv连接到第一scFv的C端。在某些实施例中,scFv经由连接序列彼此连接。在某些实施例中,scFv在无连接序列的情况下彼此连接。

[0375] 在一些实施例中,本发明的双专一性结合剂包括两个不同重链或重链可变区和两个不同轻链或轻链可变区。

[0376] 在一些实施例中,本发明的双专一性结合剂具有两种专一性,其中的一者结合人类CD19且另一者结合T细胞上的CD3(例如CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\zeta$ 等)。

[0377] 在一些实施例中,本发明的双专一性结合剂包含一或多个序列与表1中出现的一或多个序列至少约50%(例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)一致。

[0378] 在一些实施例中,本发明的双专一性结合剂包含一或多个序列与表1中出现的一或多个序列基本上一致或一致。

[0379] 在各种实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第一结合组分包含一或多个HCDR和一或多个LCDR,所述一或多个HCDR各自具有与表2中出现的一或多个HCDR至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)一致的序列,且所述一或多个LCDR各自具有与表3中出现的一或多个LCDR至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)一致的序列。

[0380] 在各种实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第一结合组分包含三个HCDR和三个LCDR,所述三个HCDR各自具有与表2中出现的三个HCDR至少50%(例如 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)一致的序列,且所述三个LCDR各自具有与表3中出现的三个LCDR至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)一致的序列。

[0381] 在各种实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第一结合组分包含一组三个HCDR和一组三个LCDR,所述组三个HCDR各自具有与表2中出现的一组三个HCDR至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)一致的序列,且所述组三个LCDR各自具有与表3中出现的一组三个LCDR至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)一致的序列。

[0382] 在各种实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第一结合组分包含表2中出现的一组三个HCDR和表3中出现的一组三个LCDR。

[0383] 在各种实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第一结合组分包含具有与表1中出现的抗体组分至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)一致的序列的抗体组分。

[0384] 在各种实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第一结合组分包含具有与表1中出现的抗体组分基本上一致或一致的序列的抗体组分。

[0385] 在各种实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第二结合组分包含结合T细胞的抗体组分。可用作如本文所描述的双专一性结合剂的第二结合组分的靶的例示性T细胞标记物包括CD3(例如CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\zeta$ 等)、CD4、CD8、CD28、OX40(TNFRSF4或CD134)、GITR(TNFRSF18或CD357)、CD137(TNFRSF9或4-1BB)、CD27(TNFRSF7)、CD40L(TNFSF5或CD154)、HVEM(TNFRSF14或CD270)等。在一些实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第二结合组分包含结合CD3的抗体组分。在某些实施例中,如本文所描述的双专一性结合剂的第二结合组分包含结合CD3 $\epsilon$ 的抗体组分。可在本发明的双专一性结合剂中采用的例示性抗CD3抗体组分在所属领域中已知且可见于例如以下中:劳特利奇(Routledge)等人,1991,欧洲免疫学杂志(Eur.J. Immunol.) 21:2717-25;阿代尔(Adair)等人,1994,人类抗体融合瘤(Hum.Antibodies Hybridomas) 5:41-7;诺曼(Norman)等人,2000,临床移植(Clin.Transplant.) 70(12):1707-12;夏特诺德(Chatenoud),2003,自然免疫学综述(Nat.Rev.Immunol.) 3(2):123-32;奇德尔(Cheadle),2006,分子疗法的当前观点(Curr.Opin.Mol.Ther.) 8(1):62-8;赫罗尔德(Herold)等人,2009,临床免疫学(Clin.Immunol.) 132:166-73;海斯(Heiss)和丸和(Murawa),2010,国际癌症杂志127(9):2209-21;基穆伦(Keymeulen)等人,2010,糖尿病学(Diabetologia),53:614-23;西尔克(Silke)和吉尔(Gires),2011,分子抗体(MAbs),3(1):31-7;乔菲(Cioffi,M.)等人,2012,临床癌症研究(Clin.Cancer Res.) 18:465-474;迪安(Dean)等人,2012,瑞士医学周刊(Swiss Med.Wkly.) 142:w13711;拉布瑞金(Labrijn)等人,2013,美国科学院院刊110(13):5145-50;波特尔(Portell)等人,2013,临床药理学(Clin.Pharmacol.) 5:5-11;美国

专利第7,112,324号、第7,575,923号、第8,076,459号、第8,101,722号,其皆以全文引用的方式并入本文中。

[0386] 替代地,现有非人类(例如鼠)抗CD3抗体组分提供抗体组分的有价值的来源以在本发明的双专一性结合剂中使用(参见例如EMBL寄存号A22259.1GL641464中的鼠OKT3轻链和EMBL寄存号A22261.1GL21727144下的鼠OKT3重链)。虽然这类非人类抗体组分适用,但其人类化形式在治疗人类个体中优选,因为其尤其降低对所投与抗体(或双专一性结合剂)的免疫反应的可能性。制备人类化抗体的方法在所属领域中大体上已知。

[0387] 嵌合抗原受体

[0388] 本发明还提供嵌合抗原受体,其包含如本文所描述的人类抗体药剂和/或多专一性结合剂。CAR可通过所属领域中已知的方法构筑(参见例如国际专利申请公开案第2012/079000号、第2013/126726号、第2015/177789号和第2015/080981号;美国专利申请公开案第2012/0213783A1号、美国专利第7,446,179号和第5,912,172号;米龙(Milone, M.C.)等人,2009,分子疗法(Mol. Therapy) 17(8):1453-64;科金迪夫(Kochenderfer, J.N.)等人,2010,血液学(Blood) 116(19):3875-86;2011,新英格兰医学杂志(N.Engl. J. Med.) 365(20):1937-9;格鲁普(Grupp, S.A.)等人,2013,新英格兰医学杂志 368(16):1509-18;罗马斯(Romas, C.A.)等人,2014,癌症杂志(Cancer J.) 20(2):112-18;辛格(Singh, H.)等人,2014,免疫学综述(Immunol. Rev.) 257(1):181-90;藤原(Fujiwara, H.), 2014,药学(Pharmaceuticals) 7:1049-68;莫德(Maude, S.L.)等人,2015,血液学 125(26):4017-23;其皆以引用的方式并入本文中)。免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞等)可经工程改造以表达含有如本文所描述的抗体组分的嵌合抗原受体,由此产生克服由癌细胞采用以逃避检测的免疫系统的监督机制的抗肿瘤免疫效应细胞。在一些实施例中,本发明提供表达嵌合抗原受体的免疫细胞,所述嵌合抗原受体包含如本文所描述的人类抗体药剂或多专一性结合剂的一或多个抗原结合位点。在一些实施例中,免疫细胞包括经工程改造以表达本文中描述的人类抗体药剂的抗原结合位点的T细胞。在一些实施例中,抗原结合位点是或包含如本文所描述的抗体组分。

[0389] 在一些实施例中,免疫细胞包括作为人类受体和/或经人工而工程改造(例如包括一或多种氨基酸取代)的嵌合抗原受体。在一些实施例中,嵌合抗原受体包含一种、两种、三种、四种、五种或更多种组分(例如抗体组分、结合组分、信号传导组分等)。在一些实施例中,嵌合抗原受体包含跨膜组分和/或细胞内信号传导组分。在一些实施例中,嵌合抗原受体包含产自于表达所述嵌合抗原受体的免疫细胞的组分(例如天然免疫细胞受体)。在一些实施例中,嵌合抗原受体包含T细胞受体(TCR)多肽的一或多种跨膜和/或一或多种细胞内组分。

[0390] 如本文所用,术语“T细胞受体”或“TCR”是指由在T细胞表面上配对的 $\alpha\beta$ 或 $\gamma\delta$ 链构成的杂二聚受体。各 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 和 $\delta$ 链由两个Ig样域构成:经由TCR的CDR赋予抗原识别的可变域(V),接着通过连接肽和跨膜(TM)区锚定到细胞膜的恒定域(C),其又连接到细胞质序列/细胞内组分。TM区与CD3信号传导设备的恒定次单位结合。TCR V域中的每一个具有三个CDR。这些CDR与结合于主要组织相容性复合物(pMHC)编码的蛋白质的抗原肽之间的复合物相互作用(例如参见戴维斯和比约克曼,1988年,《自然》334:395-402;戴维斯等人,1998年,《免疫学年鉴》(Annu. Rev. Immunol.) 16:523-44;穆菲肯尼思,《珍氏免疫生物学》

(Janeway's Immunobiology.) 第8版。纽约:加兰科学(New York:Garland Science), 泰勒弗朗西斯集团(Taylor&Francis Group, LLC), 2012年出版, 第5和6章)。TCR V域和CDR序列通常极不同于抗体V域和CDR序列。

[0391] 在一些实施例中,所提供的嵌合抗原受体(CAR)由第一和第二多肽的杂二聚体构成,第一多肽包含如本文所描述的抗CD19重链可变区和TCR  $\gamma$  链的TM区,且第二多肽包含如本文所描述的抗CD19轻链可变区和TCR  $\delta$  链的TM区。在一些实施例中,CAR杂二聚体的第一多肽包含如本文所描述的抗CD19重链可变区和TCR  $\delta$  链的TM区,且第二多肽包含如本文所描述的抗CD19轻链可变区和TCR  $\gamma$  链的TM区。在一些实施例中,所提供的嵌合抗原受体包含TCR  $\alpha\beta$  链的TM区。在一些实施例中,所提供的嵌合抗原受体包含TCR的细胞内域。在具体实施例中,所提供的嵌合抗原受体包含TCR的TM区和细胞内区两者。

[0392] 在一些实施例中,如本文所描述的嵌合抗原受体的组分促进免疫细胞与CD19<sup>+</sup>细胞的结合。在一些实施例中,如本文所描述的嵌合抗原受体包含作为或基于如本文所描述的抗体药剂的抗体组分。在一些实施例中,如本文所描述的嵌合抗原受体包含结合人类CD19的抗体组分,且进一步全部或部分包含一或多个细胞质信号传导域,和全部或部分包含一或多个共刺激分子。在一些实施例中,如本文所描述的嵌合抗原受体的抗体组分是或包含scFv;在某些实施例中,scFv选自表1。

[0393] 标靶

[0394] 本发明尤其涵盖以下认识:多专一性结合剂(和/或嵌合抗原受体),且尤其双专一性结合剂(如双专一性抗体)尤其适用于和/或有效促进细胞杀死。具体地说,本发明显示专一性结合于标靶细胞相关抗原决定基(例如癌细胞上的CD19)和淋巴细胞相关抗原决定基(例如T细胞表面蛋白质)两者的多专一性结合剂的活性可以是用于B细胞相关疾病和恶性病的有效免疫疗法。

[0395] 举例来说,在本发明的一些实施例中,多专一性结合剂专一性结合于肿瘤细胞相关抗原决定基和T细胞抗原决定基。根据这类实施例,多专一性结合剂可促进药剂与其标靶抗原决定基中的一个或两个的结合和/或可增强如由标靶T细胞介导的标靶肿瘤细胞的杀死。仅给出另一实例,在本发明的一些实施例中,嵌合抗原受体结合癌细胞上的CD19。根据这类实施例,在嵌合抗原受体与其标靶抗原决定基接合之后,免疫细胞可促进CD19<sup>+</sup>细胞的杀死。

[0396] 在一些实施例中,将杀死的标靶细胞包括例如表达CD19的细胞(例如淋巴瘤或白血病细胞)。一般技术人员将知道如本文所描述的多专一性结合剂合乎需要地结合的在这类细胞上的合适标靶抗原决定基。

[0397] 在一些实施例中,可介导如本文所描述的标靶细胞的杀死的淋巴细胞包括T细胞(例如CD8<sup>+</sup>T细胞)、自然杀手(NK)细胞、巨噬细胞、粒细胞和抗体依赖性细胞毒性细胞。一般技术人员将知道如本文所描述的多专一性结合剂合乎需要地结合的在这类淋巴细胞上的合适标靶抗原决定基。代表性这类抗原决定基可在抗原上发现,如IgG的Fc受体(例如Fc  $\gamma$  RIIB)、CD1d、CD3(例如CD3  $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\zeta$ 等)、CD4、CD7、CD8、CD13、CD14、CD16、CD27、CD28、CD31、CD38、CD40L、CD56、CD68、MAC-1/MAC-3、IL-2Ra、OX40、GITR、HVEM、Ly49和CD94、CD137。

[0398] 核酸构筑和表达

[0399] 如本文所描述的人类抗体药剂(例如人类单克隆抗体、scFv等)、多专一性结合剂(例如双专一性抗体)和嵌合抗原受体可使用所属领域中已知的分子生物方法由核酸分子产生。将核酸分子插入当引入合适宿主细胞中时能够表达融合蛋白的载体中。合适宿主细胞包括(但不限于)细菌、酵母、昆虫和哺乳动物细胞。可使用所属领域的技术人员已知用于将DNA片段插入载体中的方法中的任一种来在转录/翻译控制信号的控制下构筑编码本发明的融合蛋白的表达载体。这些方法可包括活体外重组DNA和合成技术和活体内重组(参见桑布鲁克等人,分子克隆:实验室手册,冷泉港实验室出版社;分子生物学现代方法(Current Protocols in Molecular Biology),奥苏伯尔(Ausubel)等人编,格林尼出版公司(Greene Publ.Assoc.,Wiley-Interscience),纽约)。

[0400] 根据本发明的核酸分子的表达可通过第二核酸序列调节以使得分子在用重组DNA分子转形的宿主中表达。举例来说,本发明的核酸分子的表达可通过在所属领域中已知的启动子和/或强化子元件控制。

[0401] 核酸构筑体包括编码由抗体和/或抗体组分产生的多专一性结合蛋白(或嵌合抗原受体)的区。通常,这类多专一性结合蛋白(或嵌合抗原受体)将由V<sub>H</sub>和/或V<sub>L</sub>区产生。在鉴定和选择显示所需结合和/或功能特性的抗体之后,每个抗体的可变区经分离、扩增、选殖和定序。可对V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>核苷酸序列进行修饰,包括添加编码氨基酸和/或携带限制位点的核苷酸序列、使编码氨基酸的核苷酸序列缺失或取代编码氨基酸的核苷酸序列。抗体和/或抗体组分可由人类、非人类(例如啮齿动物)、人类化或嵌合抗体产生。

[0402] 通过所属领域中已知的方法将本发明的核酸构筑体插入表达载体或病毒载体中,且核酸分子可操作地连接到表达控制序列。

[0403] 适当时,编码如本文所描述的人类抗体药剂、多专一性结合剂和嵌合抗原受体的核酸序列可经修饰以包括经优化以便在具体细胞类型或生物体(例如参见美国专利第5,670,356号和第5,874,304号)中表达的密码子。经密码子优化的序列是合成序列,且优选地编码由未经密码子优化的亲本聚核苷酸编码的一致多肽(或全长多肽的具有与全长多肽基本上相同的活性的生物活性片段)。在一些实施例中,编码遗传物质的抗体组分的编码区全部或部分可包括改变的序列以针对具体细胞类型(例如真核或原核细胞)优化密码子使用。举例来说,如本文所描述的人类重(或轻)链可变区的编码序列可经优化以便在细菌细胞中表达。替代地,编码序列可经优化以便在哺乳动物细胞(例如CHO)中表达。这类序列可描述成经密码子优化的序列。

[0404] 将含有核酸分子的表达载体转形是适合的宿主细胞以允许产生由核酸构筑体编码的蛋白质。例示性宿主细胞包括原核细胞(例如大肠杆菌)和真核生物(例如COS或CHO细胞)。用表达载体转形的宿主细胞在允许产生本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体的条件下生长,接着回收人类单克隆抗体、多专一性结合剂或嵌合抗原受体。在一些实施例中,宿主细胞包括在一或多种表达多肽中显示变异糖基化模式的这些细胞(参见例如美国专利第8,080,415号和第8,084,222号)。

[0405] 本发明的人类抗体药剂和/或多专一性结合剂可通过任何允许随后形成稳定抗体或结合剂分子的技术纯化。举例来说,不希望受理论束缚,人类抗体药剂和/或多专一性结合剂可以可溶多肽或以包涵体形式从细胞回收,从其中其可通过8M盐酸胍和透析定量地提取。为了进一步纯化本发明的人类抗体药剂和/或多专一性结合剂,可使用常规离子交



换色谱法、疏水性相互作用色谱、逆相色谱法或凝胶过滤。本发明的人类抗体药剂和 / 或多专一性结合剂还可以在从真核或原核细胞分泌之后从改良性培养基回收。

[0406] 可通过所属领域中已知的方法获得在免疫细胞表面上表达的嵌合抗原受体。通常, 将携带编码嵌合抗原受体多肽的核酸序列的表达载体转形成宿主细胞以用于表达。如上 文所描述, 这类宿主细胞可以是细胞系或初级人类细胞分离物, 如来自PBMC的T细胞。表达载体还可以包括编码信号肽和 / 或跨膜域和 / 或信号传导域的序列以使得嵌合抗原受体的表达靶向细胞膜。这类信号肽是所属领域的技术人员已知。通过所属领域中已知的方法将编码嵌合抗原受体多肽的表达载体引入宿主细胞中, 所述方法包括例如DNA转染、电穿孔、转染和感染(例如用病毒, 如腺病毒或逆转录病毒)。

[0407] 在一些实施例中, 编码如本文所描述的嵌合抗原受体的核酸分子提供在T细胞中的表达, 由此产生嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)。编码嵌合抗原受体的核酸分子可包括于一或多个载体(例如慢病毒或逆转录病毒载体)中以便在宿主免疫效应细胞(如T细胞)中表达。示例性免疫细胞包括T细胞、自然杀手(NK)细胞、细胞毒性T淋巴细胞(CTL)和调节T细胞。产生编码嵌合抗原受体的核酸分子和包括这类嵌合抗原受体的T细胞的方法在所属领域中已知(参见例如迪尔(Till, B.G.)等人, 2008, 血液学112(6):2261-71;布伦特扬斯(Brentjens, R.)等人, 2010, 分子疗法18(4):666-8;摩根(Morgan, R.A.)等人, 2010, 分子疗法18(4):843-51;帕克(Park, T.S.)等人, 2011, 生物科技趋势(Trends Biotechnol.) 29(11):550-7;格鲁普等人, 2013, 新英格兰医学杂志368(16):1509-18;韩(Han, E.Q.)等人, 2013, 血液学与肿瘤学杂志(J.Hematol.Oncol.) 6:47;WO 2012/079000、WO 2013/126726;和美国专利申请公开案第2012/0213783号)。

[0408] 结合物

[0409] 在所属领域中已知数种用于将治疗或检测剂与抗体药剂连接或结合的技术。一些连接技术涉及使用连接到抗体的金属螯合络合物, 其利用例如有机螯合剂, 如二亚乙三胺五乙酸酐(DTPA);亚乙三胺四乙酸;N-氯-对甲苯磺酰胺;和 / 或四氯-3 $\alpha$ -6 $\alpha$ -二苯基甘脲-3(参见例如美国专利第4,472,509号和第4,938,948号)。所提供的人类抗体药剂还可以在偶合剂(如戊二醛或过碘酸盐)存在下与酶反应。带有荧光素标记物的结合物例如在这些偶合剂存在下或通过与异硫氰酸盐反应来制备。

[0410] 在一些实施例中, 如本文所描述的人类抗体药剂与酬载实体结合。在一些实施例中, 酬载实体是或包含治疗剂;在一些实施例中, 酬载实体是或包含检测剂。

[0411] 保护基

[0412] 本发明的人类抗体药剂(或多专一性结合剂或嵌合抗原受体)可提供有所属领域中已知的保护基。不希望受任何具体理论束缚, 添加保护基在一些实施例中, 可改良添加其的多肽或肽的一或多种特性, 如稳定性和 / 或功效。在一些实施例中, 本文中描述的人类抗体药剂(或多专一性结合剂或嵌合抗原受体)可带有一或多个(例如一个、两个、三个、四个、五个或超过五个)保护基。保护基可偶合到如本文所描述的人类抗体药剂(或多专一性结合剂或嵌合抗原受体)的多肽或多肽链的N端和 / 或C端。适用于根据本发明的用途的保护基包括以引用的方式并入本文中的美国临时专利申请案第62/131,128号中描述的这些保护基。

[0413] 治疗剂

[0414] 治疗剂可以是或包含任何类别的化学实体,包括(例如)(但不限于)蛋白质、碳水化合物、脂质、核酸、小有机分子、非生物聚合物、金属、离子、放射性同位素等。在一些实施例中,根据本发明使用的治疗剂可具有与治疗癌症的一或多种症状或病因有关的生物活性。在一些实施例中,根据本发明使用的治疗剂可具有与调节免疫系统和/或增强 T 细胞介导的细胞毒性有关的生物活性。在一些实施例中,根据本发明使用的治疗剂具有一或多种其它活性。

[0415] 在一些实施例中,结合治疗剂是放射性同位素、药物结合物、纳米粒子、免疫毒素或任何其它治疗酬载。

[0416] 检测剂

[0417] 检测剂包含例如由于其具体功能特性和/或化学特征而可使用分析检测的任何部分。这类试剂的非限制性实例包括酶、放射性标记、半抗原、荧光标记、磷光分子、化学发光分子、发色团、发光分子、光亲和性分子、着色粒子或配位体(如生物素)。

[0418] 许多检测剂在所属领域中已知,用于将其连接到抗体的系统也是已知的(参见例如美国专利第5,021,236号、第4,938,948号和第4,472,509号)。这类检测剂的实例尤其包括顺磁离子、放射性同位素、荧光染料、NMR可检测物质、X射线显影剂。举例来说,在一些实施例中,顺磁离子是以下中的一或多个:铬(III)、锰(II)、铁(III)、铁(II)、钴(II)、镍(II)、铜(II)、钼(III)、钐(III)、镱(III)、钆(III)、钒(II)、铽(III)、镨(III)、铈(III)、铟(III)、镧(III)、金(III)、铅(II)和/或铋(III)。

[0419] 放射性同位素可以是以下中的一或多个:铜-225、砷-211、铋-212、碳-14、铬-51、氯-36、钴-57、钴-58、铜-67、镅-152、镓-67、氢-3、碘-123、碘-124、碘-125、碘-131、铟-111、铁-59、铅-212、镭-177、磷-32、镭-223、镭-224、铈-186、铈-188、硒-75、硫-35、锝-99m、钷-227、钷-90和钷-89。放射性标记的人类抗体药剂可根据所属领域中众所周知的技术产生。举例来说,单克隆抗体可通过与碘化钠和/或碘化钾和化学氧化剂(如次氯酸钠)或酶氧化剂(如乳过氧化酶)接触而碘化。所提供的人类抗体药剂可通过配位体交换方法用镱-99m标记,例如通过用亚锡溶液还原高镱酸盐,将还原的镱螯合到葡聚糖凝胶管柱上且将抗体施加到这一管柱上。在一些实施例中,使用直接标记技术,例如通过培育高镱酸盐、还原剂(如 $\text{SnCl}_2$ )、缓冲溶液(如邻苯二甲酸钠-钾溶液)和抗体来标记所提供的人类抗体药剂。在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂可结合于中间官能团。中间官能团通常用于将以金属离子形式存在的放射性同位素结合于抗体。放射性同位素可通过例如剂量测定法来检测。

[0420] 荧光标记尤其可以是或可包含以下中的一或多个:Alexa 350、Alexa 430、AMCA、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665、BODIPY-FL、BODIPY-R6G、BODIPY-TMR、BODIPY-TRX、级联蓝(Cascade Blue)、Cy3、Cy5、6-FAM、异硫氰酸荧光素、HEX、6-JOE、俄勒冈绿(Oregon Green) 488、俄勒冈绿500、俄勒冈绿514、太平洋蓝(Pacific Blue)、REG、如果丹明绿(Rhodamine Green)、如果丹明红、肾造影剂(Renographin)、ROX、TAMRA、TET、四甲基如果丹明和/或德克萨斯红(Texas Red)。

[0421] 在一些实施例中,结合检测剂是诊断或显影剂。

[0422] 筛选、检测和治疗方法

[0423] 本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂和/或嵌合抗原受体也可用于活体外或

活体内筛选方法中,其中需要检测和/或测量一或多个细胞的一或多种活性(例如细胞凋亡或细胞生长)。筛选方法是所属领域中众所周知的且包括无细胞分析、基于细胞的分析 and 动物分析。活体外分析可以是固态或可溶靶分子检测可以所属领域中已知的多种方式实现,包括使用能够鉴定与靶分子(例如细胞表面抗原)结合的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体的标记或可检测基团。可检测标记可与使用本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体的分析结合使用。

