



- (21) 申請案號：111126359 (22) 申請日：中華民國 104 (2015) 年 07 月 01 日
- (51) Int. Cl. : *C07K16/46 (2006.01)* *C07K16/28 (2006.01)*
C07K16/30 (2006.01) *A61K39/395 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01) *A61P35/02 (2006.01)*
- (30) 優先權：2014/07/01 美國 62/019,795
 2015/02/03 美國 62/111,470
 2015/03/09 美國 14/642,497
- (71) 申請人：美商安菲維那治療公司 (美國) AMPHIVENA THERAPEUTICS, INC. (US)
 美國
- (72) 發明人：艾萬格 克莉絲汀娜 ELLWANGER, KRISTINA (DE)；伊夫尼 路克 EVNIN, LUKE (US)；福斯 茱蒂斯 A FOX, JUDITH A. (US)；法克 艾薇卡 FUCEK, IVICA (DE)；古諾特 珍瑪麗 GUENOT, JEANMARIE (US)；納克穆斯 史戴芬 KNACKMUSS, STEFAN (DE)；康凱爾 羅利 KUNKEL, LORI (US)；利托 梅爾凡 LITTLE, MELVYN (GB)；莫肯欣 維拉 MOLKENTHIN, VERA (DE)；拉科維奇 艾利克 RAJKOVIC, ERICH (AT)；瑞斯奇 烏伊 REUSCH, UWE (DE)；沃爾克勞蒂亞 WALL, CLAUDIA (DE)；韋歇爾 麥可 WEICHEL, MICHAEL (DE)；祖科維斯基 尤金 ZHUKOVSKY, EUGENE (US)
- (74) 代理人：陳長文
- 申請實體審查：有 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：15 共 201 頁

(54) 名稱

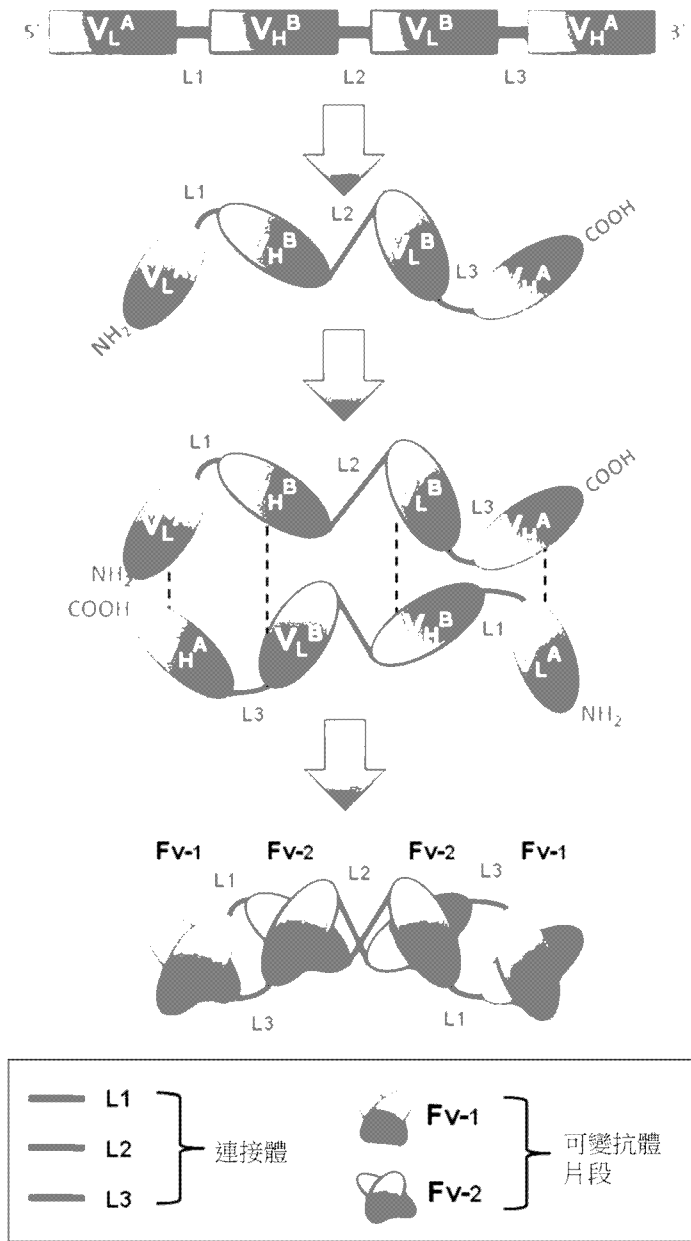
雙特異性 CD33 及 CD3 結合蛋白

(57) 摘要

本文闡述特異性結合至人類 CD33 之結合蛋白，且特別是特異性結合至人類 CD33 及人類 CD3 之雙特異性結合蛋白。本文亦闡述結合至 CD33 及 CD3 之雙特異性串聯雙價抗體(diabodies)，及其用於 CD33⁺癌症、疾病及病狀(例如急性骨髓性白血病(AML))之免疫療法之用途。

Described herein are binding proteins that specifically bind to human CD33, and in particular to bispecific binding proteins that specifically bind to human CD33 and human CD3. Also described herein are bispecific tandem diabodies that bind to CD33 and CD33, and their uses for immunotherapy of CD33⁺cancers, diseases and conditions such as acute myeloid leukemia (AML).