[0424] 本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂和/或嵌合抗原受体显示对CD19的高亲和力和/或专一性的能力使其在治疗学上适用于有效地靶向表达CD19的细胞(例如淋巴瘤或白血病细胞)。因此,在一些实施例中,可能需要增加人类抗体药剂或多专一性结合剂对一种靶抗原(例如CD19)而非也由多专一性结合剂结合的另一靶抗原(或在人类单克隆抗体的情况下,Fc受体)的亲和力。举例来说,在肿瘤杀死的情况下,某些病状可受益于对肿瘤抗原(例如CD19)而非对能够介导肿瘤杀死的细胞(例如T细胞)表面上的抗原的亲和力增加。因此,可有益的是经由使用如本文所描述的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体增加具有表达肿瘤抗原的肿瘤的患者中人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体对肿瘤抗原的结合亲和力和/或专一性。

[0425] 本发明提供如本文所描述的作为治疗剂的人类抗体药剂、多专一性结合剂和/或嵌合抗原受体,其用于治疗具有肿瘤的患者,所述肿瘤表达能够由其结合的抗原。这类人类抗体药剂、多专一性结合剂和/或嵌合抗原受体可用于治疗人类或动物身体的方法中或诊断方法中。

[0426] 在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体适用于药物中。在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体适用(例如作为预防剂)于治疗或预防CD19相关疾病或恶性病。在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体适用于治疗显示与CD20相关疾病或恶性病相关或关联的负面后果(例如低效内化)的患者。在一些实施例中,所提供的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体适用于治疗应用,例如在罹患或易罹患CD19相关疾病或恶性病的个体中。

[0427] 投药

[0428] 本发明提供向需要治疗的个体投与有效量的在本文中描述的治疗活性剂(例如人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体)的方法。

[0429] 如本文所描述的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体可经由所属领域中已知的用于治疗性递送药剂的各种方法投与,如蛋白质或核酸可用于治疗性递送人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体或编码本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体的核酸以杀死个体的靶细胞或抑制其生长,例如细胞转染、基因疗法、用递送媒介或医药学上可接受的载体直接投与、通过提供包含编码本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体的核酸的重组细胞来间接递送。

[0430] 各种递送系统已知且可用于投与本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体,例如囊封在脂质体、微粒、微囊、能够表达所述抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体的重组细胞中、受体介导的内吞作用(参见例如吴(Wu)和吴(Wu),1987,生物化学杂志262:4429-32)、构筑核酸作为逆转录病毒或其它载体的一部分等。投与途径可以是

经肠或非经肠且包括(但不限于)静脉内、皮下、肌肉内、非经肠、经皮或经粘膜(例如经口或经鼻)。在一些实施例中,静脉内投与本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体。在一些实施例中,皮下投与本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体。在一些实施例中,本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体连同一或多种生物活性剂一起投与。

[0431] 医药组合物

[0432] 本发明进一步提供包含本发明的人类抗体药剂、多专一性结合剂或嵌合抗原受体和医药学上可接受的载剂或赋形剂的医药组合物。视需要组合物还可以含有一或多种其它治疗活性物质。

[0433] 在一些实施例中,包含嵌合抗原受体的医药组合物可以用于感染从个体分离的自体T细胞的病毒(例如慢病毒或逆转录病毒)形式提供。在这类实施例中,自体T细胞感染有已经工程改造以表达如本文所描述的嵌合抗原受体的病毒,由此产生嵌合抗原受体T细胞以再输注到个体(例如人类患者)中。

[0434] 在一些实施例中,包含嵌合抗原受体的医药组合物可以表达所述嵌合抗原受体的宿主细胞(或其群体)和医药学上可接受的载剂的形式提供。例示性宿主细胞包括T细胞或NK细胞且可以是自体或同种异体。因此,表达如本文所描述的嵌合抗原受体的宿主细胞可配制成医药组合物以便向个体(例如人类)投与。这类医药组合物可包含表达相同或不同(两种、三种、四种等)的如本文所描述的嵌合抗原受体的宿主细胞群体。替代地,包含表达如本文所描述的嵌合抗原受体的宿主细胞的医药组合物可更包含一或多种其它医药活性剂或药物,如化学治疗剂,例如天冬酰胺酶、硫酸布他卡因(busulfan)、卡铂、顺铂、道诺霉素(daunorubicin)、小红莓(doxorubicin)、氟尿嘧啶、吉西他滨(gemcitabine)、羟基脲、甲氨蝶呤(methotrexate)、太平洋紫杉醇、利妥昔单抗(rituximab)、长春碱、长春新碱等。在各种实施例中,包含如本文所描述的嵌合抗原受体的医药组合物以表达所述嵌合抗原受体的宿主细胞或其群体形式提供。

[0435] 尽管本文提供的医药组合物的描述大体上涉及适用于依据处方投与人类的医药组合物,所属领域的技术人员应了解,这类组合物一般适合于向所有类型的动物投与。应充分理解,为了使组合物适用于向各种动物投与,对适用于向人类投与的医药组合物进行修改,且一般兽医药理学家可仅用一般实验(如果存在)设计和/或进行这类修改。

[0436] 医药组合物可以无菌可注射形式(例如适用于皮下注射或静脉内输注的形式)提供。举例来说,在一些实施例中,医药组合物以适用于注射的液体剂型提供。在一些实施例中,医药组合物任选地在真空下以粉剂(例如冻干和/或灭菌)形式提供,其在注射的前用水性稀释剂(例如水、缓冲液、盐溶液等)复原。在一些实施例中,医药组合物在水、氯化钠溶液、乙酸钠溶液、苯甲醇溶液、磷酸盐缓冲盐水等中稀释和/或复原。在一些实施例中,粉剂应与水性稀释剂轻轻地混合(例如不震荡)。

[0437] 本文中描述的医药组合物的配制物可通过药理学技术中已知或此后开发的任何方法制备。一般来说,这类制备方法包括使活性成分与稀释剂或另一赋形剂和/或一或多种其它附属成分结合,且随后必要和/或需要时,使产物成形和/或封装成所需单剂量或多剂量单位的步骤。

[0438] 本发明的医药组合物可以散装、以单一单位剂量和/或以多个单一单位剂量形式

制备、封装和/或出售。如本文所用,“单位剂量”是包含预定量的活性成分的医药组合物的个别量。活性成分的量通常等于将向个体投与的活性成分的剂量和/或这一剂量的适宜部分,如这一剂量的一半或三分之一。

[0439] 本发明的医药组合物中活性成分、医药学上可接受的赋形剂和/或任何其它成分的相对量将视治疗的个体的身分、体型和/或病状且进一步视将投与组合物的途径而变化。举例来说,组合物可包含0.1%与100% (w/w) 之间的活性成分。

[0440] 医药配制物可另外包含医药学上可接受的赋形剂,其如本文所用,包括任何和所有适合于所需具体剂型的溶剂、分散介质、稀释剂或其它液体媒剂、分散或悬浮助剂、表面活性剂、等张剂、增稠或乳化剂、防腐剂、固体粘结剂、润滑剂等。雷明顿药物科学 与实践 (Remington's The Science and Practice of Pharmacy), 第21版, 热纳罗 (A.R. Gennaro) (利平科特威廉姆斯和威尔金斯公司 (Lippincott, Williams & Wilkins), 马里兰州巴尔的摩 (Baltimore, MD), 2006) 公开在配制医药组合物中使用的各种赋形剂和用于其制备的已知技术。除非任何常规赋形剂介质与物质或其衍生物不相容 (如通过产生任何非所需生物效果或另外以有毒方式与医药组合物的任何其它组分相互作用), 其使用涵盖在本发明的范围内。

[0441] 在一些实施例中,医药学上可接受的赋形剂是至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%纯。在一些实施例中,赋形剂经批准在人类中使用。在一些实施例中,赋形剂经批准用于兽医用途。在一些实施例中,赋形剂经美国食品与药物管理局 (the United States Food and Drug Administration) 批准。在一些实施例中,赋形剂是医药级。在一些实施例中,赋形剂满足美国药典 (United States Pharmacopoeia; USP)、欧洲药典 (European Pharmacopoeia; EP)、英国药典 (British Pharmacopoeia) 和/或国际药典 (International Pharmacopoeia) 的标准。

[0442] 在制造医药组合物中使用的医药学上可接受的赋形剂包括 (但不限于) 惰性稀释剂、分散和/或成粒剂、表面活性剂和/或乳化剂、崩解剂、粘结剂、防腐剂、缓冲剂、润滑剂和/或油。这类赋形剂可任选地包括于医药配制物中。根据配制者的判断,赋形剂 (如 可可脂和栓剂蜡、着色剂、涂布剂、甜味剂、调味剂和/或芳香剂) 可存在于组合物中。

[0443] 在一些实施例中,所提供的医药组合物包含一或多种医药学上可接受的赋形剂 (例如 防腐剂、惰性稀释剂、分粉剂、表面活性剂和/或乳化剂、缓冲剂等)。在一些实施例中,医药组合物包含一或多种防腐剂。在一些实施例中,医药组合物不包含防腐剂。

[0444] 在一些实施例中,医药组合物以可冷冻和/或冻结的形式提供。在一些实施例中,医药组合物以无法冷冻和/或冻结的形式提供。在一些实施例中,在复原之后复原溶液和/或液体剂型可储存某一段时间 (例如2小时、12小时、24小时、2天、5天、7天、10 天、2周、一个月、两个月或更长)。在一些实施例中,储存基于抗体的组合物大于指定 时间引起基于抗体的实体降解。

[0445] 在投与之前液体剂型和/或复原溶液可包含颗粒物质和/或变色。在一些实施例中,如果变色或混浊和/或如果颗粒物质在过滤之后仍然存在,则不应使用溶液。

[0446] 配制和/或制造药剂中的一般考虑因素可见于例如雷明顿药物科学与实践第21版, 利平科特威廉姆斯和威尔金斯公司, 2005中。

[0447] 试剂盒

[0448] 本发明进一步提供医药封装或试剂盒,其包含一或多个填充有至少一种如本文所描述的人类抗体药剂、多专一性结合剂(例如双专一性抗体)或嵌合抗原受体(或嵌合抗原受体免疫效应细胞)的容器。试剂盒可用于任何可适用的方法,包括(例如)在诊断上。任选地与这类容器相关的可以是呈由管理药剂或生物产品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的说明,所述说明反映(a)经所述机构批准制造、使用或销售以用于人类投与,(b)使用说明,或这两种。

[0449] 本发明的其它特征在例示性实施例的以下描述中将变得显而易见,所述例示性实施例是为了说明本发明而给出且不意图对其进行限制。本文中引用的所有专利和非专利文献以全文引用的方式并入本文中。

[0450] 实例

[0451] 提供以下实例以便向一般技术人员描述如何产生和使用本发明的方法和组合物,且不意图限制本发明人视为其发明的内容的范围。除非另外指示,否则温度以摄氏度指示,且压力是或接近大气压。

[0452] 实例1.产生和选择对人类CD19具有专一性的人类抗体药剂

[0453] 本实例显示对人类CD19具有专一性的人类抗体药剂的产生。具体地说,本实例显示专一性结合原生形式的人类CD19的人类单链可变片段(scFv)的产生。使用从正常供体和/或自体免疫疾病供体研发的未处理或半合成人类抗体库研发本文中描述的人类抗体药剂且基于对人类CD19的高专一性经由在于细胞表面表达的呈其天然构形的人类CD19上淘选来选择。因此,这类人类抗体药剂提供抗体组分的有价值的来源以便尤其构筑可另外从在自然界中发现的谱系缺失的全长IgG、多专一性结合剂和嵌合抗原受体。

[0454] 简单来说,研发抗人类CD19抗体药剂的例示性概述阐述在表4中。方法以鉴定来自Eureka ALPHA<sup>TM</sup>噬菌体库的人类CD19专一性和生物活性抗体药剂开始。前几种抗体药剂候选物经历亲和成熟以产生具有对标靶癌细胞的改良的结合亲和力和较好细胞毒性的抗体药剂。

[0455] 在优瑞科生物技术公司(Eureka Therapeutics)构筑的名为ALPHA<sup>TM</sup>噬菌体库的人类scFv抗体噬菌体呈现库的集合(分集= $10 \times 10^{10}$ )用于选择对人类CD19具有专一性的人类抗体药剂。ALPHA<sup>TM</sup>噬菌体库包括由完全未处理人类重链和轻链谱系组成的未处理库,和含有完全未处理人类轻链谱系和具有完全随机分布的重链CDR3区的半合成重链的半合成库。未处理抗体谱系选殖于健康供体的PBMC和脾或自体免疫疾病供体(如全身性红斑性狼疮症和类风湿性关节炎)的PBMC。scFv库在对重组人类CD19ECD-Fc融合蛋白和包括Raji和3T3-CD19细胞的人类CD19阳性细胞(下文描述)进行淘选中使用。对于蛋白质淘选,将Fc融合蛋白直接涂布于96孔盘上且与人类scFv噬菌体库混合。在用PBS缓冲液延长洗涤之后,溶离结合克隆且用于感染大肠杆菌XL1-Blue。对于细胞淘选,首先将3T3-CD19或Raji细胞与人类scFv噬菌体库混合。在用PBS延长洗涤之后,快速离心具有结合scFv抗体噬菌体的细胞。结合的克隆接着经溶离且用于感染大肠杆菌XL1-Blue细胞。噬菌体克隆在细菌中表达和经纯化。进行三到四轮淘选以富集专一性结合人类CD19的胞外区的scFv噬菌体克隆。

[0456] 如表5(ALPHA<sup>TM</sup>噬菌体呈现概述)中所示,当在淘选步骤中包括蛋白质淘选且针对重组人类CD19ECD-Fc融合蛋白的ELISA结合用作初级噬菌体克隆筛选方法时,在从淘选富

集噬菌体池筛选762个噬菌体克隆之后仅单一独特抗体克隆经鉴定是细胞-表面 人类CD19结合剂。本发明人随后仅进行细胞淘选且在FACS分析中使用人类CD19阳 性细胞系作为初级筛选方法。从使用这一淘选操作筛选的690个克隆鉴定结合细胞表面 人类CD19的七个其它独特克隆。

[0457] 对于ELISA分析,分别用人类CD19ECD-Fc或阴性对照901-Fc涂布标准ELISA 盘。在经涂布盘中培育来自富集噬菌体呈现淘选池的个别噬菌体克隆。噬菌体克隆的结 合通过HRP结合的抗M13抗体检测且使用HRP底物显影。在450nm处读取吸光度。鉴定多个人类CD19ELISA-专一性噬菌体克隆且例示性克隆显示于图1A中。在筛选的 762个噬菌体克隆当中,如通过ELISA分析所测定,认为85个独特抗体克隆是hCD19 专一性。

[0458] 随后通过流式细胞测量术使用人类CD19-阳性Raji和3T3-hCD19细胞系和人类CD19阴性Jurkat和3T3细胞系测试ELISA-阳性噬菌体克隆的细胞-表面人类CD19结合 (图1B)。细胞首先用纯化scFv噬菌体克隆染色,接着与小鼠抗M13单克隆抗体混合, 且最后与R-PE结合的鼠抗小鼠IgG (Vector Labs) 混合。各染色步骤在30-60分钟之间于 冰上进行且细胞在染色之间洗涤两次。一个独特克隆37经鉴定是专一性结合人类CD19<sup>+</sup> Raji和3T3-CD19细胞且不结合hCD19<sup>-</sup> Jurkat和3T3 (图1B)。

[0459] 在不利用ELISA结合筛选的情况下针对细胞表面人类CD19结合直接测试仅通过细胞淘选选择噬菌体克隆的第二筛选的命中物。如图2中所示,例示性克隆4、5和6显示 对Raji细胞的专一性结合,而克隆7也显示对Raji-CD19基因剔除细胞的一些可检测结 合。

[0460] 如本实例中所示,人类CD19抗体的噬菌体淘选效率极低,因为在从初级筛选鉴定的1452个个别噬菌体克隆当中仅鉴定八个专一性和独特(依据序列) 克隆。由自体免疫疾病未处理库产生一个克隆(37),且由从正常供体B细胞制成的未处理或半合成人类抗体 库产生七个其它克隆。

[0461] 表4

阶段		方法
[0462]	用 ALPHA <sup>TM</sup> 噬菌体库进行初级淘选	蛋白质和细胞淘选 噬菌体克隆的 ELISA 和/或 FACs 筛选
	克隆表征	标靶癌细胞杀死 人类 B 细胞结合
	亲和力成熟	亲和力成熟噬菌体库构筑 细胞淘选 噬菌体克隆的 FACs 筛选
	克隆表征	K <sub>D</sub> 测量 标靶癌细胞杀死

[0463] 表5

[0464]	<u>蛋白质/细胞淘选</u>	<u>细胞淘选</u>
--------	-----------------	-------------



	克隆数		克隆数
[0465]	(ELISA 筛选)	762	(FACS 筛选)
	结合细胞-表面 CD19 的克隆	1	结合细胞-表面 CD19 的克隆
			7

[0466] 实例2.使用人类CD19抗体药剂产生双专一性抗体构筑体

[0467] 本实例显示使用对人类CD19具有专一性的人类scFv片段构筑多专一性结合剂。具体地说,本实例特别显示构筑具有结合原生形式(在细胞表面上表达)的人类CD19的第一抗原结合位点和结合T细胞上的CD3的第二抗原结合位点的双专一性抗体。因此,本发明实例说明在一些实施例中,使用含有如本文所描述的抗体组分的多专一性结合剂,可导引T细胞杀死表达人类CD19的靶细胞。

[0468] 使用人类CD19-专一性噬菌体克隆的scFv序列产生双专一性抗体。使用在N端包含人类CD19-专一性噬菌体克隆的 $V_L$ - $V_H$  scFv序列且在C端包含抗人类CD3 $\epsilon$ 小鼠单克隆scFv的单链形式构筑双专一性抗体(例如参见布里斯科文(Brischwein,K.)等人,分子免疫学43:1129-1143,2006)。通过金唯智公司(Genewiz)或金斯瑞公司(Genscript)合成编码人类CD19 scFv和抗人类CD3 $\epsilon$ scFv的DNA片段且使用标准重组DNA技术次选殖到哺乳动物表达载体pQD-T(优瑞科生物技术公司(Eureka Therapeutics,Inc.))中。六组胺标签插入C端以用于纯化和检测。HEK293细胞用双专一性抗体表达载体转染且培养七天以用于双专一性抗体产生。通过FPLC AKTA系统使用HisTrap HP管柱(通用电气医疗集团(GE Healthcare))从HEK293细胞上清液纯化双专一性抗体。HEK293细胞培养物经澄清且在低咪唑浓度(20mM)下装载到管柱上,且随后等度高咪唑浓度溶离缓冲液(500 mM)用于溶离结合的双专一性抗体。在非还原条件下通过凝胶电泳测量经纯化人类CD19双专一性抗体的分子量。蛋白质(4 $\mu$ g)与2.5 $\mu$ L NuPAGE LDS样品缓冲液(赛默飞世尔公司(Life Technologies),NP0008)混合且通过去离子水使其达到10 $\mu$ L。加热样品到70℃持续10分钟且装载到凝胶上。在180V下进行凝胶电泳1小时。在凝胶上观察到呈主要物质的对应于双专一性抗体的条带(约55kD)(图3)。

[0469] 综合来说,本实例显示具有对在细胞表面上表达(即原生形式)的人类CD19具有专一性的第一抗原结合位点和对CD3具有专一性的第二抗原结合位点的双专一性分子的成功构筑。这类双专一性分子的进一步表征描述于以下实例中。

[0470] 实例3.人类CD19双专一性抗体的表征

[0471] 本实例显示所选双专一性分子的CD19结合概况。具体地说,本实例特别描述在溶液中所选双专一性抗体分子对重组人类CD19(即人类CD19ECD-Fc)的结合概况。

[0472] 与重组人类CD19ECD-Fc融合蛋白结合.使用Fortebio Octet测试鉴定为对细胞表面人类CD19具有专一性的结合剂的噬菌体克隆在溶液中与重组人类CD19ECD-Fc融合蛋白的结合。将经生物素标记的人类CD19ECD-Fc融合蛋白(5 $\mu$ g/mL)装载到抗生物素菌素生物传感器上。在洗掉过量抗原之后,在10 $\mu$ g/mL下在PBS缓冲液中测试双专一性抗体的结合和解离。识别细胞表面表达的人类CD19的测试克隆中没有显示与重组人类CD19ECD-Fc融合蛋白(包括克隆37,其是ELISA-阳性克隆)的结合。图4显示示例性克隆和BL19(比较抗CD19双专一性抗体)的Octet hCD19结合资料。因此,本发明人推论与天然人类CD19(即在细胞表面上)以及ELISA-盘结合人类CD19相比,重组hCD19蛋白质可具有不同结构构形。用重组人类CD19涂布ELISA盘可迫使形成模拟天然hCD19但具有极低效率的某

一构形。85个人类CD19ELISA-专一性抗体克隆中仅一个显示对细胞-表面人类CD19的专一性。用表达人类CD19的细胞进行细胞淘选产生更多对细胞表面表达的人类CD19具有专一性的阳性抗体克隆。

[0473] 与初级人类B细胞结合.通过用PerCP-结合的抗人类CD20抗体、APC-标记的抗人类CD3抗体和抗CD19双专一性抗体将人类PBMC共染色来测试人类B细胞的抗CD19 抗体结合。在用PBS缓冲液进行一轮短暂洗涤之后,向混合物中添加FITC-标记的抗 His标签抗体作为二级抗体以检测双专一性抗体。对于流式细胞测量术分析,通过阳性 CD20染色和阴性CD3染色分选人类B细胞(参见图5A中的方框)。评估抗CD19双专一性抗体识别在这些CD20<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>细胞上表达的人类CD19的能力。

[0474] 通过FITC通道中的平均荧光强度(MFI)测量抗CD19与CD20<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>细胞的结合的水准。如表6中所示,阴性对照双专一性抗体(NC-ET901)不结合人类B细胞。相比之下,测试的所有抗人类CD19双专一性抗体克隆均识别人类B细胞且显示正结合信号。

[0475] T细胞杀死分析.使用LDH细胞毒性分析(普洛麦格公司(Promega))来分析肿瘤细胞 毒性。人类T细胞(澳赛尔斯公司(AllCells))或来自全血的Ficoll纯化细胞(太平洋血液中心(Blood Centers of the Pacific))用CD3/CD28Dynabeads(英杰公司(Invitrogen))根据制 造商的说明活化和扩增。活化T细胞在具有10%FBS加100U/mL IL-2的RPMI1640培 养基中培养和维持,且在活化后第7-14天使用。通过FACS分析,T细胞是>99%CD3<sup>+</sup>。活化T细胞和标靶细胞以5:1比率与双专一性抗体共培养16小时。通过在培养物上清 液中测量LDH活性测定细胞毒性。

[0476] 如图5B中所示,基于克隆4、5和6的在0.2μg/ml下的双专一性抗体分子以人类CD19-专一性方式有效介导癌细胞的杀死。此外,基于克隆37的双专一性抗体分子显示 对CD19阴性细胞系(Jurkat和THP-1)的一些可检测杀死。在scFv的情况下,通过流式 细胞测量术,克隆37未显示与Jurkat细胞的结合(图1B)。

[0477] 表6

	CD19×CD3 双专一性抗体克隆	FITC 通道中的平均荧光 强度(MFI)
[0478]	4	545
	5	1271
	6	2195
	7	1880
	37	2083
	NC-ET901 (NC-ET901: 对照)	144

[0479] 实例4. 抗人类CD19抗体药剂的亲合力成熟

[0480] 本实例显示抗人类CD19抗体药剂的亲合力成熟。具体地说,本实例特别显示通过将随机突变并入所选抗人类CD19抗体药剂(克隆4、5和6)中接着筛选和表征抗体变异 体来产生一系列抗体变异体。

[0481] 产生变异噬菌体库.编码抗人类CD19 scFv的DNA使用GeneMorph II随机突变诱发试剂盒(安捷伦科技有限公司(Agilent Technologies))根据制造商的说明经受随机突变 诱发。在突变诱发之后,将DNA序列选殖到表达scFv的噬菌粒载体中以构建变异抗体噬 菌

体库。单独地构建各抗人类CD19专一性克隆的突变库。每个突变库含有约 $5 \times 10^8$ 个 独特噬菌体克隆。平均来说,与每个scFv序列,在1到4个核苷酸突变范围内的亲本 抗人类CD19克隆相比,变异克隆具有两个核苷酸突变。在亲本克隆4、5和6上构建三 个库(表7)。与各别亲本克隆相比的在所选亲和力成熟抗人类CD19抗体药剂的 $V_H$ 和 $V_L$ 区中的例示性突变阐述在表8中。

[0482] 测试来自富集噬菌体淘选池的名为变异克隆的个别噬菌体克隆与其各别亲本克隆 相比,与细胞表面人类CD19的增强的结合。如图6A中所示,多个变异噬菌体克隆专 一性识别人类CD19阳性癌细胞系,包括Raji和Jeko-1细胞。克隆中没有一个显示与人 类CD19阴性细胞系(如Raji-CD19k.o.或Jurkat细胞)的结合。值得注意的是,多个克隆 显示与各别亲本克隆相比,与Raji和Jeko-1细胞的结合增强。

[0483] 进行竞争细胞-结合分析以比较与亲本克隆相比,变异克隆的结合亲和力(图6B)。简单来说,将变异噬菌体克隆与已与其对应亲本双专一性抗体克隆一起预培育的Raji 细胞混合,接着用抗M13小鼠抗体和PE结合的抗小鼠抗体染色。

[0484] 与其亲本克隆相比,变异克隆5-1、5-3、5-4、5-9、5-13和6-1显示改良的标靶结合。在亲本克隆双专一性抗体存在下,这些噬菌体克隆显示与亲本噬菌体克隆,克隆5 或6相比,与Raji细胞的结合增加。通过双专一性抗体滴定流式细胞测量术获得抗体结 合亲和力的较准确测量值(参见下表9)。

[0485] 表7

	亲本克隆	噬菌体库名称	库尺寸	突变率(每 1000 个 bp)
[0486]	4	ET190-4AM	3.25E+08	4.0
	5	ET190-5AM	4.50E+08	3.1
	6	ET190-6AM	5.70E+08	3.3

[0487] 表8

克隆	V <sub>L</sub>					V <sub>H</sub>								
	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
[0488]	5-1					S75N								
	5-2					T69M								
	5-3					D52N D95E								
	5-4	V10M				D95G								
	5-5					S93T	S17F					T69A		
	5-7					N68T							Y108N	
	5-9												S63F	
	5-10						Q3R Y32F						A97V	
	5-11	K16E												
	5-13												M117L	
	5-15					L72M	S25A							
	6-1												T102S L116M	
	6-2	S25N		V34I			K12E						D109E	
	6-4						E16G							
	6-5					L54Q							M106L	
	6-6	S25N												
	6-7							G26A						Q113L
	6-8					L54Q								
6-9												T102S		

[0489] 实例5.基于抗人类CD19抗体药剂变异体的双专一性抗体分子的产生和表征

[0490] 本实例显示使用对人类CD19具有专一性的变异人类scFv片段构筑多专一性结合剂。具体地说,本实例特别显示构筑具有结合原生形式(在细胞表面上表达)的人类CD19 的第一抗原结合位点和结合T细胞上的CD3的第二抗原结合位点的双专一性抗体。因此,本发明实例说明在一些实施例中,使用含有如本文所描述的抗体组分的多专一性结合剂,可导引T细胞杀死表达人类CD19的靶细胞。

[0491] 产生变异克隆双专一性抗体.如实例2中所描述产生来源于亲和力改良的变异抗体 克隆的双专一性抗体。大多数克隆在SDS-PAGE上以>90%纯度显示单一条带(图7A)。

[0492] 变异双专一性抗体的结合亲和力测定.亲本抗体和其衍生物(变异克隆)均不识别重组人类CD19,尽管其均结合于细胞表面表达的人类CD19。因此本发明人经由抗体滴定流式细胞测量术使用人类CD19阳性癌细胞测定与亲本抗体相比,变异克隆的相对结合 亲和力(表9)。

[0493] 将连续稀释浓度下的双专一性抗体克隆与相同量的Raji细胞混合。基于流式细胞测量术结合信号计算抗体 $EC_{50}$ 和表观 $K_D$ 。如表9中所示,除克隆5-4的外,许多基于亲 本克隆5的变异克隆显示略微增加的亲和力(较低 $EC_{50}$ 和表观 $K_D$ )。对于基于亲本克隆6 的变异克隆,克隆6-1和6-4还显示与其各别亲本克隆相比,增加的亲和力(较低 $EC_{50}$ 和表观 $K_D$ )。

[0494] T细胞杀死分析.使用LDH细胞毒性分析(普洛麦格公司)测定肿瘤细胞毒性。人类T细胞用CD3/CD28Dynabeads(英杰公司)根据制造商的说明活化和扩增。活化T细胞在 具有10%FBS加100U/mL IL-2的RPMI1640培养基中培养和维持,且在活化后第7-14 天使用。通过FACS分析,T细胞是>99%CD3<sup>+</sup>。活化T细胞和靶细胞以5:1比率与 双专一性抗体共培养16小时。通过在培养物上清液中测量LDH活性测定细胞毒性(图 7B)。

[0495] 如图8中所示,测试的变异克隆维持如其亲本抗体的最初结合专一性。对于图11中所示的细胞杀死分析,例示性变异克隆与克隆37(用作阳性对照双专一性抗体,因为 这一克隆显示对人类CD19-阴性细胞、Raji-CD19k.o.、Jurkat和THP-1的可检测的非专 一性细胞毒性)一起测试。与其各别亲本克隆相比,测试的多个变异克隆显示对人类CD19 阳性细胞系(Raji和Jeko-1)中的一个或两个的相等或增加的细胞杀死效率。

[0496] 表9

	克隆	EC <sub>50</sub> (μg/mL)	表观 K <sub>D</sub> (nM)
	5 号	0.101	1.9
	5-1	0.097	1.9
	5-3	0.081	1.6
	5-4	0.124	2.4
	5-9	0.075	1.4
	5-10	0.097	1.9
	5-13	0.089	1.7
[0497]	6 号	0.214	4.1
	6-1	0.116	2.2
	6-2	4.02	77.3
	6-4	0.156	3.0
	6-7	0.242	4.7
	NC-ET901	不可检测	-
	(NC-ET901: 对照)		

[0498] 实例6. 表达抗人类CD19嵌合抗原受体的T细胞 (CAR-T) 的表征

[0499] 本实例显示使用先前实例中描述的抗人类CD19抗体药剂构筑嵌合抗原受体 (CAR)。具体地说, 本实例特别显示构筑包括CD19人类抗体药剂的抗原结合位点且在T细胞表面上表达的CAR。另外, 由T细胞表达的CAR在针对人类淋巴瘤异种移植模型的细胞毒性分析中采用。因此, 本发明实例说明在一些实施例中, 使用包括来自本文中描述的人类抗体药剂的抗原结合位点的CAR适用于杀死表达人类CD19的标靶细胞 (例如淋巴瘤)。

[0500] 人类CD19转导的T细胞的活体外细胞毒性. 通过用CAR载体转染293T细胞产生含有人类CD19专一性嵌合抗原受体 (CAR) 的慢病毒。人类T细胞用于在用CD3/CD28 珠粒 (Dynabeads®, 英杰公司) 刺激一天之后在100U/mL下的IL-2存在下进行转导。将浓缩慢病毒涂覆到含T细胞的经Retronectin (塔卡拉公司 (Takara)) 涂布的6孔盘持续72 小时。使用LDH细胞毒性分析进行转导T细胞 (CD19/CAR-T细胞) 的功能评估。效应比 标靶细胞比率是5:1。代表性结果阐述在图8中。

[0501] 如图8中所示, 三个基于变异抗体克隆 (克隆5-3、5-9和5-13) 的CAR显示与亲本克隆5相比, 对Raji和Jeko-1细胞系的癌细胞杀死效率显著增加。这一实验中使用的效应比标靶比率是5:1。如由人类CD19阴性细胞 (Raji-CD19k.o. 和Jurkat) 的杀死的低水准所指示, 杀死专一性确认为CD19- 专一性。另外, 使用本文中描述的人类抗体药剂产生的表达CAR的T细胞显示与用其它抗CD19抗体 (BL19、FMC63) 产生的CAR-T类似或较高的细胞杀死效率。

[0502] 在类似实验中, 使用一大组CD19阳性和阴性癌细胞系测试人类CD19CAR-T (上文所描述)。简单来说, 用所选编码抗CD19抗体的CAR模拟转导 (模拟) 或转导初级T细胞。通过FACS使用抗myc抗体分析转导T细胞以检测CAR构筑体的细胞外域中的myc- 标签。

[0503] 结果显示由如上文所描述的人类抗体药剂产生的抗CD19CAR-T细胞具有约80%转导效率 (图9, 顶部)。在5:1的效应比标靶比率下测试CAR-T细胞专一性杀死表达CD19 的癌细胞的能力。如图9 (底部) 中所示, 测试的表达两种抗CD19克隆的CAR-T细胞专一性杀死

CD19<sup>+</sup>细胞 (Raji、CA46、Jeko-1和Daudi),但不杀死CD19<sup>-</sup>细胞 (Raji-CD19k.o.、 Jurkat、 THP-1、HeLa、MDA-MB-231、MCF-7、SK-Hep-1和HepG2)。

[0504] 在另一类似实验中,使用一组如上文所描述的CD19阳性和阴性癌细胞系测试由本文中描述的所选人类抗体药剂和非人类(例如鼠)抗体产生的CAR-T。简单来说,初级T 细胞用编码本文中描述的抗人类CD19 scFv的所选CAR (CAR-T 5、CAR-T 5-9或CAR-T 5-13)或编码具有来自抗人类CD19鼠抗体mAb FMC63的可变区序列的抗人类CD19 scFv的CAR模拟转导(模拟)或转导(佐拉(Zola,H.)等人,1991,免疫细胞生物学 (Immunol.Cell Biol.) 69 (Pt 6):411-22)。以下提供具有V<sub>L</sub>-连接子-V<sub>H</sub>的形式的鼠抗CD19 scFv序列。通过FACs如上文所描述分析转导T细胞。

[0505]	鼠抗 CD19 scFv (SEQ ID NO:296)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGT VKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFC QQGNTLPYTFGGGKLEITGSGSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQES GPNLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVI WGSETTYNSALKSRLTIHKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYC AKHYYYGGSYAMDYWGQGSVTVSS
--------	---------------------------------	--

[0506] SEQ ID NO:296中所示的鼠抗CD19 scFv的CDR序列是:

LC-CDR1 QDISKY (SEQ ID NO:297)

LC-CDR2 HTS (SEQ ID NO:298)

LC-CDR3 QQGNTLPYT (SEQ ID NO:299)

[0507]

HC-CDR1 GVSLPDYG (SEQ ID NO:300)

HC-CDR2 IWGSETT (SEQ ID NO:301)

HC-CDR3 AKHYYYGGSYAMDY (SEQ ID NO:302)

[0508] 结果显示与由鼠抗CD19抗体产生的抗CD19CAR-T细胞相比,由人类scFv克隆5 和两种亲和力成熟变异体 (5-9、5-13) 产生的抗CD19CAR-T细胞显示较高转导效率和显著较高CD19-专一性癌细胞溶解(图15)。

[0509] 在另一实验中,测定活化人类CD19CAR-T细胞的例示性细胞因子释放曲线。模拟转导的T细胞(模拟)或所选抗CD19CAR-T(所示克隆5-3)与靶细胞共培育。使用 Magpix多路系统(卢米克斯公司(Luminex))通过Bio-plex Pro人类细胞因子8重分析(伯乐公司(BioRad))测量在活体外杀死之后IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN- $\gamma$  和TNF- $\alpha$ 向培养基中的释放。在减去从培养基、单独靶细胞和单独克隆5-3转导的T 细胞的释放之后,使用已知标准曲线测定细胞因子浓度。代表性结果阐述在图10中。

[0510] 如图10中所示,仅当抗CD19CAR-T细胞与CD19<sup>+</sup>细胞 (Raji和CA46),但不与CD19<sup>-</sup>细胞 (Raji-CD19k.o.和Jurkat) 共培育时,检测到细胞因子释放。与CD19<sup>+</sup>癌细胞共培养的模拟转导T细胞仅释放最少量的细胞因子。类似地,仅当抗CD19CAR-T细胞与CD19<sup>+</sup>细胞 (Raji和JeKo-1),但不与CD19<sup>-</sup>细胞 (Raji-CD19k.o.) 共培育时,基于克隆5-13的活化人类CD19CAR-T细胞的细胞因子释放曲线显示细胞因子 (IL-2、GM-CSF、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$ ) 的释放。此外,与CD19<sup>+</sup>癌细胞共培养的模拟转导T细胞释放最少细胞因子到不释放细胞因子。

[0511] CD19 CAR-T细胞在人类淋巴瘤异种移植物中的活体内功效.在NOD SCID  $\gamma$  (NSG) 小鼠中在CD19-阳性人类淋巴瘤异种移植物模型中测试例示性CAR-T细胞(基于克隆 5-9)

的活体内抗肿瘤活性。简单来说,从比较生物科技公司(Comparative Biosciences, Inc.) (加利福尼亚州森尼维尔(Sunnyville, California) 94085) 购买Raji-luc-GFP细胞且在RPMI培养基+10%FBS和1%L-谷氨酰胺中在37℃下在潮湿氛围中在5%CO<sub>2</sub>下培养。在用编码萤火虫荧光素酶(luc)和绿色荧光蛋白的双重报道基因稳定转染(其产生可活体内使用生物发光成像追踪的细胞)之后,从CD19-阳性伯基特淋巴瘤细胞系Raji衍生Raji-luc-GFP细胞。从杰克逊实验室(Jackson Laboratories)(美国缅因州巴港(Bar Harbor, ME USA) 04609) 购买NSG小鼠且在实验的前适应至少7天。将Raji-luc-GFP细胞再悬浮于PBS中且经由尾静脉以 $1 \times 10^6$ 个细胞/100μL/小鼠静脉内(i.v.) 植入NSG小鼠中。植入后五天,使用Xenogen IVIS成像系统将动物成像以便评估肿瘤负荷。在 $6.7 \times 10^5$ 个光子的平均光子发射下基于光子发射将小鼠随机分成三组(每组n=6只小鼠): (i) 无处理, (ii) 模拟(来自CAR-T细胞的相同供体的未转导活化人类T细胞), 和 (iii) 5-9CAR-T。紧接在随机化之后在每只小鼠 $10^7$ 个T细胞的剂量(对于群组(iii), 包含每个剂量 $6-8 \times 10^6$ 个CAR+T细胞)下用模拟或克隆5-9CAR-T细胞静脉内处理动物, 每两周一次持续3个剂量。在给药之后密切监测动物。一周一次使用Xenogen IVIS系统进行生物发光成像。将具有以下状况的动物安乐死且记录为“条件性死亡”: (i) 体重损失大于25%初始体重和(ii) 影响小鼠运动的四肢麻痹。代表性结果阐述在图11中。

[0512] 在目前剂量和时程下模拟和5-9CAR-T细胞均具有良好耐受性(图11)。在整个研究中未观察到给药相关的不利健康效果。用模拟T细胞处理减缓Raji-luc-GFP肿瘤的生长( $p < 0.05$ ), 然而用CAR-T 5-9处理显著抑制肿瘤生长( $p < 0.05$ ; 图11, 右边)。

[0513] 在类似实验中, 在NSG小鼠中在CD19-阳性人类淋巴瘤异种移植物模型(Raji)中测试另一例示性CAR-T细胞(基于克隆5-13)的活体内抗肿瘤活性。除了仅向每只小鼠投与一种剂量的抗CD19CAR-转导T细胞( $5 \times 10^6$ 个基于克隆5-13的CAR<sup>+</sup>T细胞)外, 如上文针对克隆5-9所描述进行实验。代表性结果阐述在图13中。

[0514] 如图13A中所示, 虽然肿瘤在来自媒介剂和模拟处理组的小鼠中快速生长, 用抗CD19 CAR 5-13-转导T细胞处理的NSG小鼠显示肿瘤生长抑制。实际上, 处理组之间的肿瘤生长的显著差异早在第11天即可检测( $p < 0.0001$ , 邓尼特检验(Dunnett's test), 图13B)。另外, 用抗CD19 CAR 5-13-转导T细胞处理的NSG小鼠直到植入后45天显示肿瘤消退。

[0515] 在肿瘤植入后35天, 通过静脉内植入 $5 \times 10^5$ 个Raji淋巴瘤细胞再攻击来自抗CD19 CAR 5-13-转导T细胞处理组的三只代表性小鼠以判定抗CD19-CAR-转导T细胞是否存留和维持对抗原(CD19)起反应的能力。在注射 $1 \times 10^6$ 个模拟转导T细胞(在第34天注射)作为对照后一天向未处理NSG小鼠(即未植入Raji淋巴瘤细胞或在先前用T细胞处理的小鼠, n=2) 植入 $5 \times 10^5$ 个Raji淋巴瘤细胞。本发明人推论这类模拟转导T细胞将模拟在植入Raji淋巴瘤细胞之前, 小鼠中的低含量循环T细胞的状况。通过荧光素酶活性(如上文所描述)测量每个组中的肿瘤负荷。代表性结果阐述在图13C中。

[0516] 如图13C中所示, 肿瘤在模拟处理组中快速生长。相比之下, 用抗CD19CAR 5-13-转导T细胞预先处理防止在用Raji淋巴瘤细胞再攻击的后肿瘤生长( $p < 0.01$ )。因此, 这些资料指示甚至在植入后35天时抗CD19-CAR-转导T细胞存留在这些小鼠中, 且维持对CD19起反应和杀死CD19<sup>+</sup>-肿瘤细胞的能力, 由此提供对抗复发肿瘤负荷的保护。

[0517] 在另一类似实验中, 在NSG小鼠中在CD19阳性人类白血病异种移植物模型(NALM)



中测试例示性CAR-T细胞(基于克隆5-13)的活体内抗肿瘤活性。在用编码萤火虫荧光素酶(luc)和绿色荧光蛋白(GFP)的双重报道基因稳定转染,产生可活体内使用生物发光成像追踪的细胞之后,从CD19-阳性急性淋巴母细胞白血病细胞系NALM-6衍生 NALM-6-luc-GFP细胞(纪念斯隆-凯特琳癌症中心(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)的埃里克史密斯(Eric Smith)博士惠赠)。

[0518] 简单来说,在RPMI培养基+10%FBS中在37℃下在潮湿氛围中在5%CO<sub>2</sub>下培养NALM-6-luc-GFP。从杰克逊实验室(美国缅因州巴港04609)购买NSG小鼠且在实验之前适应至少三天。将NALM-6-luc-GFP细胞再悬浮于磷酸盐缓冲盐水(PBS)中且经由尾静脉注射以 $5 \times 10^5$ 个细胞/100μL/小鼠静脉内(i.v.)植入雌性NSG小鼠中(n=20,6-8周龄)。在植入后四天时,使用Xenogen IVIS成像系统将动物成像以用于肿瘤负荷评估。基于光子发射将NSG小鼠随机分成三组:(i) 媒剂(PBS,n=6);(ii)  $10^7$ 个模拟转导人类T细胞(n=6);和(iii)  $5 \times 10^6$ 个克隆5-13抗CD19CAR转导T细胞(CAR-T 5-13,n=8)。在如上文所描述植入和给与T细胞或媒剂之后密切监测动物。代表性结果阐述在图14中。

[0519] 如图14,图A和B中所示,媒剂和模拟处理组显示NALM-6肿瘤生长的快速进程。相比之下,用抗CD19CAR-T细胞(基于克隆5-13)处理早在第11天显著( $p < 0.0001$ )抑制且甚至逆转肿瘤生长。这些资料确定CAR-T 5-13细胞活体内靶向和溶解CD19<sup>+</sup>NALM-6肿瘤,由此显示本文所提供的呈例示性CAR形式的抗CD19抗体在多种癌症模型中抑制肿瘤生长的功效。

[0520] 综合来说,本实例显示基于根据先前实例制得的抗CD19人类抗体药剂的表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的成功产生和使用。另外,这类抗CD19CAR-T细胞显示以CD19-专一性方式对各种癌细胞系进行高效细胞杀死。因此,本文中描述的人类抗体药剂可用于治疗和诊断各种B细胞疾病和恶性病、尤其以CD19表达为特征的这些疾病。

[0521] 方法

[0522] 从美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)获得细胞系Raji、Jeko-1、Jurkat、THP-1和NIH/3T3。Raji是CD19阳性伯基特氏淋巴瘤细胞系(ATCC CCL-86)。Jeko-1是CD19阳性套细胞淋巴瘤细胞系(ATCC CRL-3006)。Jurkat是由T细胞白血病衍生的人类T淋巴细胞系,且是CD19阴性。急性单核细胞性白血病细胞系THP-1也是CD19阴性(ATCC TIB-202)。NIH/3T3是小鼠胚胎纤维母细胞系(ATCC CRL-1658)。Raji-CD19基因剔除细胞系(Raji-CD19 k.o.)通过使用市售CRISPR-Cas9载体(傲锐基因公司(Origene))将CD19基因剔除产生。Raji-CD19 k.o.细胞通过定序和通过FACS(图12),使用市售小鼠抗人类CD19抗体(百澳兰公司(Biolegend))确认为CD19阴性。通过用表达人类CD19(hCD19)的产生hCD19的细胞表面表达的较高水准的哺乳动物载体转导NIH/3T3细胞系产生3T3-CD19(图12)。在CAR-T杀死分析中测试的其它细胞系,如CA46、Daudi、Hela、HepG2、SK-Hep1、MDA-MB-231和MCF7,也购自ATCC。在补充有10%FBS的RPMI 1640或DMEM中在37℃/5%CO<sub>2</sub>下培养细胞系。

[0523] 针对噬菌体M13的小鼠单克隆抗体购自GE(目录号27-9421-01)。PE标记的抗小鼠IgG二级抗体购自维克特实验室(Vector labs)(目录号EI-2007)。PE结合的小鼠抗hCD19抗体购自百澳兰公司(目录号302208)。901-Fc和NC-ET901双专一性抗体是分别具有人类IgG1和双专一性抗体的形式的,在优瑞科生物技术公司产生的阴性对照抗体。抗体不识别

任何人类抗原。FITC标记的抗His抗体购自赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific)(目录号MA1-81891)以用于检测在C端具有6×His标签的双专一性抗体。PerCP-结合的抗人类CD20抗体购自BD公司(9目录号302208)以用于检测人类B细胞。

[0524] 重组人类CD19ECD-Fc融合蛋白包括融合到人类IgG1的缺乏C<sub>H</sub>1域和包括铰链区的Fc的人类CD19的细胞外域。HEK293(英杰公司)细胞通过脂染胺3000(英杰公司)用编码人类CD19ECD-Fc融合蛋白的载体转染。通过蛋白质A亲和性色谱法从培养物上清液纯化融合蛋白。

[0525] 具体列举方面

[0526] 本发明还提供以下经编号方面:

[0527] 1.一种专一性结合人类CD19的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含一或多个各自具有与一或多个选自表2的重链CDR至少95%一致的序列的重链CDR,和/或一或多个各自具有与一或多个选自表3的轻链CDR至少95%一致的序列的轻链CDR。

[0528] 2.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0529] 3.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0530] 4.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0531] 5.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0532] 6.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0533] 7.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每

一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198中所示的轻链CDR1、轻链CDR2 和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0534] 8. 根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3 中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201中所示的轻链CDR1、轻链CDR2 和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0535] 9. 根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3 中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204中所示的轻链CDR1、轻链CDR2 和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0536] 10. 根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3 中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207中所示的轻链CDR1、轻链CDR2 和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0537] 11. 根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0538] 12. 根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0539] 13. 根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0540] 14. 根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0541] 15. 根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ

ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链 CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0542] 16.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链 CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0543] 17.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链 CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0544] 18.根据方面1所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含各自具有与SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123中所示的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3,和各自具有与SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231中所示的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3中的每一个至少95%一致的序列的轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3。

[0545] 19.根据方面2所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75的重链CDR,和SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和 SEQ ID NO:183的轻链CDR。

[0546] 20.根据方面3所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78的重链CDR,和SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和 SEQ ID NO:186的轻链CDR。

[0547] 21.根据方面4所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81的重链CDR和SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189的轻链CDR。

[0548] 22.根据方面5所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84的重链CDR和SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192的轻链CDR。

[0549] 23.根据方面6所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87的重链CDR和SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195的轻链CDR。

[0550] 24.根据方面7所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90的重链CDR和SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198的轻链CDR。

[0551] 25.根据方面8所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93的重链CDR和SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:

201的轻链CDR。

[0552] 26. 根据方面9所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96的重链CDR和SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204的轻链CDR。

[0553] 27. 根据方面10所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99的重链CDR和SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207的轻链CDR。

[0554] 28. 根据方面11所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102的重链CDR和SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210的轻链CDR。

[0555] 29. 根据方面12所述的的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105的重链CDR和SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213的轻链CDR。

[0556] 30. 根据方面13所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108的重链CDR和SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216的轻链CDR。

[0557] 31. 根据方面14所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111的重链CDR和SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219的轻链CDR。

[0558] 32. 根据方面15所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114的重链CDR和SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222的轻链CDR。

[0559] 33. 根据方面16所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的重链CDR和SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225的轻链CDR。

[0560] 34. 根据方面17所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120的重链CDR和SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228的轻链CDR。

[0561] 35. 根据方面18所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123的重链CDR和SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231的轻链CDR。

[0562] 36. 一种人类抗体药剂,其与包含以下的人类抗体药剂竞争结合CD19: (a) SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75的重链CDR和SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182 和SEQ ID NO:183的轻链CDR; (b) SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78的重链CDR和SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:186的轻链CDR; (c) SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81的重链CDR和SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189的轻链CDR; (d) SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84的重链CDR和SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192的轻链CDR; (e) SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87的重链CDR和SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195的轻链CDR; (f) SEQ ID NO:88、SEQ

ID NO:89和SEQ ID NO:90的重链CDR和SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198的轻链CDR; (g) SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93的重链CDR和SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201的轻链CDR; (h) SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96的重链CDR和SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204的轻链CDR; (i) SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99的重链CDR和SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207的轻链CDR; (j) SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102的重链CDR和SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210的轻链 CDR; (k) SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105的重链CDR和SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213的轻链CDR; (l) SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108的重链CDR和SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216的轻链CDR; (m) SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111的重链 CDR和SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219的轻链CDR; (n) SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114的重链CDR和SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222的轻链CDR; (o) SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的重链CDR和SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225的轻链CDR; (p) SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120的重链CDR和SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228的轻链CDR;或 (q) SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122 和SEQ ID NO:123的重链CDR和SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231 的轻链CDR。

[0563] 37. 根据方面1至36中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂更包含一或多种在重链CDR和/或轻链CDR中的氨基酸取代。

[0564] 38. 根据方面37所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂更包含至少一种或最多五种在重链CDR和/或轻链CDR中的氨基酸取代。

[0565] 39. 根据方面38所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂更包含至少一种或最多三种在重链CDR和/或轻链CDR中的氨基酸取代。

[0566] 40. 一种专一性结合人类CD19的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含具有与表1中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区, 和具有与表1中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0567] 41. 根据方面40所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:2中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区, 和具有与SEQ ID NO:2中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0568] 42. 根据方面40所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:4中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID NO:4中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0569] 43. 根据方面40所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:6中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区, 和具有与SEQ ID NO:6中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0570] 44. 根据方面40所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID NO:8中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID NO:8中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0571] 45. 根据方面40所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID

N0:10中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:10中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0572] 46. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:12中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:12中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0573] 47. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:14中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:14中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0574] 48. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:16中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:16中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0575] 49. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:18中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:18中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0576] 50. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:20中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:20中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0577] 51. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:22中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:22中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0578] 52. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:24中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:24中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0579] 53. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:26中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:26中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0580] 54. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:28中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:28中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0581] 55. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:30中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:30中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0582] 56. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:32中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:32中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0583] 57. 根据方面40所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含具有与SEQ ID N0:34中出现的重链可变区序列至少95%一致的序列的重链可变区和具有与SEQ ID N0:34中出现的轻链可变区序列至少95%一致的序列的轻链可变区。

[0584] 58. 根据方面40至57中任一方面所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包

含 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:34 中的任一个中出现的重链和轻链可变区序列。

[0585] 59. 一种专一性结合人类CD19的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂与亲本人类抗体药剂相比包含一或多种氨基酸取代,且其中所述人类抗体药剂包含(a) SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125和SEQ ID NO:126的重链CDR和SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233和SEQ ID NO:234的轻链CDR;(b) SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129的重链CDR和SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236和SEQ ID NO:237的轻链CDR;(c) SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131和SEQ ID NO:132的重链CDR和SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239和SEQ ID NO:240的轻链CDR;(d) SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134 和SEQ ID NO:135的重链CDR和SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242和SEQ ID NO:243 的轻链CDR;(e) SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137和SEQ ID NO:138的重链CDR和SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245和SEQ ID NO:246的轻链CDR;(f) SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:140和SEQ ID NO:141的重链CDR和SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248和SEQ ID NO:249的轻链CDR;(g) SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143和SEQ ID NO:144 的重链CDR 和SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251和SEQ ID NO:252的轻链CDR;(h) SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146和SEQ ID NO:147的重链CDR和SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254和 SEQ ID NO:255的轻链CDR;(i) SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:150的 重链CDR和SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:257和SEQ ID NO:258的轻链CDR;(j) SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152和SEQ ID NO:153的重链CDR和SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:261的轻链CDR;(k) SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:155和SEQ ID NO:156的重链CDR和SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:263和SEQ ID NO:264的轻链CDR;(l) SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:158和SEQ ID NO:159的重链CDR和SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:266和SEQ ID NO:267的轻链CDR;(m) SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161 和SEQ ID NO:162的重链CDR和SEQ ID NO:268、SEQ ID NO:269和SEQ ID NO:270 的轻链CDR;(n) SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:164和SEQ ID NO:165 的重链CDR和SEQ ID NO:271、SEQ ID NO:272和SEQ ID NO:273的轻链CDR;(o) SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:167和SEQ ID NO:168的重链CDR和SEQ ID NO:274、SEQ ID NO:275和SEQ ID NO:276的轻链CDR;(p) SEQ ID NO:169、SEQ ID NO:170和SEQ ID NO:171的重链CDR 和SEQ ID NO:277、SEQ ID NO:278和SEQ ID NO:279的轻链CDR;(q) SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:173和SEQ ID NO:174的重链CDR和SEQ ID NO:280、SEQ ID NO:281和 SEQ ID NO:282的轻链CDR;(r) SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:176和SEQ ID NO:177的 重链CDR和SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284和SEQ ID NO:285的轻链CDR;或(s) SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179和SEQ ID NO:180的重链CDR和SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:287和SEQ ID NO:288的轻链CDR。

[0586] 60. 根据方面59所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包含在选自10、16、25、34、52、54、68、69、72、75、93、95和其组合组成的群组的氨基酸位置中的任一 一个处包含一或多种氨基酸取代的轻链可变区。

[0587] 61. 根据方面60所述的人类抗体药剂,其中所述一或多种氨基酸取代包括V10M、K16E、S25N、V34I、D52N、L54Q、N68T、T69M、L72M、S75N、S93T、D95E、D95G 或其组合。

[0588] 62. 根据方面59至61中任一方面所述的人类抗体药剂,其中所述人类抗体药剂包



含 在选自3、12、16、17、25、26、32、63、69、97、102、106、108、109、113、116、117和其组合组成的群组的氨基酸位置中的任一个处包含一或多种氨基酸取代的重链可变区。

[0589] 63. 根据方面62所述的人类抗体药剂, 其中所述一或多种氨基酸取代包括Q3R、K12E、E16G、S17F、S25A、G26A、Y32F、S63F、T69A、A97V、T102S、M106L、Y108N、D109E、Q113L、L116M、M117L或其组合。

[0590] 64. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代S75N的轻链可变区。

[0591] 65. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代T69M的轻链可变区。

[0592] 66. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代D52N和D95E的轻链可变区。

[0593] 67. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代V10M和D95G的轻链可变区。

[0594] 68. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代S93T的轻链可变区, 和具有氨基酸取代S17F和T69A的重链可变区。

[0595] 69. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代N68T的轻链可变区, 和具有氨基酸取代S17F和Y108N的重链可变区。

[0596] 70. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代S63F的重链可变区。

[0597] 71. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代Q3R、Y32F和A97V的重链可变区。

[0598] 72. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代K16E的轻链可变区。

[0599] 73. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代M117L的重链可变区。

[0600] 74. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代L72M的轻链可变区, 和具有氨基酸取代S25A的重链可变区。

[0601] 75. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代T102S和L116M的重链可变区。

[0602] 76. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代S25N和V34I的轻链可变区, 和具有氨基酸取代K12E和D109E的重链可变区。

[0603] 77. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代E16G的重链可变区。

[0604] 78. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代L54Q的轻链可变区, 和具有氨基酸取代M106L的重链可变区。

[0605] 79. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代S25N的轻链可变区。

[0606] 80. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包

含 具有氨基酸取代G26A和Q113L的重链可变区。

[0607] 81. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代L54Q的轻链可变区。

[0608] 82. 根据方面59至63中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 具有氨基酸取代T102S的重链可变区。

[0609] 83. 根据方面59至82中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂包含 SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:72中的任一个中出现的重链和轻链可变区序列。

[0610] 84. 根据方面1至83中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂是包含变异Fc区的人类单克隆抗体。

[0611] 85. 根据方面84所述的人类抗体药剂, 其中所述人类单克隆抗体与包含野生型Fc区的亲本人类单克隆抗体相比, 包含变异糖基化模式。

[0612] 86. 根据方面1至85中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂结合于治疗剂或检测剂。

[0613] 87. 根据方面1至85中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂结合于细胞毒性剂或部分。

[0614] 88. 根据方面1至85中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂结合于放射性同位素。

[0615] 89. 根据方面1至88中任一方面所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂是或包含免疫球蛋白、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv、单链Fv(scFv) 或dAb。

[0616] 90. 根据方面89所述的人类抗体药剂, 其中所述人类抗体药剂是或包含scFv。

[0617] 91. 根据方面89所述的人类抗体药剂, 其中所述scFv包含连接序列。

[0618] 92. 根据方面90或91所述的人类抗体药剂, 其中所述scFv结合于治疗剂或检测剂。

[0619] 93. 根据方面90或91所述的人类抗体药剂, 其中所述scFv是嵌合抗原受体的一部分。

[0620] 94. 根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂, 其用于疗法或诊断中。

[0621] 95. 根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂, 其用于治疗、预防或改善以CD19表达为特征的疾病。

[0622] 96. 一种根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的用途, 其用于治疗、预防或改善癌症。

[0623] 97. 一种经分离核酸分子, 其编码根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂。

[0624] 98. 根据方面97所述的经分离核酸分子, 其中所述经分离核酸分子包括经密码子优化的序列。

[0625] 99. 根据方面97所述的经分离核酸分子, 其中所述经分离核酸分子是或包含以下的任一个中出现的序列: SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ

ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69和SEQ ID NO:71。

[0626] 100.一种载体,其包含根据方面97至99中任一方面所述的经分离核酸分子。

[0627] 101.一种细胞,其包含根据方面100所述的载体。

[0628] 102.一种试剂盒,其包含根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂、根据方面97至99中任一方面所述的经分离核酸分子、根据方面100所述的载体或根据方面101所述的细胞。

[0629] 103.一种疫苗,其包含根据方面97至99中任一方面所述的经分离核酸分子。

[0630] 104.一种产生根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的方法,其包含在培养基中在允许表达人类抗体药剂的条件下培养根据方面101所述的细胞,和从培养基分离人类抗体药剂的步骤。

[0631] 105.一种组合物,其包含根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂。

[0632] 106.根据方面105所述的组合物,其中所述人类抗体药剂结合于细胞毒性剂或部分。

[0633] 107.一种医药组合物,其包含根据方面105或106所述的组合物或根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂,且更包含医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0634] 108.一种治疗个体的以CD19表达为特征的医学病状的方法,其包含向所述个体投与治疗有效量的根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的步骤。

[0635] 109.根据方面108所述的方法,其中以CD19表达为特征的所述医学病状是B细胞淋巴瘤、急性淋巴母细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、伯基特淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤或急性骨髓性白血病。

[0636] 110.根据方面108所述的方法,其中以CD19表达为特征的所述医学病状是类风湿性关节炎(RA)、全身性红斑性狼疮症(SLE)、糖尿病或硬皮病。

[0637] 111.一种治疗癌症的方法,所述方法包含向个体投与根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的步骤。

[0638] 112.一种根据方面1至93中任一方面所述的抗体药剂的用途,其用于治疗或检测与CD19表达相关的病状。

[0639] 113.一种双专一性抗体,其包含来自根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点,和第二抗原结合位点。

[0640] 114.根据方面113所述的双专一性抗体,其中第一和第二抗原结合位点是scFv。

[0641] 115.根据方面113所述的双专一性抗体,其中第一抗原结合位点由免疫球蛋白分子构成且第二抗原结合位点由scFv、scFab、Fab或Fv构成。

[0642] 116.根据方面113至115中任一方面所述的双专一性抗体,其中第二抗原结合位点结合选自由以下组成的群组的免疫细胞:T细胞、NK细胞、B细胞、树突状细胞、单核细胞、巨噬细胞、嗜中性白血球、间叶干细胞和神经干细胞。

[0643] 117.根据方面116所述的双专一性抗体,其中第二抗原结合位点结合T细胞上的

CD3。

[0644] 118. 一种双专一性T细胞接合单克隆抗体,其包含根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的抗原结合位点。

[0645] 119. 根据方面113至118中任一方面所述的双专一性抗体,其用于疗法或诊断中。

[0646] 120. 一种经分离核酸分子,其全部或部分编码根据方面113至118中任一方面所述的双专一性抗体的多肽链。

[0647] 121. 根据方面120所述的经分离核酸分子,其中所述核酸分子包括经密码子优化的序列。

[0648] 122. 一种载体,其包含根据方面120或121所述的核酸序列。

[0649] 123. 一种细胞,其包含根据方面122所述的载体。

[0650] 124. 一种试剂盒,其包含根据方面113至118中任一方面所述的双专一性抗体、根据方面120或121所述的经分离核酸分子、根据方面122所述的载体或根据方面123所述的细胞。

[0651] 125. 一种组合物,其包含根据方面113至118中任一方面所述的双专一性抗体。

[0652] 126. 一种医药组合物,其包含根据方面125所述的组合物或根据方面113至118中任一方面所述的双专一性抗体,且更包含医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0653] 127. 一种嵌合抗原受体,其包含根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的抗原结合位点。

[0654] 128. 根据方面127所述的嵌合抗原受体,其中所述抗原结合位点是或包含scFv。

[0655] 129. 根据方面127所述的嵌合抗原受体,其中所述抗原结合位点是或包含V<sub>L</sub>区。

[0656] 130. 根据方面129所述的嵌合抗原受体,其中所述V<sub>L</sub>区包含以下的轻链CDR: (a) SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182和SEQ ID NO:183; (b) SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:185 和SEQ ID NO:186; (c) SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:188和SEQ ID NO:189; (d) SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191和SEQ ID NO:192; (e) SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和SEQ ID NO:195; (f) SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:198; (g) SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:201; (h) SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203和SEQ ID NO:204; (i) SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206和SEQ ID NO:207; (j) SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:210; (k) SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:213; (l) SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:216; (m) SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:219; (n) SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222; (o) SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224和SEQ ID NO:225; (p) SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:227和SEQ ID NO:228; (q) SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:231; (r) SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233和SEQ ID NO:234; (s) SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236和SEQ ID NO:237; (t) SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239和SEQ ID NO:240; (u) SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242和SEQ ID NO:243; (v) SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245和SEQ ID NO:246; (w) SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248和SEQ ID NO:249; (x) SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251和SEQ ID NO:252; (y) SEQ ID NO:253、SEQ ID NO:254和SEQ ID NO:255; (z) SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:257和SEQ ID NO:258; (ab) SEQ ID NO:259、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:261; (ac) SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:263和SEQ ID NO:264; (ad) SEQ ID NO:265、SEQ ID NO:266和SEQ ID NO:267; (ae) SEQ ID NO:268、SEQ ID NO:269和SEQ

ID NO:270; (af) SEQ ID NO:271、SEQ ID NO:272和SEQ ID NO:273; (ag) SEQ ID NO:274、SEQ ID NO:275和SEQ ID NO:276; (ah) SEQ ID NO:277、SEQ ID NO:278和SEQ ID NO:279; (ai) SEQ ID NO:280、SEQ ID NO:281和SEQ ID NO:282; (aj) SEQ ID NO:283、SEQ ID NO:284和SEQ ID NO:285;或 (ak) SEQ ID NO:286、SEQ ID NO:287和SEQ ID NO:288。

[0657] 131.根据方面129所述的嵌合抗原受体,其中所述 $V_L$ 区包含以下中的任一个中出现的序列:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:72。

[0658] 132.根据方面127所述的嵌合抗原受体,其中所述抗原结合位点是或包含 $V_H$ 区。

[0659] 133.根据方面132所述的嵌合抗原受体,其中所述 $V_H$ 区包含以下的重链CDR: (a) SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75; (b) SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78; (c) SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81; (d) SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83和SEQ ID NO:84; (e) SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:87; (f) SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90; (g) SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92 和SEQ ID NO:93; (h) SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96; (i) SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:99; (j) SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:102; (k) SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:105; (l) SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107和SEQ ID NO:108; (m) SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111; (n) SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114; (o) SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:116 和SEQ ID NO:117; (p) SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:120; (q) SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122和SEQ ID NO:123; (r) SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125和SEQ ID NO:126; (s) SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129; (t) SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131和SEQ ID NO:132; (u) SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134和SEQ ID NO:135; (v) SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137和SEQ ID NO:138; (w) SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:140和SEQ ID NO:141; (x) SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143和SEQ ID NO:144; (y) SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146和SEQ ID NO:147; (z) SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:150; (ab) SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152和SEQ ID NO:153; (ac) SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:155和SEQ ID NO:156; (ad) SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:158和SEQ ID NO:159; (ae) SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161和SEQ ID NO:162; (af) SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:164和SEQ ID NO:165; (ag) SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:167和SEQ ID NO:168; (ah) SEQ ID NO:169、SEQ ID NO:170和SEQ ID NO:171; (ai) SEQ ID NO:172、SEQ ID NO:173和SEQ ID NO:174; (aj) SEQ ID NO:175、SEQ ID NO:176和SEQ ID NO:177;或 (ak) SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179和SEQ ID NO:180。

[0660] 134.根据方面132所述的嵌合抗原受体,其中所述 $V_H$ 区包含以下中的任一个中出现的序列:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID

NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70 和SEQ ID NO:72。

[0661] 135. 根据方面127至134中任一方面所述的嵌合抗原受体,其用于疗法或诊断中。

[0662] 136. 根据方面127至134中任一方面所述的嵌合抗原受体,其用于治疗、预防或改善以CD19表达为特征的疾病。

[0663] 137. 一种经分离核酸分子,其编码根据方面127至134中任一方面所述的嵌合抗原受体。

[0664] 138. 根据方面137所述的经分离核酸分子,其中所述核酸分子包括经密码子优化的序列。

[0665] 139. 一种免疫效应细胞,其表达根据方面127至134中任一方面所述的嵌合抗原受体。

[0666] 140. 根据方面139所述的免疫效应细胞,其中所述细胞是T细胞或NK细胞。

[0667] 141. 根据方面139或140所述的免疫效应细胞,其用于疗法或诊断中。

[0668] 142. 根据方面139或140所述的免疫效应细胞,其用于治疗、预防或改善以CD19 表达为特征的疾病。

[0669] 143. 一种试剂盒,其包含根据方面127至134中任一方面所述的嵌合抗原受体、根据方面137或138所述的经分离核酸分子或根据方面139或140所述的免疫效应细胞。

[0670] 144. 一种根据方面127至134中任一方面所述的嵌合抗原受体的用途,其用于治疗或检测与CD19表达相关的医学病状。

[0671] 145. 一种抑制肿瘤生长的方法,所述方法包含使肿瘤细胞与双专一性抗体接触的步骤,所述双专一性抗体由基于根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点和结合免疫细胞的第二抗原结合位点构成,所述接触在足以使得观察到肿瘤细胞杀死的条件和时间下进行。

[0672] 146. 一种杀死肿瘤细胞的方法,所述方法包含使肿瘤细胞与双专一性抗体接触的步骤,所述双专一性抗体由基于根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点和结合免疫细胞的第二抗原结合位点构成,所述接触在足以使得观察到肿瘤细胞生长抑制的条件和时间下进行。

[0673] 147. 根据方面145或146所述的方法,其中所述免疫细胞是T细胞或NK细胞。

[0674] 148. 根据方面145至147中任一方面所述的方法,其中第一和第二抗原结合位点是scFv。

[0675] 149. 根据方面148所述的方法,其中第二抗原结合位点结合T细胞上的CD3。

[0676] 150. 一种双专一性抗体,其由基于根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点和结合免疫细胞的第二抗原结合位点构成,其用于抑制肿瘤生长。

[0677] 151. 一种双专一性抗体,其由基于根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点和结合免疫细胞的第二抗原结合位点构成,其用于杀死肿瘤细胞。

[0678] 152. 一种导引T细胞杀死表达CD19的靶细胞的方法,所述方法包含使一或多个

表达CD19的靶细胞与双专一性抗体接触的步骤,所述双专一性抗体包含根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点和结合T细胞上的CD3的第二抗原结合位点,所述接触在双专一性抗体结合的T细胞介导表达CD19的靶细胞的杀死所足够的条件和时间下进行。

[0679] 153.根据方面152所述的方法,其中第一和第二抗原结合位点是scFv。

[0680] 154.一种双专一性抗体,其由基于根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的第一抗原结合位点和结合T细胞上的CD3的第二抗原结合位点构成,其用于导引T细胞杀死表达CD19的靶细胞。

[0681] 155.一种双专一性抗体,其由专一性结合CD19的第一scFv和专一性结合T细胞上的CD3的第二scFv构成,其中所述第一scFv的N端连接到所述第二scFv的C端,且其中所述第一scFv包含以下中的任一个:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:72。

[0682] 156.根据方面155所述的双专一性抗体,其中所述第一scFv的N端经由连接序列连接到所述第二scFv的C端。

[0683] 157.根据方面156所述的双专一性抗体,其中所述连接序列包含 $(G_4S)_n$ 连接子。

[0684] 158.根据方面157所述的双专一性抗体,其中n等于1、2、3、4或5。

[0685] 159.根据方面156所述的双专一性抗体,其中所述连接序列是或包含SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA (SEQ ID NO:289)。

[0686] 160.一种医药组合物,其包含根据方面155至159中任一方面所述的双专一性抗体,且更包含医药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0687] 161.根据方面155至159中任一方面所述的双专一性抗体,其用于疗法或诊断中。

[0688] 162.一种抗体-药物结合物,其包含根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的抗原结合位点,和细胞毒性剂或部分。

[0689] 163.一种试剂盒,其用于诊断罹患CD19相关疾病或有其素因的个体,或用于提供所述个体的病状的预后,所述试剂盒包含用于检测来自测试个体的样品中存在的CD19的浓度的检测构件,其中所述检测构件包含各自任选地衍生的根据方面1至93中任一方面所述的人类抗体药剂的抗原结合位点、根据方面113至118和155至159中任一方面所述的双专一性结合剂、根据方面127至134中任一方面所述的嵌合抗原受体或根据方面138或139所述的免疫效应细胞,其中样品中CD19的存在指示个体罹患CD19相关疾病。

[0690] 等效物

[0691] 在权利要求书中使用如“第一”、“第二”、“第三”等序数术语修饰权利要求要素本身不意味着一个权利要求要素相对于另一权利要求要素的任何优先权、优先性或次序或执行方法动作的时间次序,而是仅用作标签以区分具有某一名称的一个权利要求要素与具有相同名称(但使用序数术语)的另一要素以区分所述权利要求要素。

[0692] 除非明确相反指示,否则如本文在说明书中和在权利要求书中所用的冠词“一(a/an)”应理解是包含多个指示物。除非相反地指示或另外自上下文显而易见,否则如果一个、超过一个或所有群组成员存在于、用于给定产物或方法中或以其它方式与给定产物或方法有关,则在群组的一或多个成员之间包括“或”的权利要求书或描述视为满足。本发明包括群组中恰好一个成员存在于、用于给定产物或方法中或以其它方式与给定产物或方法有关的实施例。本发明还包括超过一个或全部群组成员存在于、用于给定产物或方法中或以其它方式与给定产物或方法有关的实施例。此外,应理解除非另外指示或除非一般技术人员将显而易见将产生矛盾或不一致,否则视相同基本权利要求书(或相关时,任何其它权利要求书)而定,本发明涵盖将来自所列权利要求书的一或多个的一或多个限制、要素、条项、描述术语等引入另一权利要求书中的所有变化形式、组合和排列。当要素呈现为清单时(例如以Markush组或类似形式),应理解还公开要素的每个子组,且任何要素可从所述组移除。应理解,一般来说,在本发明或本发明的方面称为包含具体要素、特征等时,本发明或本发明方面的某些实施例由这类要素、特征等组成或主要由这类要素、特征等组成。出于简化的目的,本文中这些实施例在每种情况下不具体地明确地阐述。还应理解本发明的任何实施例或方面可明确从权利要求书排除,不论具体排除是否在本说明书中叙述。本文中提及的用以描述发明背景和提供关于其实务的其它细节的出版物、网站和其它参考材料以引用的方式并入本文中。

[0693] 已如此描述本发明的至少一个实施例的数个方面,应了解各种改变、修改和改进将容易地是所属领域的技术人员显而易见。这类改变、修改和改进意图是本发明的一部分,且意图在本发明的精神和范围内。因此,前述描述和图式仅作为实例且本发明由以下权利要求书详细地描述。



## 序列表

&lt;110&gt; 优瑞科生物技术公司

&lt;120&gt; 对人类CD19具有专一性的抗体药剂和其用途

&lt;130&gt; ET-2015-11-W0-PCT

&lt;140&gt; US 62/240,624

&lt;141&gt; 2015-10-13

&lt;160&gt; 302

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 747

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 1

```

cagactgtgg tgactcagga gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattatg tctcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgctggtgtc 300
ttcggaaactg ggaccaagct gaccgtccta gggtctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360
ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggcccagg tgcagctggt ggagactggg 420
ggaggcttgg tacagcctgg ggggtccctg agactctcct gtgcagcctc tggattcacc 480
tttagcagct atgcatgag ctgggtccgc caggctccag ggaaggggct ggagtgggtc 540
tcagctatta gtggtagtgg tggtagcaca tactacgcag actccgtgaa gggccggttc 600
accatctcca gagacaattc caagaacacg ctgtatctgc aatgaacag cctgagagcc 660
gaggacacgg ccgtatatta ctgtgcgcgc tactactact ctcgtctgga ttactggggt 720
caaggtactc tggtgaccgt ctcctca 747

```

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 249

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 2

```

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1           5           10          15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

```

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

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 747

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 3

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60  
tcttgcctctg gaagcagctc caacattggg aataattatg tatcctggta ccggcaactc 120  
ccaggaacag cccccaaact cctcatctat gaaaataata agcgaccctc aggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240  
 actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgcg tgctggggtc 300  
 ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
 ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggcccagg tgcagctggt ggagtctggg 420  
 ggaggcttgg tacagcctgg ggggtccctg agactctcct gtgcagcctc tggattcacc 480  
 ttttagcagct atgccatgag ctgggtccgc caggctccgg ggaaggggct ggagtgggtc 540  
 tcaggtatta gtgctagtgg tggtagcaca tactacgcag actccgtgaa gggccgcttc 600  
 accatctcca gagacaattc caagaatacg ctgtatctgc aaatgaacag cctgagagcc 660  
 gaggacacgg ccgtatatta ctgtgcgcgc tactacctgt ctcagatcga ttcttgggggt 720  
 caaggctactc tggtgaccgt ctctca 747

<210> 4

<211> 249

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 4

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

Leu Glu Trp Val Ser Gly Ile Ser Ala Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr  
 180 185 190  
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys  
 195 200 205  
 Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala  
 210 215 220  
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Leu Ser Gln Ile Asp Ser Trp Gly  
 225 230 235 240  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 245

<210> 5

<211> 753

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 5

cagtctgtgt tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60  
 tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaatactg taaactggta ccagcagctc 120  
 ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc agcggccctc aggggtccct 180  
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240  
 tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa tggccatgtg 300  
 gtattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaggttcta gaggtggtgg tggtagcggc 360  
 ggcggcggct ctggtggtgg tggatccctc gagatggccg aggtccagct ggtgcagtct 420  
 ggggctgagg tgaagaagcc tggggctaca gtgaaaatct cctgcaaggt ttctggatac 480  
 accttcaccg actactacat gcactgggtg caacaggccc ctggaaaagg gcttgagtgg 540  
 atgggacttg ttgatcctga agatggtgaa acaatatacg cagagaagtt ccagggcaga 600  
 gtcaccataa ccgcggacac gtctacagac acagcctaca tggagctgag cagcctgaga 660  
 tctgaggaca cggccgtgta ttactgtgca accggaatct atagcagacc tctgggctac 720  
 tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc tca 753

<210> 6

<211> 251

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 6

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

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

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 759

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 7

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60

tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtcatactg taaactggta ccagcagctc 120

ccaggaacgg cccccaact cctcatctat agtaataatc agcggccctc aggggtccct 180  
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240  
tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa tggttatgtc 300  
ttcggaaactg ggaccaaggt caccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgagg tgcagctggt ggagactggg 420  
ggaggcttgg tacagcctgg ggggtccctg agactctcct gtgcagcctc tggattcacc 480  
tttagcagct atgccatgag ctgggtccgc caggctccag ggaaggggct ggagtgggtc 540  
tcagctatta gtggtagtgg tggtagcaca tactacgcag actccgtgaa gggccgattc 600  
accatctcca gagacaattc caagaacacg ctgtatcttc aatgaacag cctgagagct 660  
gaggacacgg cctgttatta ctgtgcgcgc tctgacggta aacatttctg gcagcagtac 720  
gatgcttggg gtcaaggtag tctggtgacc gtctctca 759

<210> 8

<211> 253

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 8

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

				165				170				175			
Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr
				180				185				190			
Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys
				195				200				205			
Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala
				210				215				220			
Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Asp	Gly	Lys	His	Phe	Trp	Gln	Gln	Tyr
225				230				235				240			
Asp	Ala	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
				245				250							

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 729

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 9

gacatccagt tgaccacgtc tccatcctcc ctgtctgcat atgtgggaga cagagtcacc 60  
atcacttggtc gggcgagtca gggcattacc aattctttag cctggtatca gcagaagcca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gctacatgct gcatccagat tggagtctgg ggtcccatcc 180  
aggttcagtg gcagtggatt tgggacggat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacac tatttaggta ccccgactc ttttggccag 300  
gggaccaagg tggagatcaa acgttctaga ggtgggtggtg gtagcggcgg cggcggctct 360  
ggtggtggtg gatccctcga gatggccgag gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 420  
gtccagcctg ggggggtccct gagactctcc tgtgcagcct ctgggttcac cgtcagtagc 480  
aactacatga gctgggtccg ccaggctcca gggaaggggc tggagtgggt ctacagctatt 540  
agtggtagtg gtggtagcac atactacgca gactccgtga agggccggtt caccatctcc 600  
agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg 660  
gccgtatatt actgtgcgcg catgaacatc gattactggg gtcaaggtac tctggtgacc 720  
gtctcctca 729

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 243

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 10

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

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

Val Ser Ser

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 759

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 11

gaaattgtgc tgactcagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atctcttgcc gggcaagtca gagcgtagc agatttttaa attggtatca gcagaaaccg 120



ggtaaagccc ctaagctcct gatctatggt gtatccactt tggaacgtgg ggtcccttca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtcaagag agttacatta tcccgcacac tttcggcgga 300  
 gggaccaagc tggagatcaa acgttctaga ggtgggtggtg gtagcggcgg cggcggctct 360  
 ggtgggtggtg gatccctcga gatggccgag gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg 420  
 aaaaggccccg gggagtctct gacgatctcc tgtaagggtt ctgaatacag ctttgccagc 480  
 tactggatca cctgggtgcg ccagatgccc gggaaaggcc tggagtggat ggggaggatt 540  
 gatcctagtg actcttatac caactacagc ccgtccttcc aaggccacgt caccatctca 600  
 gctgacaagt ccatcagcac tgcctacttg cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc 660  
 gccatatatt actgtgcgag accttttcag tacgactacg gtggttactc cgatgctttt 720  
 gatattctggg gccaaaggac aatggtcacc gtctcttca 759

<210> 12

<211> 253

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 12

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

	165		170		175
Met Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser					
	180		185		190
Phe Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala					
	195		200		205
Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr					
	210		215		220
Cys Ala Arg Pro Phe Gln Tyr Asp Tyr Gly Gly Tyr Ser Asp Ala Phe					
225		230		235	240
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser					
	245		250		

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 753

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 13

gaaattgtga tgacgcagtc tccactctcc ctgtccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg gacagcaatg gattcaactc tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatcc atttaggttc tgatcgggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacagggt cagcggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggaatt tattactgca tgcagtctct acaaattccg 300  
 acgttcggcc aagggaacaa ggtggaaatc aaacgttcta gaggtggtgg tggtagcggc 360  
 ggcggcggct ctggtggtgg tggatccctc gagatggccc agatgcagct ggtgcaatct 420  
 ggggctgagg tgaagaaggc tgggtcctcg gtgaaggtct cctgcgagac ttctggaggc 480  
 accttcagca gctctagtgt caactgggtg cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg 540  
 atgggaggaa tcatccctat cgttgaaca ccaactacg cacagaagtt ccaggacaga 600  
 gtcacgatta ccgcggtcga atccaccttt acagcctaca tggagctgag cggcctgaga 660  
 tctgaggaca cggccgttta ttactgtgcg cgggggggat atcgcgacta tatggatgtc 720  
 tggggcagag ggaccacggt caccgtctcc tca 753

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 251

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 14

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

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

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 747

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 15

tcctatgagc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60

tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaattatg tatactggta ccagcagctc 120  
 ccaggaacgg cccccaact cctcatctat aggaataatc agcggccctc aggggtccct 180  
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccgg 240  
 tccgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgag tggttatgtc 300  
 ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
 ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgagg tgcagctggt ggagtctgga 420  
 ggaggcttga tccagcctgg ggggtccctg agactctcct gtgcagcctc tgggttcacc 480  
 gtcagtagca actacatgag ctgggtccgc caggctccag ggaaggggct ggagtgggtc 540  
 tcagttatatt atagcgggtg tagcacatac tacgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc 600  
 atctccagag acaattccaa gaacacgtg tatcttcaaa tgaacagcct gagagccgag 660  
 gacacggccg tgtattactg tgcgaggggg gggtttgag ctgaatttga ctactggggc 720  
 cagggaaacc tggtcaccgt ctctca 747

<210> 16

<211> 249

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 16

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

Val Ser Ser Asn Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly  
 165 170 175  
 Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala  
 180 185 190  
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
 195 200 205  
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
 210 215 220  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Phe Gly Ala Glu Phe Asp Tyr Trp Gly  
 225 230 235 240  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 245

<210> 17

<211> 756

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 17

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60  
 acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttctt ggtatcagca gaagccaggc 120  
 cagtcccctg tactgggtcat ctatcaagat aacaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180  
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240  
 gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgaggatgt cttcggacct 300  
 gggaccaagg tcaccgtcct aggttctaga ggtggtggtg gtagcggcgg cggcggctct 360  
 ggtggtggtg gatccctcga gatggccgag gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 420  
 atccagcctg ggggggtccct gagactctcc tgtgcagcct ctgggttcac cgtcagtagc 480  
 aactacatga gctgggtccg ccaggctcca gggaaggggc tggagtgggt ctcagttatt 540  
 tatagcgggt gtagcacata ctacgcagac tccgtgaagg gccgattcac catctccaga 600  
 gacaattcca agaacacgct gtatcttcaa atgaacagcc tgagagccga ggacacggcc 660  
 gtgtattact gtgcgagagg tggatatttcg gacgattact atggttcggg gagttatgat 720  
 aactggggcc agggaaaccct ggtcaccgtc tectca 756

<210> 18

<211> 252

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 18

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

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 741

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 19

gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccttcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa acgttctaga ggtggtggtg gtagcggcgg cggcggctct 360  
 ggtggtggtg gatccctcga gatggccgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 420  
 gtccagcctg ggggggtccct gagactctcc tgtgcagcct ctggattcac cgtcagtagc 480  
 aactacatga gctgggtccg ccaggctcca gggaaggggc tggagtgggt ctcagttatt 540  
 tatagcggtg gtagcacata ctacgcagac tccgtgaagg gccgattcac catctccaga 600  
 gacaattcca agaacacgct gtatcttcaa atgaacagcc tgagagctga ggacacggct 660  
 gtgtattact gtgcgagaga aagggggatg ggatatgctt ttgatatctg gggccaaggg 720  
 acaatggtca ccgtctcttc a 741

<210> 20

<211> 247

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 20

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

145	150	155	160
Asn Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp			
	165	170	175
Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
	180	185	190
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
	195	200	205
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	210	215	220
Ala Arg Glu Arg Gly Met Gly Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly			
225	230	235	240
Thr Met Val Thr Val Ser Ser			
	245		

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 720

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 21

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggccagtca gggcattggc agttatttag cctggtatca gcaaaaacca 120  
gggaaagccc ctaaactcct gatctatcct gcatccacgt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
agattcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240  
gaagattttg caacttatta ctgtcaacaa cttaatagtc tcttcggcca aggacacga 300  
ctggagatta aacgttctag aggtggtggt ggtagcggcg gcggcggctc tgggtggtggt 360  
ggatccctcg agatggccca gctgcagctg caggagtcgg gcccaggact ggtgaagcct 420  
tcggagaccc tgtccctcac ctgctctgtc tctggtgtct ccatgagtga aaactactgg 480  
agctggatcc ggcagccccc agggaagcga ctggagtga ttgggtgtgc ccattacact 540  
ggggacaccc actacaaccc ctccctcaag ggtcgagtca ccatatcact agacacgtcc 600  
atgaaccagt tctccctgag gctgaactct gtgaccgctg cggacacggc cgtctattac 660  
tgtgcgagtt atcatccctt taactactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 720

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 240

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 22



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

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 774

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 23

caggctgtgc tgactcagcc accctcggcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60  
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga actaaaactg taaactggtg taaggtgctc 120

ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaattatc gccggccctc aggggtccct 180  
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240  
tctgacgatg aggctgatta ttactgtgca ctatgggatg acagcctgga tggttatgtc 300  
ttcggaaactg ggaccaaggt caccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgagg tccagctggt gcagtctggg 420  
gctgaggtga ggaggcctgg ggctacagtg aaaatctcct gcaaggtttc tggatacacc 480  
ttcaacgact tctacttaca ctgggtgcga caggccccctg gaaaagggtc tgagtggatg 540  
ggacgtattg atcctgaaga tggtaaaaca agatatgcag agaagttcca gggcagactc 600  
accattaccg cggacacgtc tacagacact ctttcatgc aactgggcgg cctgacatct 660  
gacgacacgg cgtctatta ctgtacaact gattggggct atagcagttc cctacgtgag 720  
gaggacatct ggtacgactg ctggggccag ggaacctgg tcaccgtctc ctca 774

<210> 24

<211> 258

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 24

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

	165	170	175
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Lys Thr Arg Tyr			
180	185	190	
Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Leu Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr			
195	200	205	
Asp Thr Leu Tyr Met Gln Leu Gly Gly Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala			
210	215	220	
Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Asp Trp Gly Tyr Ser Ser Ser Leu Arg Glu			
225	230	235	240
Glu Asp Ile Trp Tyr Asp Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val			
245	250	255	

Ser Ser

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 756

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 25

```

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
acctgtggggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggccccctg tgctgggtcat ctattatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctgggt ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgatcatta tgtcttcgga 300
actgggacca aggtcaccgt cctaggttct agaggtgggt gtggtagcgg cggcggcggc 360
tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag 420
gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggte tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc 480
agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg 540
atcatcccta tcttttgtac agcaaaactac gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt 600
accgcggacg aatccacgag cacagcctac atggagctga gcagcctgag atctgaggac 660
acggccgtgt attactgtgc gagagattat gggtaggtg actacggtga tgcttttgat 720
atctggggcc aagggaacaat ggtcaccgtc tcttca 756

```

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 252

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 26

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

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 753

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 27

tcctatgtgc tgactcagcc accctcgggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60  
 acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaggccaggc 120  
 caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180  
 ttctctggct ccaactctgg aaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240  
 gatgaggccg actattcctg tcaggtgtgg gatagcagta gtgatcatta tgtcttcgga 300  
 cctgggacca aggtcaccgt cctaggttct agaggtgggt gtggtagcgg cggcggcggc 360  
 tctggtgggt gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420  
 gtgaaaaagc cgggggagtc tctgaagatc tctgtgaagg gttctggata cagctttacc 480  
 agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540  
 atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc 600  
 tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggctcggac 660  
 accgccatgt attactgtgc gcgcgttggt ggtactatct actctatgca gtacgatgtt 720  
 tggggtcaag gtactctggt gaccgtctcc tca 753

<210> 28

<211> 251

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 28

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

145	150	155	160
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu			
	165	170	175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro			
	180	185	190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr			
	195	200	205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr			
	210	215	220
Tyr Cys Ala Arg Val Val Gly Thr Ile Tyr Ser Met Gln Tyr Asp Val			
225	230	235	240
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	245	250	

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 29

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60  
 acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120  
 caggccccctg tgctgggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180  
 ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240  
 gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgattatgt ggtattcggc 300  
 ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtggtg gtggtagcgg cggcggcggc 360  
 tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420  
 gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 480  
 agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540  
 atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc 600  
 tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac 660  
 accgcatgt attactgtgc gcgccagggt tggggttggc agggtggtat gtaccgcgt 720  
 tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaaggta ctctggtgac cgtctcctca 780

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 260

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

### 〈213〉 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 31

caggctgtgc tgactcagcc accctcggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60  
 tcctgtttctg gaagcagctc caacgtcgga aataatgctg taaactggta ccagcaggtc 120  
 ccaggaaaagg ctcccaaact cctcatctat tatgatgata tgctgtcctc aggggtctct 180  
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240  
 tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccggt 300  
 ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
 ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgaag tgcagctggt gcagtctgga 420  
 gcagaggatga aaaagccccg ggagtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480  
 tttaccagct actggatcgg ctgggtgcgc cagatgcccc ggaaaggcct ggagtggatg 540  
 gggatcatct atcctggatga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtc 600  
 accatctcag ccgacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660  
 tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tgggtcttcta cttgggactc tatgtacatg 720  
 gattactggg gtcaaggtag tctggtgacc gtctcctca 759

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 253

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 32

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



Leu	Glu	Met	Ala	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys
130						135					140				
Lys	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser
145					150				155					160	
Phe	Thr	Ser	Tyr	Trp	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Pro	Gly	Lys	Gly
				165				170						175	
Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Ile	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asp	Ser	Asp	Thr	Arg	Tyr
			180					185					190		
Ser	Pro	Ser	Phe	Gln	Gly	Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile
		195					200					205			
Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala
		210				215					220				
Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Trp	Ser	Ser	Thr	Trp	Asp	Ser	Met	Tyr	Met
225				230						235				240	
Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
			245						250						

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 756

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 33

```

cagcctgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatc 60
acctgtggag gaaacaacat tggaagtga agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggcccccta tgggtggcat ctattatgat agcaaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgaccg tcagcagggt cgaagccgag 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg aatagtagta gtgatcatcg aggagtgttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtcctaggt tctagagggt gtggtggtag cggcggcggc 360
ggctctgggtg gtggtggatc cctcgagatg gccgaagtgc agctggtgca gtctggagca 420
gaggtgaaaa agcccgggga gtctctgagg atctctgtga agggttcttg atacagcttt 480
accagctact ggatcggctg ggtgcgccag atgcccgga aaggcctgga gtggatgggg 540
atcatctatc ctggtgactc tgataccaga tacagccgt cttccaagg ccaggtcacc 600
atctcagccg acaagtccat cagcaccgcc tacctgcagt ggagcagcct gaagcctcg 660
gacaccgcca tgtattactg tgcgcgcgtt acttactcta tggactctta ctacttcgat 720
tcttgggggtc aaggctactt ggtgaccgtc tcctca 756

```

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 252

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 34

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

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 35

```

ctgcctgtgc ttactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctgggt ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcaacagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgattatgt ggtattcggc 300
ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtgggt gtggtagcgg cggcggcggc 360
tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcage tggatgcagc tggagcagag 420
gtgaaaaagc ctggggagtc tctgaagatc tctgttaagg gttctggata cagctttacc 480
agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540
atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgctct tccaaggcca ggtcaccatc 600
tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac 660
accgccatgt attactgtgc gcgccaggtt tggggttggc aggggtggtat gtaccgcgt 720
tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaaggta ctctggtgac tgtctcctca 780

```

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 260

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 36

```

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

```

115	120	125
Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro		
130	135	140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr		
145	150	155
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu		
165	170	175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro		
180	185	190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr		
195	200	205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr		
210	215	220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg		
225	230	235
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
245	250	255
Thr Val Ser Ser		
260		

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 37

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60  
 acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120  
 caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180  
 ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc acctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240  
 gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgattatgt ggtatttggc 300  
 ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtgggt gtggtagcgg cggcggcggc 360  
 tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcggc tggtagcagc tggagcagag 420  
 gtgaaaaagc cgggggagtc tctgaagatc tctgcaagg gttctggata cagctttacc 480  
 agcttctgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540  
 atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgctct tccaaggcca ggtcaccatc 600  
 tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggctcggac 660  
 accgcgatgt attactgtgt gcgccagggt tggggttggc aggggtggtat gtaccgcgt 720  
 tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaagta ctctggtaac cgtctcctca 780

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 260

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 38

```

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

```

Thr Val Ser Ser

260

<210> 39

<211> 780

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 39

```
ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggagagac ggccaggatt 60
acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgattatgt ggtattcggc 300
ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtggtg gtggtagcgg cggcggcggc 360
tctggtggtg gtggatccct cgagatggca gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420
gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 480
agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540
atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc 600
tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtga gcagcctgaa ggcctcggac 660
accgccatgt attactgtgc gcgccaggtt tggggttggc aggggtggtat gtaccgcgct 720
tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaaggta ctctggtgac cgtctcctca 780
```

<210> 40

<211> 260

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 40

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

Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Ser	Ser	Asp	Tyr			
					85						90						95	
Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Ser	Arg	Gly			
					100						105						110	
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Leu	Glu			
					115						120						125	
Met	Ala	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro			
					130						135						140	
Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr			
					145						150						155	160
Ser	Tyr	Trp	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu			
					165						170						175	
Trp	Met	Gly	Ile	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asp	Ser	Asp	Thr	Arg	Tyr	Ser	Pro			
					180						185						190	
Ser	Phe	Gln	Gly	Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr			
					195						200						205	
Ala	Tyr	Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr			
					210						215						220	
Tyr	Cys	Ala	Arg	Gln	Val	Trp	Gly	Trp	Gln	Gly	Gly	Met	Tyr	Pro	Arg			
					225						230						235	240
Ser	Asn	Trp	Trp	Tyr	Asn	Met	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val			
					245						250						255	
Thr	Val	Ser	Ser															
260																		

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 41

```

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgattatgt ggtattcggc 300
ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtggtg gtggtagcgg cggcggcggc 360
tctggcggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420
gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 480

```

agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540  
 atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc 600  
 tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac 660  
 accgccatgt attactgtgc gcgccagggt tgggggttggc aggggtggtat gtaccgcgt 720  
 tctaactggg ggtacaactt ggattcttgg ggtcaaggta ctctggtgac cgtctcctca 780

<210> 42

<211> 260

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 42

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



His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

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

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 45

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60  
acctgtggggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120  
caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180

ttctctggct ccaactctgg gaacatggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240  
 gatgaggccg actattactg tcagggtgtg gatagtagta gtgattatgt ggtattcggc 300  
 ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agagggtgtg gtggtagcgg cggcggcggc 360  
 tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420  
 gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 480  
 agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540  
 atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc 600  
 tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtga gcagcctgaa ggcctcggac 660  
 accgccatgt attactgtgc gcgccaggtt tggggttggc aggggtggtat gtaccgcgt 720  
 tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaaggta ctctggtgac cgtctcctca 780

<210> 46

<211> 260

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 46

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

Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro  
 180 185 190  
 Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr  
 195 200 205  
 Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr  
 210 215 220  
 Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg  
 225 230 235 240  
 Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 245 250 255  
 Thr Val Ser Ser  
 260

<210> 47

<211> 780

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 47

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60  
 acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120  
 caggccccctg tgctgggtcgt ctatgatgat agcaaccggc cctcagggat ccctgagcga 180  
 ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240  
 gatgaggccg actattactg tcagggtgtg gatagtagta gtgagtatgt ggtattcggc 300  
 ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agagggtggtg gtggtagcgg cggcggcggc 360  
 tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420  
 gtgaaaaagc cgggggagtc tctgaagatc tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 480  
 agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540  
 atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc 600  
 tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac 660  
 accgccatgt attactgtgc gcgtcaggtt tggggttggc aggggtggtat gtaccgcgt 720  
 tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaaggta ctctggtgac cgtctcctca 780

<210> 48

<211> 260

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 48

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

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

<223> 合成构筑体

<400> 49

```

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcgatg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtggttatgt ggtattcggc 300
ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtgggt gtggtagcgg cggcggcggc 360
tctggtgggt gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420
gtgaaaaagc cgggggagtc tctgaagatc tctgttaagg gttctggata cagctttacc 480
agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540
atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgctct tccaaggcca ggtcaccatc 600
tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac 660
accgccatgt attactgtgc gcgccaggtt tggggttggc aggggtggtat gtaccgcgt 720
tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaaggta ctctggtgac cgtctcctca 780

```

<210> 50

<211> 260

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 50

```

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

```

130	135	140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr		
145	150	155
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu		
165	170	175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro		
180	185	190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr		
195	200	205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr		
210	215	220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg		
225	230	235
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
245	250	255
Thr Val Ser Ser		
260		

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 51

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60  
 acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120  
 caggccccctg tgctggtcgt ctacgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180  
 ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240  
 gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtacta gtgattatgt ggtattcggc 300  
 ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtggtg gtggtagcgg cggcggcggc 360  
 tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420  
 gtgaaaaagc ccggggagtt tctgaagatc tctgtgaagg gttctggata cagcttcacc 480  
 agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540  
 atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgtcct tccaaggcca ggtcgccatc 600  
 tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggccctcgac 660  
 accgcatgt attactgtgc gcgccaggtt tggggttggc aggggtggtat gtaccgcgt 720  
 tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaagta ctctggtgac cgtctcctca 780

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 260

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 52

```

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

```



&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 53

```

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaccactgcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgattatgt ggtattcggc 300
ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtggtg gtggtagcgg cggcggcggc 360
tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tagtgcagtc tggagcagag 420
gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 480
agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540
atctatcctg gtgactccga taccagatac agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc 600
tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac 660
accgccatgt attactgtgc gcgccaggtt tggggttggc aggggtggtat gaaccgcgt 720
tctaactggt ggtacaacat ggattcttgg ggtcaagta ctctggtgac cgtctcctca 780

```

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 260

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 54

```

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

```

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly		
100	105	110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu		
115	120	125
Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro		
130	135	140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr		
145	150	155
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu		
165	170	175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro		
180	185	190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr		
195	200	205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr		
210	215	220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Asn Pro Arg		
225	230	235
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
245	250	255
Thr Val Ser Ser		
260		

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 780

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 55

```

ctgcctgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60
acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accttgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgattatgt ggtattcggc 300
ggagggacca agctgaccgt cctaggttct agaggtggtg gtggtagtgg cggcggcggc 360
tctggtggtg gtggatccct cgagatggcc gaagtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag 420
gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc tcctgtaagg gttctggata cagctttacc 480
agctactgga tcggctgggt gcgccagatg cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc 540
atctatcctg gtgactctga taccagatac agcccgttct tccaaggcca ggtcaccatc 600

```

tcagccgaca agtccatcag caccgcctac ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac 660  
 accgccatgt attactgtgc gcgccagggt tggggttggc aggggtggtat gtaccgcgct 720  
 tctaactggg ggtacaacat ggattcttgg ggtcaaggta ctctggtgac cgtctcctca 780

<210> 56

<211> 260

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 56

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

225	230	235	240
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val			
	245	250	255
Thr Val Ser Ser			
260			

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 759

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 57

```

caggctgtgc tgactcagcc accctcggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60
tcctgtttctg gaagcagctc caacgtcgga aataatgctg taaactggta ccagcaggtc 120
ccaggaaagg ctcccaaact cctcatctat tatgatgata tgctgtcctc aggggtctct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccgga 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360
ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgaag tgcagctggt gcagtccgga 420
gcagaggtga aaaagcccgg ggagtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480
tttaccagct actggatcgg ctgggtgctg cagatgcccc ggaaaggcct ggagtggatg 540
gggatcatct atcctgggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtc 600
accatctcag ccgacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660
tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tggctttctt cttgggactc tatgtacatg 720
gattactggg gtcaagggtac tatggtgacc gtctcctca 759

```

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 253

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 58

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

50	55	60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln		
65	70	75
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu		
85	90	95
Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser		
100	105	110
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
115	120	125
Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
130	135	140
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser		
145	150	155
Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly		
165	170	175
Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr		
180	185	190
Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile		
195	200	205
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala		
210	215	220
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ser Ser Ser Trp Asp Ser Met Tyr Met		
225	230	235
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
245	250	

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 759

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 59

caggctgtgc ttactcagcc accctcggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60  
tctgtttctg gaaacagctc caacgtcgga aataatgcta taaactggta ccagcaggtc 120  
ccaggaaagg ctcccaaact cctcatctat tatgatgatc tgctgtcttc aggggtctct 180  
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240  
tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccggt 300  
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgaag tgcagctggt gcagtctgga 420

gcagaggtgg aaaagcccg ggagtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480  
 tttaccagct actggatcgg ctgggtgcgc cagatgcccc ggaaaggcct ggagtggatg 540  
 gggatcatct atcctgggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtc 600  
 accatctcag cgcacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660  
 tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tggctttcta cttgggactc tatgtacatg 720  
 gaatactggg gtcaaggtag tctggtgacc gtctcctca 759

<210> 60

<211> 253

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 60

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

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala  
 210 215 220  
 Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met  
 225 230 235 240  
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 245 250

<210> 61

<211> 760

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 61

caggctgtgc tgactcagcc accctcgggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60  
 tctgtttctg gaagcagctc caacgtcgga aataatgctg taaactggta ccagcaggtc 120  
 ccaggaaagg ctcccaaact cctcatctat tatgatgatc tgctgtcctc aggggtctct 180  
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240  
 tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccggt 300  
 ttccggcgag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
 ggccggtctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgaag tgcagctggt gcagtctgga 420  
 gcagaggtga aaaagcccgg ggggtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480  
 tttaccagct actggatcgg ctgggtgctg cagatgcccg ggaaaggcct ggagtggatg 540  
 gggatcatct atcctgggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtc 600  
 accatctcag ccgacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660  
 tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tgggtcttcta cttgggactc tatgtacatg 720  
 gattactggg gtcaagggtac tctggtgacc gtctcctcaa 760

<210> 62

<211> 253

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 62

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

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

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 759

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 63

```

caggctgtgc tgactcagcc accctcggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60
tcctgttctg gaagcagctc caacgtcgga aataatgctg taaactggta ccagcaggtc 120
ccaggaaagg ctcccaaact cctcatctat tatgatgac agctgtctc aggggtctct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccggt 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360

```



ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgaag tgcagctggt gcagtctgga 420  
 gcagaggtga aaaagcccgg ggagtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480  
 tttaccagct actggatcgg ctgggtgctc cagatgcccg ggaaaggcct ggagtggatg 540  
 gggatcatct atcctgggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtc 600  
 accatctcag ccgacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660  
 tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tgggtcttcta cttgggactc tttgtacatg 720  
 gattactggg gtcaaggtag tctggtgacc gtctcctca 759

<210> 64

<211> 253

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 64

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

195	200	205
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp	Ser Ser Leu Lys Ala	Ser Asp Thr Ala
210	215	220
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp	Ser Ser Thr Trp Asp	Ser Leu Tyr Met
225	230	235
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	Leu Val Thr Val	Ser Ser

245

250

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 759

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 65

```

caggctgtgc tgactcagcc accctcggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60
tcctgttctg gaaacagctc caacgtcgga aataatgctg taaactggta ccagcaggtc 120
ccaggaaagg ctcccaaact tctcatctat tatgatgatc tgctgtcctc aggggtctct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccggt 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360
ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgaag tgcagctggt gcagtctgga 420
gcagaggtga aaaagcccgg ggagtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480
tttaccagct actggatcgg ctgggtgcgc cagatgcccc ggaaaggcct ggagtggatg 540
gggatcatct atcctgggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtc 600
accatctcag ccgacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660
tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tggctttcta cttgggactc tatgtacatg 720
gattactggg gtcaaggtac tctggtgacc gtctcctca 759

```

&lt;210&gt; 66

&lt;211&gt; 253

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 66

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

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

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 759

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 67

caggctgtgc tgactcagcc accctcggtg tccgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60  
tctgtttctg gaagcagctc caacgtcgga aataatgctg taaactggta ccagcaggtc 120  
ccaggaaagg ctcccaaact cctcatctat tatgatgac tgctgtcctc aggggtctct 180  
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240  
tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccgta 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
 ggcggctctg gtggtggtgg ttccctcgag atggccgaag tacagctggt gcagtcagga 420  
 gcagaggatga aaaagccccg ggaatctctg aagatctcct gtaagggttc tgcatacagc 480  
 tttaccagct actggatcgg ctgggtgcgc cagatgcccg ggaaaggcct ggagtggatg 540  
 gggatcatct atcctggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtc 600  
 accatctcag ccgacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660  
 tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tgggtcttcta cttgggactc tatgtacatg 720  
 gattactggg gtctaggtac tctggtgacc gtctcctca 759

<210> 68

<211> 253

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 68

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

Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile  
 195 200 205  
 Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala  
 210 215 220  
 Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met  
 225 230 235 240  
 Asp Tyr Trp Gly Leu Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 245 250

<210> 69

<211> 759

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 69

caggctgtgc tgactcaacc accctcgggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60  
 tcctgttctg gaagcagctc caacgtcgga aataatgctg taaactggta ccagcaggtc 120  
 ccaggaaagg ctcccaaact cctcatctat tatgatgatc agctgtcctc aggggtctct 180  
 gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240  
 tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccggt 300  
 ttccggcgag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
 ggccggctctg gtggtggtgg atccctcggg atggccgaag tgcagctggt gcagtctgga 420  
 gcagaggtga aaaagcccgg ggagtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480  
 tttaccagct actggatcgg ctgggtgctc cagatgcccg ggaaaggcct ggagtggatg 540  
 gggatcatct atcctgggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtt 600  
 accatctcag ccgacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660  
 tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tgggtcttcta cttgggactc tatgtacatg 720  
 gattactggg gtcaaggtac tctggttaacc gtctcctca 759

<210> 70

<211> 253

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 70

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

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu		
35	40	45
Ile Tyr Tyr Asp Asp Gln Leu Ser Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser		
50	55	60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln		
65	70	75
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu		
	85	90
Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser		
	100	105
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
	115	120
Leu Gly Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys		
	130	135
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser		
145	150	155
Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly		
	165	170
Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr		
	180	185
Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile		
	195	200
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala		
	210	215
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met		
225	230	235
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	245	250

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 759

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 71

caggctgtgc tgactcagcc accctcggtg tctgaagccc ccaggcagag ggtcaccatc 60  
 tcctgttctg gaagcagctc caacgtcggt aataatgctg taaactggta ccagcaggtc 120  
 ccaggaaagg ctcccaaact cctcatctat tatgatgac tgctgtcctc aggggtctct 180  
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240

tctgaggatg aggccgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa tggctccgta 300  
 ttccggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtggtgg tagcggcggc 360  
 ggcggctctg gtggtggtgg atccctcgag atggccgaag tgcagctggt gcagtctgga 420  
 gcagaggtga aaaagcccgg ggagtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480  
 tttaccagct actggatcgg ctgggtgcgc cagatgcccg ggaaaggcct ggagtggatg 540  
 gggatcatct atcctggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccaggtc 600  
 accatctcag ccgacaagtc catcagcacc gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660  
 tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tgggtcttctt cttgggactc tatgtacatg 720  
 gattactggg gtcaaggtag tctggtgacc gtctctca 759

<210> 72

<211> 253

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 72

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

180	185	190
Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile		
195	200	205
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala		
210	215	220
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ser Ser Ser Trp Asp Ser Met Tyr Met		
225	230	235
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
245	250	

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 73

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 74

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构筑体

&lt;400&gt; 75

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Ser Arg Leu Asp Tyr

1 5 10

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT



<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 76

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 77

Ile Ser Ala Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 78

<211> 10

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 78

Ala Arg Tyr Tyr Leu Ser Gln Ile Asp Ser

1 5 10

<210> 79

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 79

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 80

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 80

Val Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr

1 5

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 81

Ala Thr Gly Ile Tyr Ser Arg Pro Leu Gly Tyr

1 5 10

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 82

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 83

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 83

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 84

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 84

Ala Arg Ser Asp Gly Lys His Phe Trp Gln Gln Tyr Asp Ala

1 5 10

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 85

Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr

1 5

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 86

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 87

Ala Arg Met Asn Ile Asp Tyr

1 5

<210> 88

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 88

Glu Tyr Ser Phe Ala Ser Tyr Trp

1 5

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 89

Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr

1 5

<210> 90

<211> 17

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 90

Ala Arg Pro Phe Gln Tyr Asp Tyr Gly Gly Tyr Ser Asp Ala Phe Asp

1 5 10 15

Ile

<210> 91

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 91

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Ser Ser

1 5

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 92

Ile Ile Pro Ile Val Gly Thr Pro

1 5

<210> 93

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 93

Ala Arg Gly Gly Tyr Arg Asp Tyr Met Asp Val

1 5 10

<210> 94

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 94

Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr

1 5

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 95

Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 96

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 96

Ala Arg Gly Gly Phe Gly Ala Glu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 97

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 97

Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr

1 5  
<210> 98  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 98  
Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr  
1 5  
<210> 99  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 99  
Ala Arg Gly Gly Ile Ser Asp Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp  
1 5 10 15  
Asn  
<210> 100  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 100  
Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr  
1 5  
<210> 101  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 101  
Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr  
1 5  
<210> 102

<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 102  
Ala Arg Glu Arg Gly Met Gly Tyr Ala Phe Asp Ile  
1 5 10  
<210> 103  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 103  
Gly Val Ser Met Ser Glu Asn Tyr  
1 5  
<210> 104  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 104  
Ala His Tyr Thr Gly Asp Thr  
1 5  
<210> 105  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 105  
Ala Ser Tyr His Pro Phe Asn Tyr  
1 5  
<210> 106  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 106

Gly Tyr Thr Phe Asn Asp Phe Tyr

1 5

<210> 107

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 107

Ile Asp Pro Glu Asp Gly Lys Thr

1 5

<210> 108

<211> 19

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 108

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

1 5 10 15

Tyr Asp Cys

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 109

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 110

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体



<400> 110

Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 111

<211> 15

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 111

Ala Arg Asp Tyr Gly Tyr Gly Asp Tyr Gly Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 112

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 112

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 113

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 113

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 114

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 114

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

1 5 10

<210> 115

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 115

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 116

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 117

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 117

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

1 5 10 15

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser

20

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 118

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 119

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 119

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 120

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 120

Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 121

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 121

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 122

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 122

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 123

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 123

Ala Arg Val Thr Tyr Ser Met Asp Ser Tyr Tyr Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 124

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 124

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 125

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 125

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 126

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 126

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

1 5 10 15

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser

20

<210> 127

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 127

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 128

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 128

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 129

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 129

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

1 5 10 15

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser

20

<210> 130

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 130

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 131

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 132

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 132

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

1 5 10 15

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser

20

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 133

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 134

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 134

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 135

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 135

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn  
1                      5                      10                      15  
Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser  
20

<210> 136

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 136

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp  
1                      5

<210> 137

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 137

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr  
1                      5

<210> 138

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 138

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn  
1                      5                      10                      15  
Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser  
20

<210> 139

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 139

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 140

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 140

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 141

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 141

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Asn Pro Arg Ser Asn

1 5 10 15

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser

20

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 142

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 143

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 143



Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 144

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 144

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

1 5 10 15

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser

20

<210> 145

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 145

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Phe Trp

1 5

<210> 146

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 146

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 147

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 147

Val Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

<400> 151

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 152

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 152

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 153

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 153

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

1 5 10 15

Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser

20

<210> 154

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 154

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 155

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 155

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 156

<211> 23

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 156

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

1

5

10

15

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser

20

<210> 157

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 157

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1

5

<210> 158

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 158

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1

5

<210> 159

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 159

Ala Arg Trp Ser Ser Ser Trp Asp Ser Met Tyr Met Asp Tyr

1

5

10

<210> 160

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 160

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 161

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 161

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 162

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 162

Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met Glu Tyr

1 5 10

<210> 163

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 163

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 164

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 165

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 165

Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 166

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 167

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 167

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 168

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 168

Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Leu Tyr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 169

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 169

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 170

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 170

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 171

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 171

Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 172

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 172

Ala Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 173

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 173

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 174

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 174

Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 175

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 175

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 176

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 176

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 177

<211> 14

<212> PRT



<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 177

Ala Arg Trp Ser Ser Thr Trp Asp Ser Met Tyr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 178

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 178

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 179

<211> 7

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 179

Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 180

<211> 14

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 180

Ala Arg Trp Ser Ser Ser Trp Asp Ser Met Tyr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 181

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 181  
Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr  
1 5  
<210> 182  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 182  
Asp Asn Asn  
1  
<210> 183  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 183  
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Gly Val  
1 5 10  
<210> 184  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 184  
Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr  
1 5  
<210> 185  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 185  
Glu Asn Asn  
1

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 186

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Arg Ala Gly Val

1 5 10

<210> 187

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 187

Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr

1 5

<210> 188

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 188

Ser Asn Asn

1

<210> 189

<211> 12

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 189

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly His Val Val

1 5 10

<210> 190

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 190  
Ser Ser Asn Ile Gly Ser His Thr  
1 5  
<210> 191  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 191  
Ser Asn Asn  
1  
<210> 192  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 192  
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Tyr Val  
1 5 10  
<210> 193  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 193  
Gln Gly Ile Thr Asn Ser  
1 5  
<210> 194  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体

<400> 194  
Ala Ala Ser  
1  
<210> 195  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 195  
Gln His Tyr Leu Gly Thr Pro Tyr Ser  
1 5  
<210> 196  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 196  
Gln Ser Val Ser Arg Phe  
1 5  
<210> 197  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 197  
Gly Val Ser  
1  
<210> 198  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 198  
Gln Glu Ser Tyr Ile Ile Pro Leu Thr  
1 5

<210> 199

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 199

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asn Gly Phe Asn Ser

1 5 10

<210> 200

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 200

Leu Gly Ser

1

<210> 201

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 201

Met Gln Ser Leu Gln Ile Pro Thr

1 5

<210> 202

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 202

Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr

1 5

<210> 203

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 203

Arg Asn Asn

1

<210> 204

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 204

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val

1

5

10

<210> 205

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 205

Lys Leu Gly Asp Lys Tyr

1

5

<210> 206

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 206

Gln Asp Asn

1

<210> 207

<211> 10

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 207

Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Glu Asp Val

1 5 10

<210> 208

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 208

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 209

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 209

Ala Ala Ser

1

<210> 210

<211> 9

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 210

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 211

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 211

Gln Gly Ile Gly Ser Tyr

1 5



<210> 212

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 212

Pro Ala Ser

1

<210> 213

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 213

Gln Gln Leu Asn Ser Leu

1

5

<210> 214

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 214

Ser Ser Asn Ile Gly Thr Lys Thr

1

5

<210> 215

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 215

Ser Asn Tyr

1

<210> 216

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 216

Ala Leu Trp Asp Asp Ser Leu Asp Gly Tyr Val

1 5 10

<210> 217

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 217

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1 5

<210> 218

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 218

Tyr Asp Ser

1

<210> 219

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 219

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr Val

1 5 10

<210> 220

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 220

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1 5

<210> 221

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 221

Asp Asp Ser

1

<210> 222

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 222

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr Val

1 5 10

<210> 223

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 223

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1 5

<210> 224

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 224

Asp Asp Ser

1

<210> 225  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 225  
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val  
1 5 10  
<210> 226  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 226  
Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala  
1 5  
<210> 227  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 227  
Tyr Asp Asp  
1  
<210> 228  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 228  
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val  
1 5 10  
<210> 229  
<211> 6  
<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 229

Asn Ile Gly Ser Glu Ser

1 5

<210> 230

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 230

Tyr Asp Ser

1

<210> 231

<211> 12

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 231

Gln Val Trp Asn Ser Ser Ser Asp His Arg Gly Val

1 5 10

<210> 232

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 232

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1 5

<210> 233

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 233

Asp Asp Ser

1

<210> 234

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 234

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val

1

5

10

<210> 235

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 235

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1

5

<210> 236

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 236

Asp Asp Ser

1

<210> 237

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 237

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val

1

5

10

<210> 238  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 238  
Asn Ile Gly Ser Lys Ser  
1 5  
<210> 239  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 239  
Asp Asp Ser  
1  
<210> 240  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 240  
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Glu Tyr Val Val  
1 5 10  
<210> 241  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 241  
Asn Ile Gly Ser Lys Ser  
1 5  
<210> 242  
<211> 3  
<212> PRT

<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 242  
Asp Asp Ser  
1  
<210> 243  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 243  
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Gly Tyr Val Val  
1 5 10  
<210> 244  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 244  
Asn Ile Gly Ser Lys Ser  
1 5  
<210> 245  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 245  
Asp Asp Ser  
1  
<210> 246  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体



<400> 246  
Gln Val Trp Asp Ser Thr Ser Asp Tyr Val Val  
1 5 10

<210> 247

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 247

Asn Ile Gly Ser Lys Ser  
1 5

<210> 248

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 248

Asp Asp Ser  
1

<210> 249

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 249

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val  
1 5 10

<210> 250

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 250

Asn Ile Gly Ser Lys Ser  
1 5

<210> 251  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 251  
Asp Asp Ser  
1  
<210> 252  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 252  
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val  
1 5 10  
<210> 253  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 253  
Asn Ile Gly Ser Lys Ser  
1 5  
<210> 254  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 254  
Asp Asp Ser  
1  
<210> 255  
<211> 11  
<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 255

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val

1 5 10

<210> 256

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 256

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1 5

<210> 257

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 257

Asp Asp Ser

1

<210> 258

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 258

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val

1 5 10

<210> 259

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 259

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1 5

<210> 260

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 260

Asp Asp Ser

1

<210> 261

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 261

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val

1 5 10

<210> 262

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 262

Asn Ile Gly Ser Lys Ser

1 5

<210> 263

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 263

Asp Asp Ser

1

<210> 264  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 264  
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val  
1 5 10  
<210> 265  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 265  
Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala  
1 5  
<210> 266  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 266  
Tyr Asp Asp  
1  
<210> 267  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<400> 267  
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val  
1 5 10  
<210> 268  
<211> 8  
<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 268

Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala

1 5

<210> 269

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 269

Tyr Asp Asp

1

<210> 270

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 270

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val

1 5 10

<210> 271

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 271

Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala

1 5

<210> 272

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 272

Tyr Asp Asp

1

<210> 273

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 273

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val

1

5

10

<210> 274

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 274

Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala

1

5

<210> 275

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 275

Tyr Asp Asp

1

<210> 276

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 276

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val

1

5

10

<210> 277

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 277

Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala

1 5

<210> 278

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 278

Tyr Asp Asp

1

<210> 279

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 279

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val

1 5 10

<210> 280

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 280

Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala

1 5

<210> 281

<211> 3

<212> PRT



<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 281

Tyr Asp Asp

1

<210> 282

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 282

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val

1

5

10

<210> 283

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 283

Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala

1

5

<210> 284

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 284

Tyr Asp Asp

1

<210> 285

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 285

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val

1 5 10

<210> 286

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 286

Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Ala

1 5

<210> 287

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<400> 287

Tyr Asp Asp

1

<210> 288

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<220>

<221> misc\_feature

<222> (2) .. (2)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (4) .. (7)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 288

Ile Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Thr

1 5

<210> 289

&lt;211&gt; 556

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 289

```

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

```

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

&lt;210&gt; 290

&lt;211&gt; 488

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 290

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

Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg  
 305 310 315 320  
 Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val  
 325 330 335  
 Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu  
 340 345 350  
 Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala  
 355 360 365  
 Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp  
 370 375 380  
 Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly  
 385 390 395 400  
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu  
 405 410 415  
 Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu  
 420 425 430  
 Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly  
 435 440 445  
 Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu  
 450 455 460  
 Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser  
 465 470 475 480  
 Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro  
 485

<210> 291

<211> 8

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成构筑体

<220>

<221> misc\_feature

<222> (2) .. (8)

<223> X2是F、G、Y或V,X3是S或T,X5是S或T,X7是N或Y,且X8是A、W或Y

<400> 291

Gly Xaa Xaa Phe Xaa Ser Xaa Xaa

1 5

<210> 292

<211> 8

<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2) .. (7)  
<223> X2是S、D或Y, X4是E、S、G或I, X5是D、F或V, X6是G或S, 且X7是K、E、Y、D或T  
<400> 292  
Ile Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Thr  
1 5  
<210> 293  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<220>  
<221> misc\_feaure  
<222> (4) .. (8)  
<223> X4是I或V, X6是N、S或T, X7是N、H或K, X8是Y、A或T  
<400> 293  
Ser Ser Asn Xaa Gly Xaa Xaa Xaa  
1 5  
<210> 294  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列  
<220>  
<223> 合成构筑体  
<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (5) .. (5)  
<223> X5是K或E  
<400> 294  
Asn Ile Gly Ser Xaa Ser  
1 5  
<210> 295  
<211> 3

<212> PRT  
 <213> 人造序列  
 <220>  
 <223> 合成构筑体  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1) .. (3)  
 <223> X1是D、E、S、R或Y,X2是N或D,X3是N、Y、S或D  
 <400> 295

Xaa Xaa Xaa

1

<210> 296  
 <211> 245  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列  
 <220>  
 <223> 合成构筑体  
 <400> 296

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



	165		170		175
Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu					
	180		185		190
Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn					
	195		200		205
Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr					
	210		215		220
Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser					
225		230		235	240
Val Thr Val Ser Ser					

245

&lt;210&gt; 297

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小家鼠

&lt;400&gt; 297

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr

1 5

&lt;210&gt; 298

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小家鼠

&lt;400&gt; 298

His Thr Ser

1

&lt;210&gt; 299

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小家鼠

&lt;400&gt; 299

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

&lt;210&gt; 300

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小家鼠

&lt;400&gt; 300

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly

1 5

<210> 301

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 301

Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr

1 5

<210> 302

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 302

Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

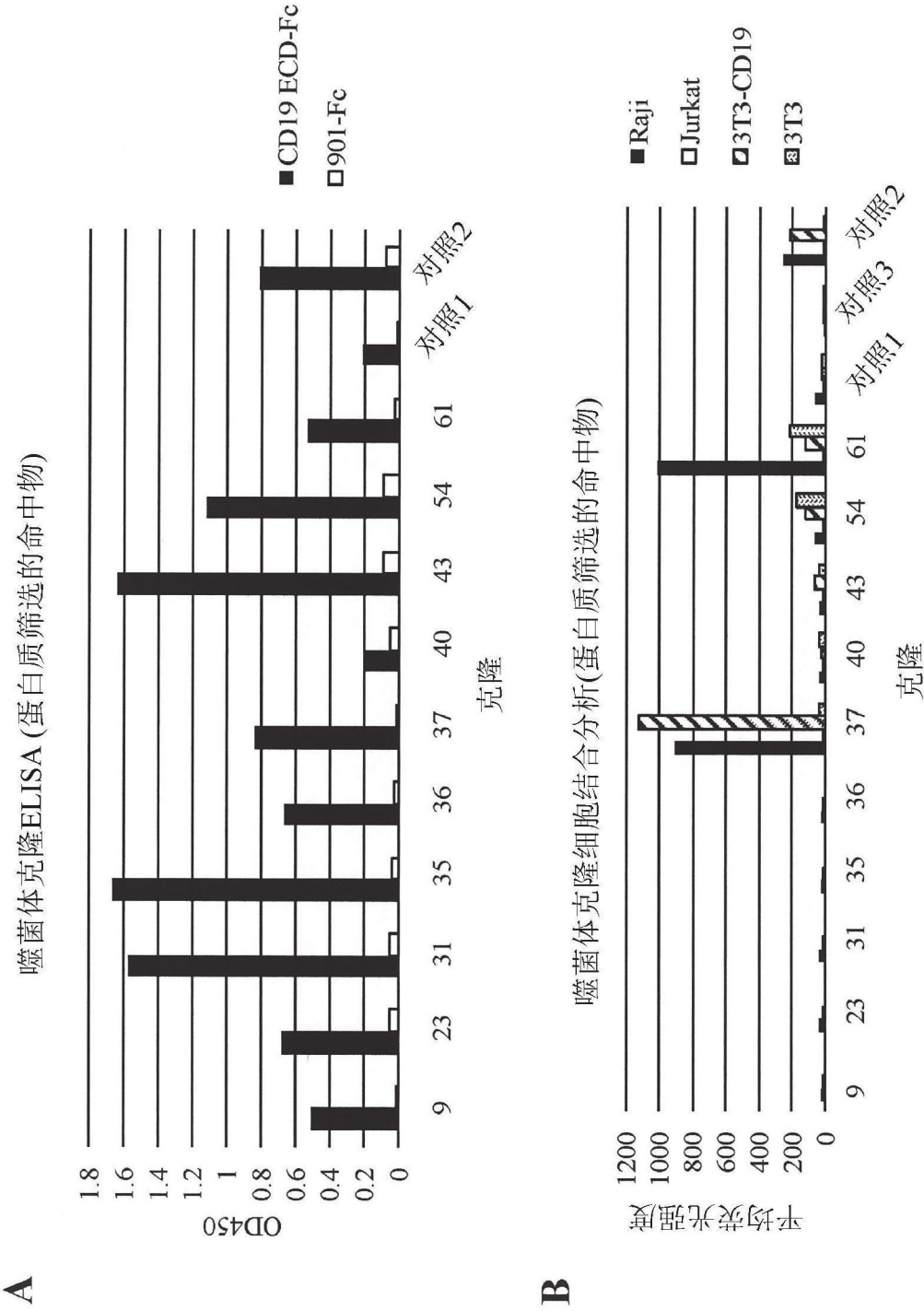


图1

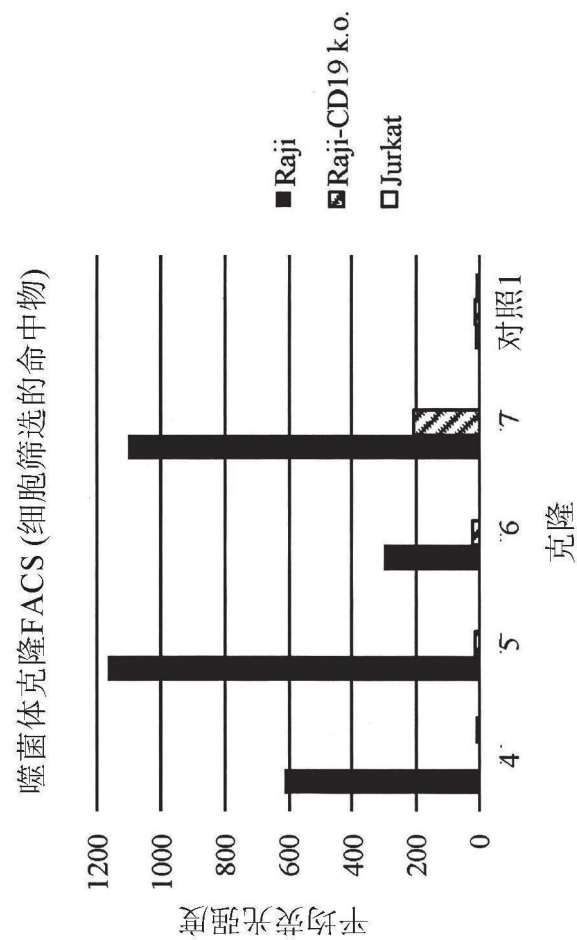


图2

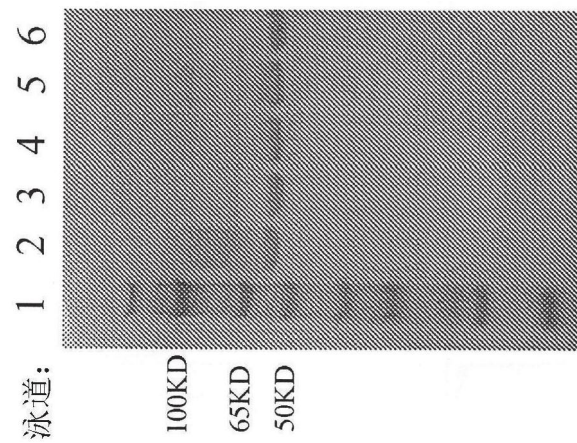


图3

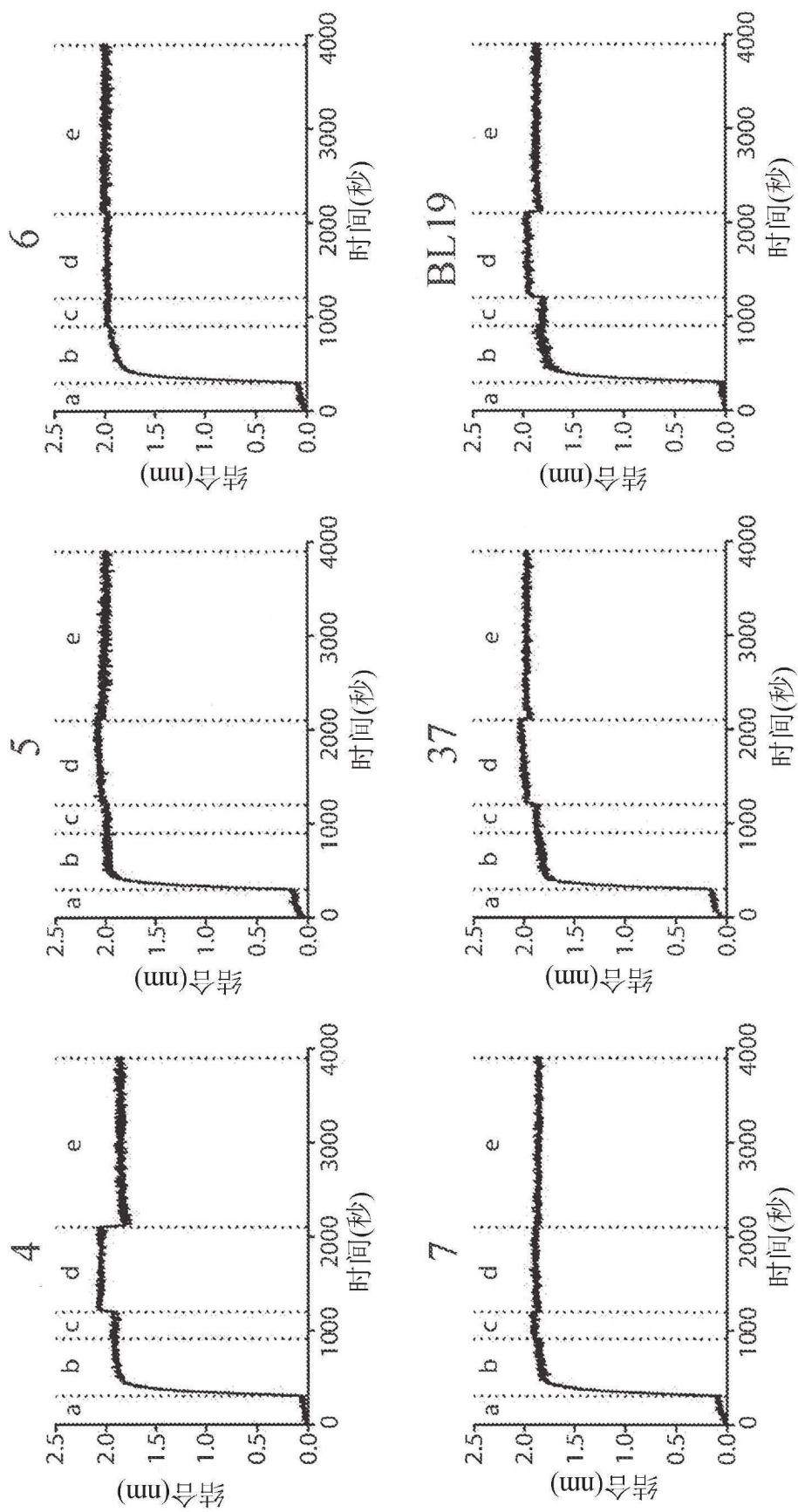


图4

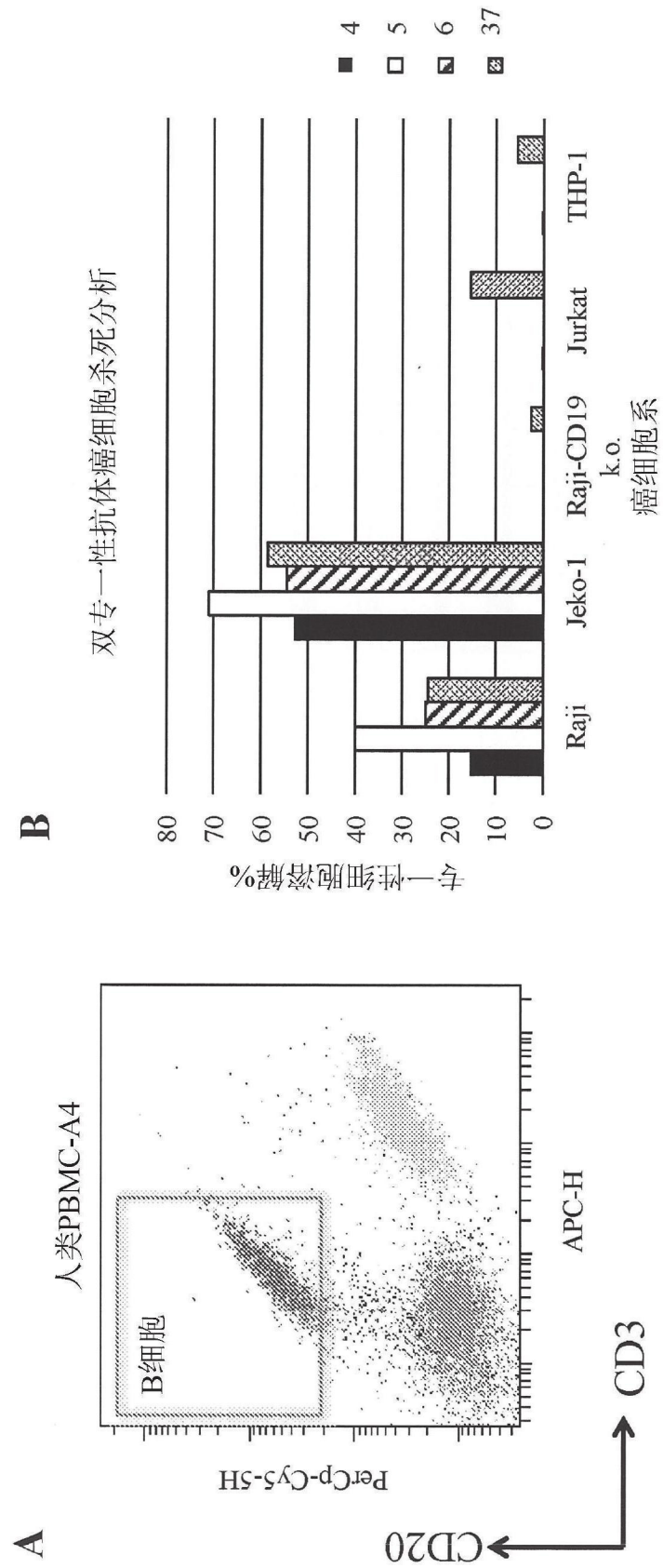


图5

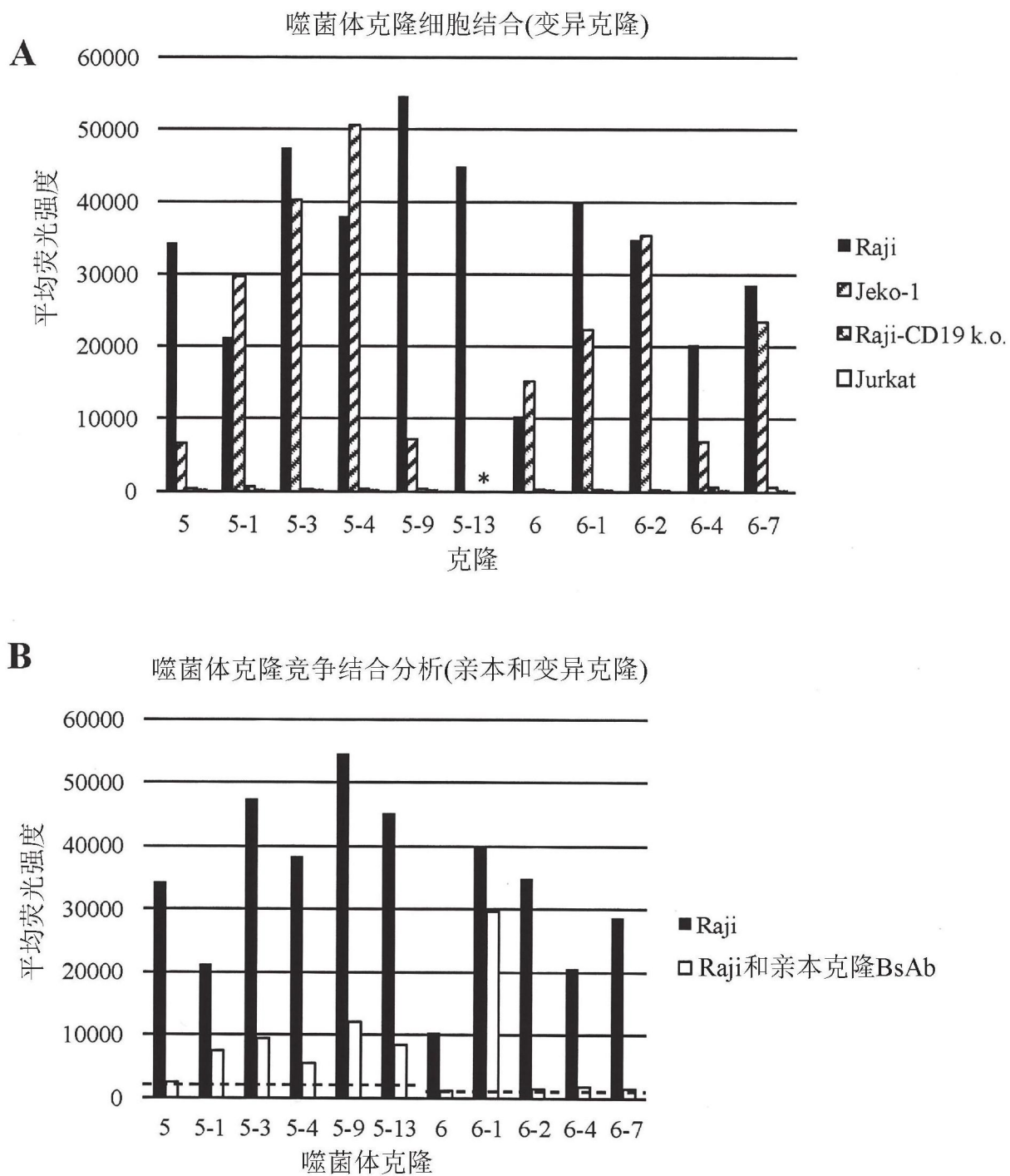


图6



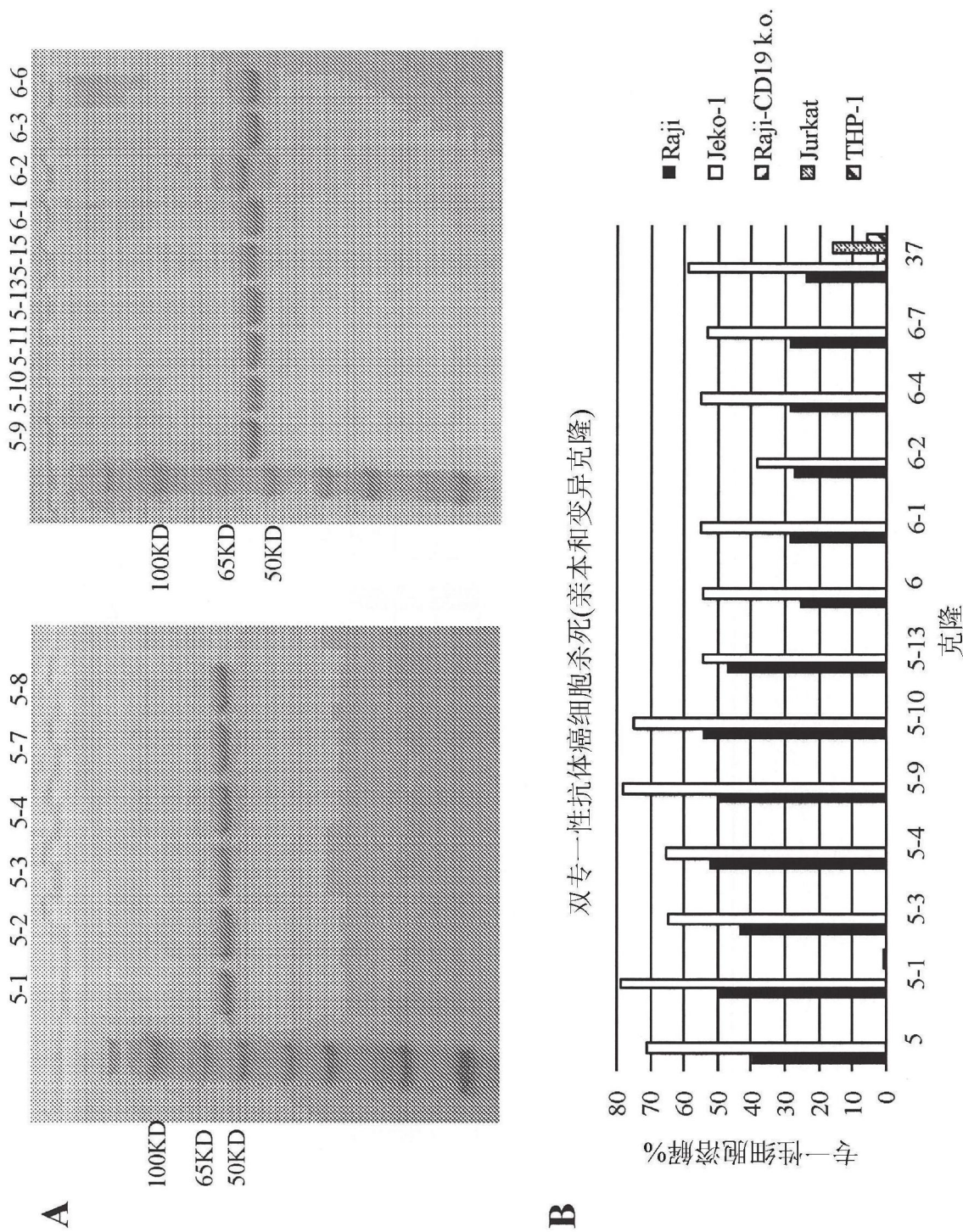


图7



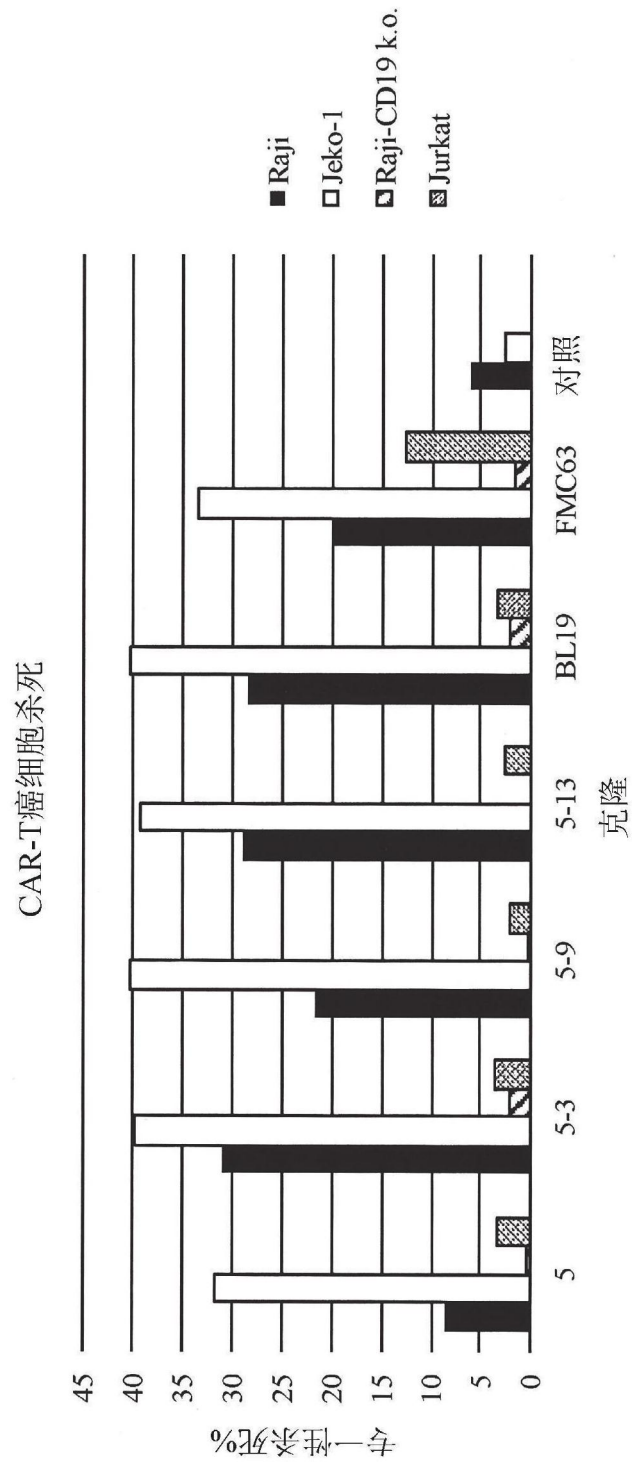


图8

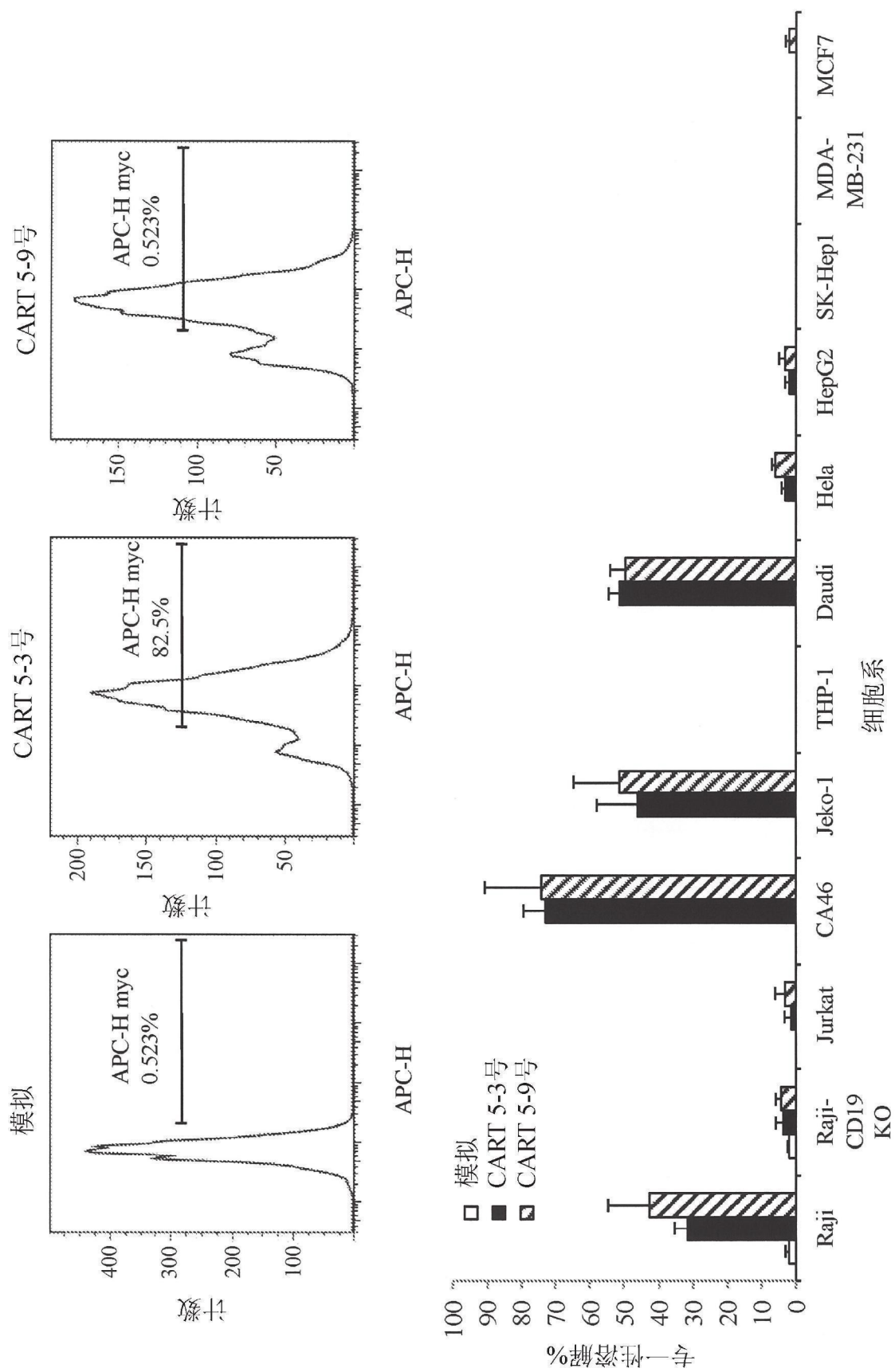


图9

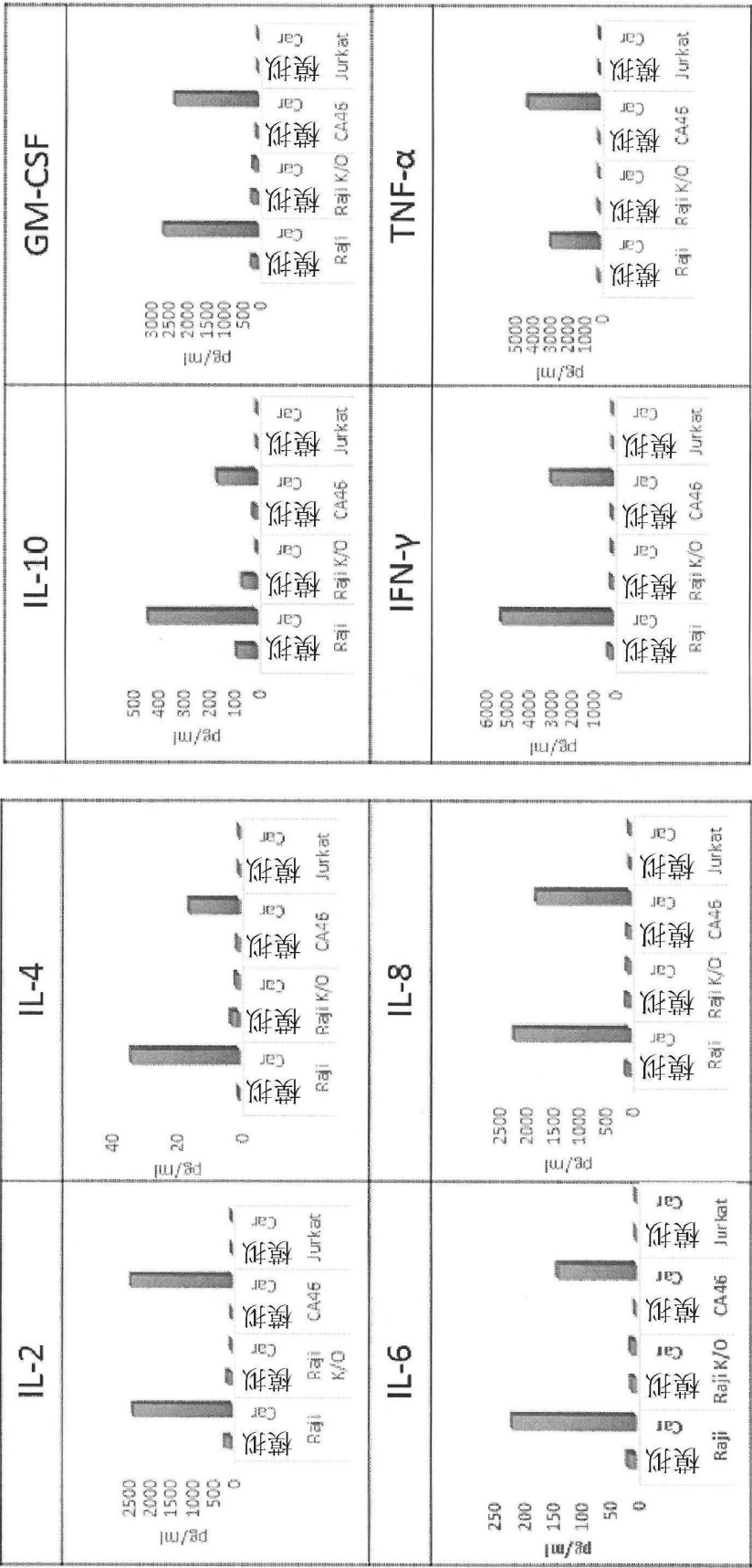


图10

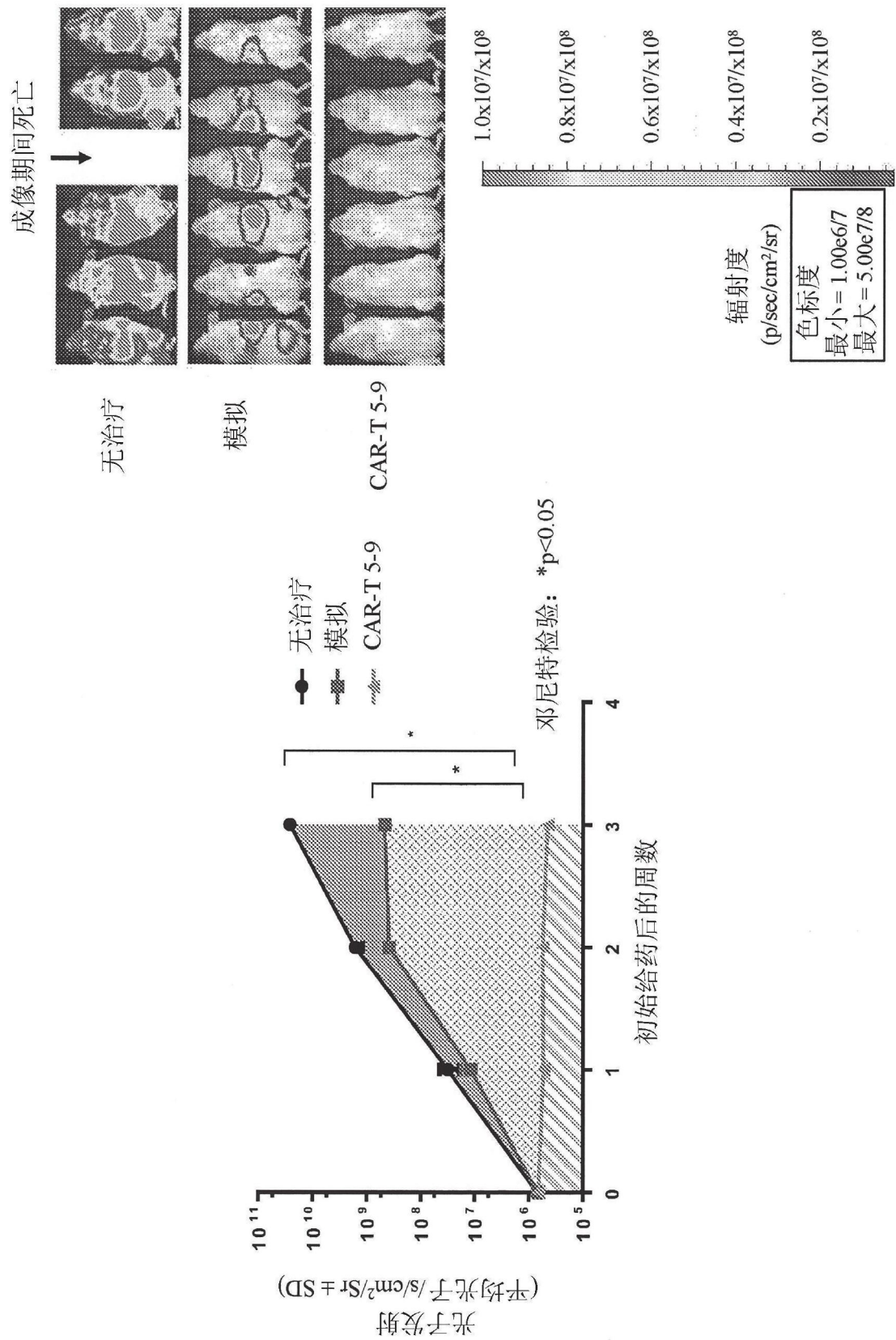


图11

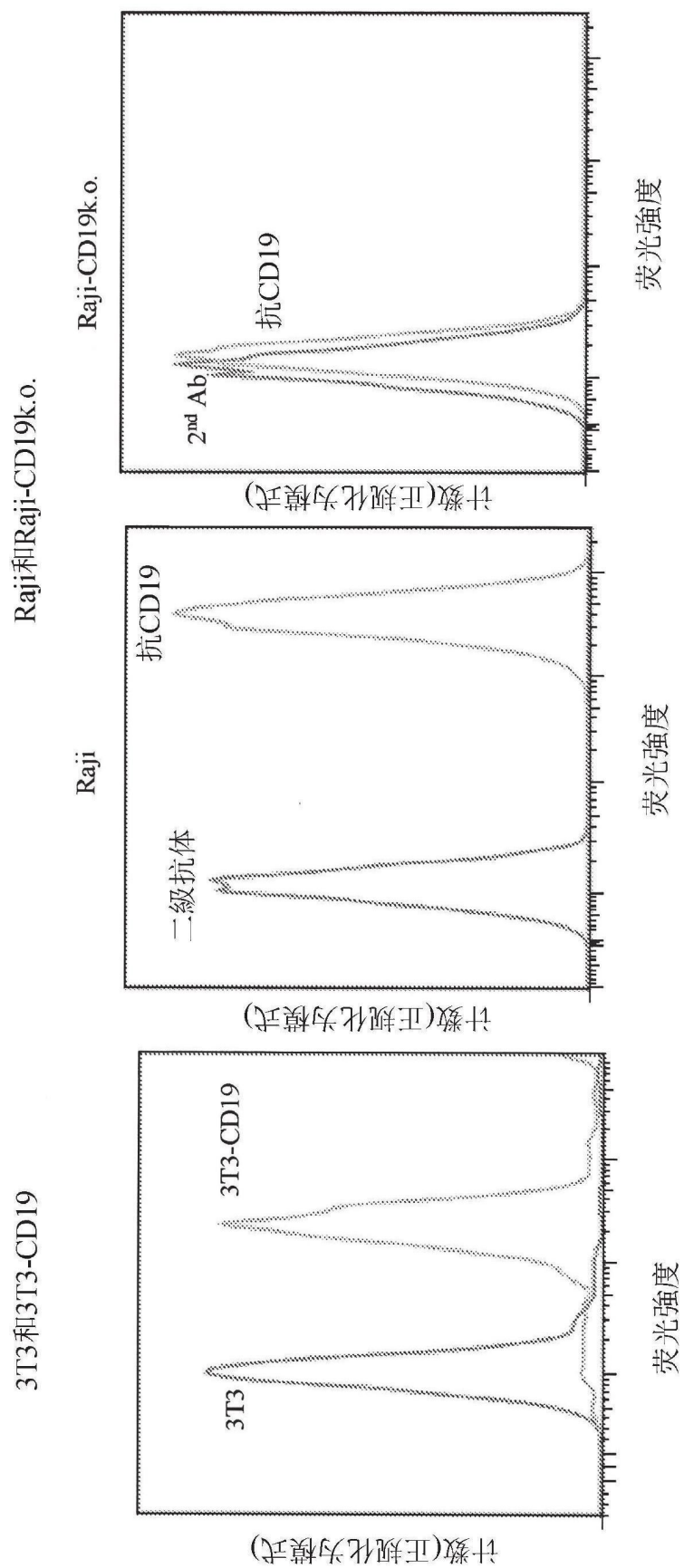


图12



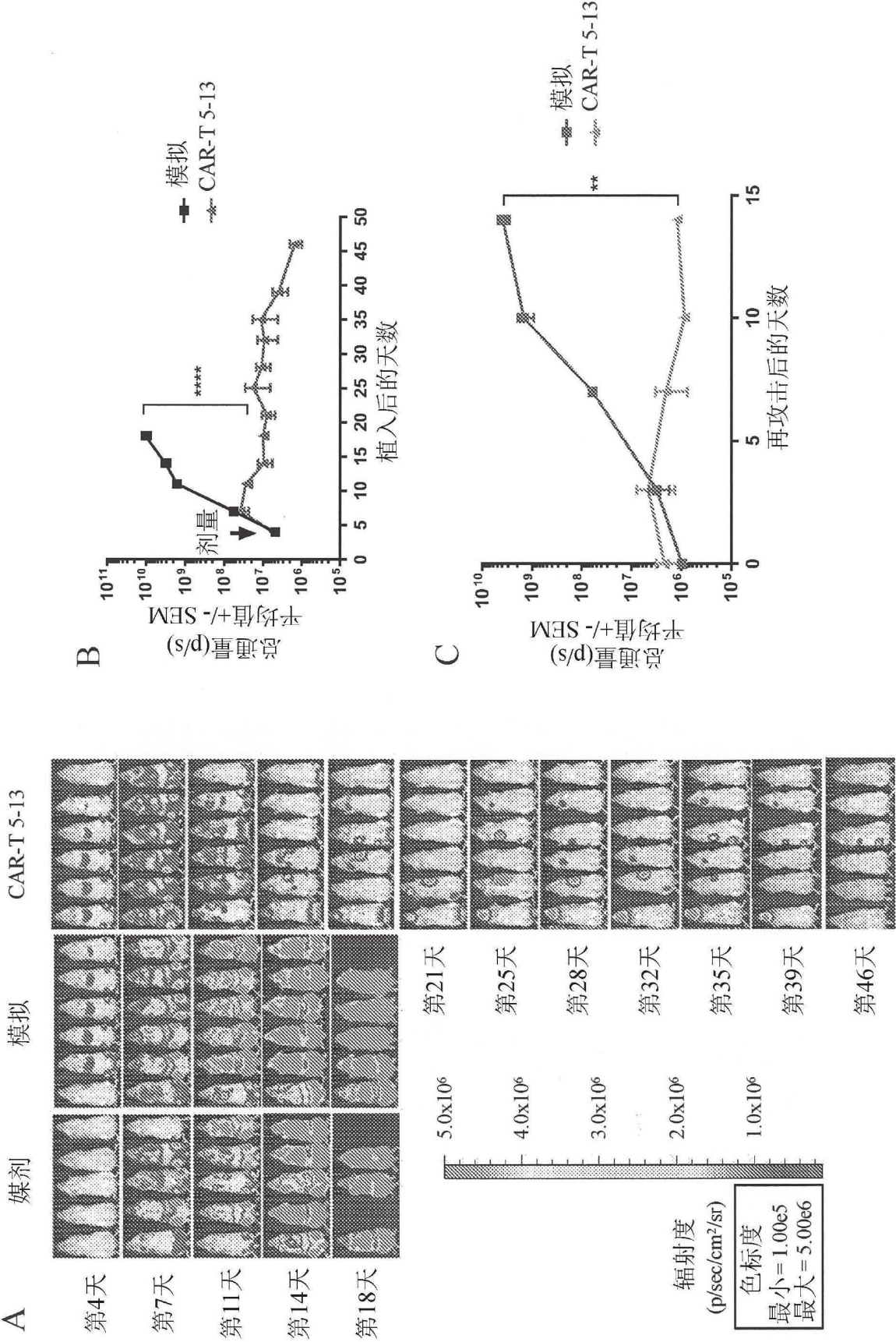


图13

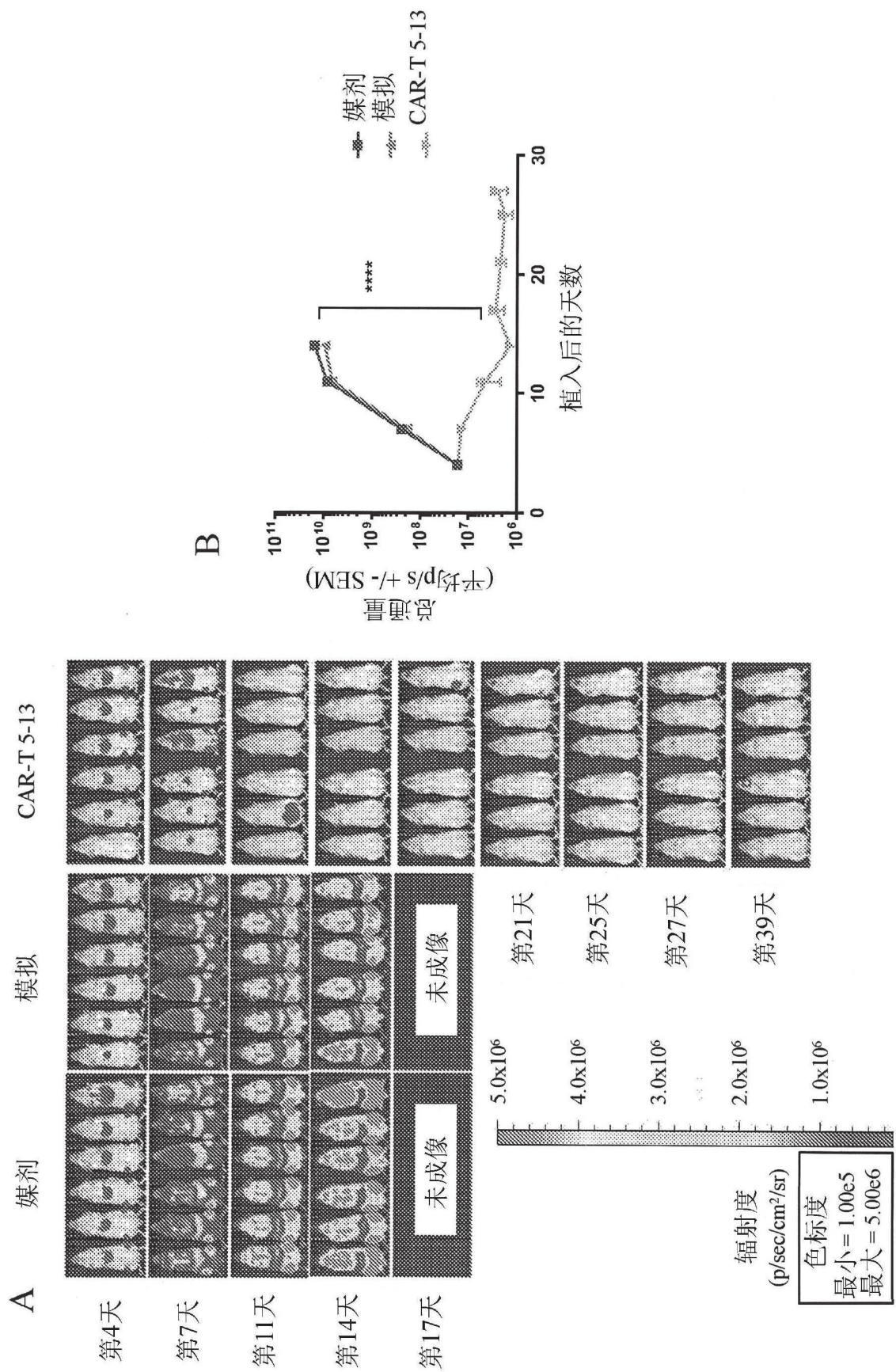


图14

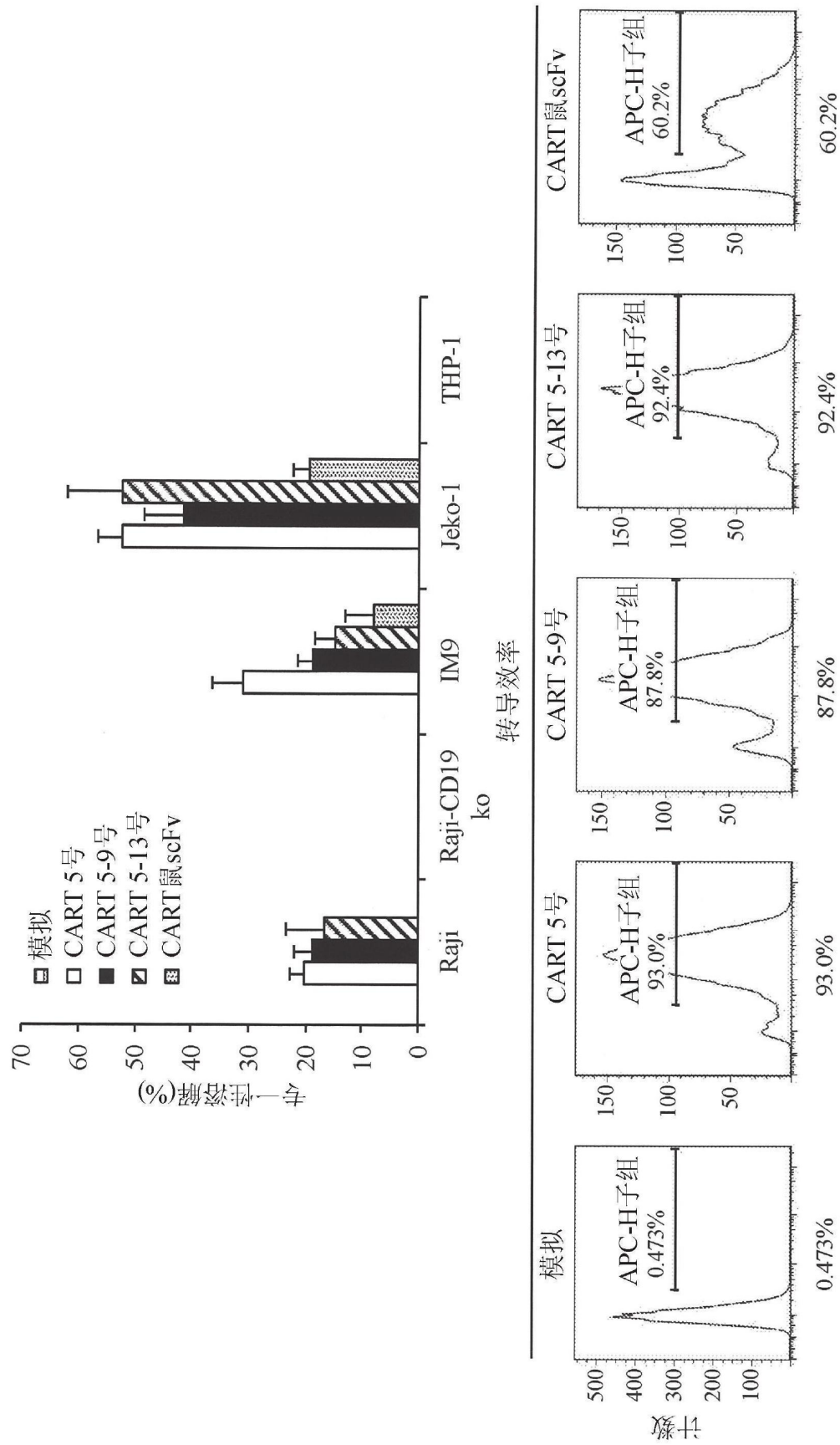


图15