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

雙特異性CD33及CD3結合蛋白

【英文發明名稱】

BISPECIFIC CD33 AND CD3 BINDING PROTEINS

【中文】

本文闡述特異性結合至人類CD33之結合蛋白，且特別是特異性結合至人類CD33及人類CD3之雙特異性結合蛋白。本文亦闡述結合至CD33及CD3之雙特異性串聯雙價抗體(diabodies)，及其用於CD33⁺癌症、疾病及病狀(例如急性骨髓性白血病(AML))之免疫療法之用途。

【英文】

Described herein are binding proteins that specifically bind to human CD33, and in particular to bispecific binding proteins that specifically bind to human CD33 and human CD3. Also described herein are bispecific tandem diabodies that bind to CD33 and CD33, and their uses for immunotherapy of CD33⁺ cancers, diseases and conditions such as acute myeloid leukemia (AML).

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

雙特異性CD33及CD3結合蛋白

【英文發明名稱】

BISPECIFIC CD33 AND CD3 BINDING PROTEINS

【技術領域】

本揭示內容係關於特異性結合至人類CD33之結合蛋白，且特別是特異性結合至人類CD33及人類CD3之雙特異性結合蛋白，及其用於免疫療法之用途。

【先前技術】

急性骨髓性白血病(AML)為成人及兒童中之急性白血病。CD33係於AML中之大部分骨髓母細胞上表現。在一些報導中，CD33一般侷限於早期多譜系骨髓樣祖細胞且在正常多潛能造血幹細胞中不存在。

【發明內容】

本文提供特異性結合至人類CD33之結合蛋白及特異性結合至人類CD33及人類CD3之雙特異性結合蛋白。本文亦提供用於生成大量雙特異性CD33/CD3結合蛋白(例如串聯雙價抗體)之抗CD33可變結構域及抗CD3可變結構域。本文亦進一步提供結合至CD33及CD3之雙特異性串聯雙價抗體及其用於急性骨髓性白血病(AML)及氣體血液惡性病、病症或病狀之免疫療法之用途。

具體而言，提供顯示結合至人類以及食蟹猴CD33二者之結合蛋白。實例中證明，該等CD33/CD3串聯雙價抗體可重定向來自健康供

體之多株CD3⁺ T細胞以及來自AML患者之自體T細胞，以便以低E:T細胞比有效裂解CD33⁺ AML細胞。在此過程(其取決於CD33⁺標靶細胞及T細胞二者之存在)中，如藉由誘導CD25及CD69所顯示激活經重定向T細胞，並刺激其以增殖。顯示該等串聯雙價抗體之抗AML效應取決於所用抗體之濃度以及E:T細胞比。該串聯雙價抗體為四價的且具有兩個針對CD33之結合位點及兩個針對CD3之結合位點。本文所述CD33/CD3串聯雙價抗體之特定特徵在於，其由於向每一抗原(即CD33及CD3)賦予親合力之二價結合而有助於強力且高效之細胞凋亡。

總之，本文中所述之所提供CD33/CD3結合蛋白(特定而言串聯雙價抗體)誘導CD33⁺白血病細胞及原代AML細胞之活體外強力細胞溶解。呈串聯雙價抗體之抗體形式之雙特異性CD33/CD3結合蛋白之實例證明在細胞系、原代AML細胞中及在利用AML細胞系及利用患者來源之原代AML細胞之活體內模型中之活體內細胞溶解活性。此指示在嚴格AML PDX模型中尤其值得注意的高活體內活性。此外，呈串聯雙價抗體之抗體形式之雙特異性CD33/CD3結合蛋白之實例證明在來自出於AML之所有階段之患者(包括新診斷、復發性及難治性患者)之樣品中之離體細胞溶解活性。

此外，本文所述之該等CD33/CD3結合蛋白能夠達成CD33表現細胞在約4小時內顯著溶解。因此，CD33/CD3結合蛋白在細胞表面上之低CD33密度下展現高細胞毒性以及在低效應物:標靶(E:T)比下展示高細胞毒性。另外，本文所述之CD33/CD3結合蛋白不僅展現與人類蛋白質之強力CD33及CD3結合親和力，且亦顯示與各別食蟹猴蛋白質

之優良交叉反應性，例如其人類:石蟹猴 K_D 比介於5與0.2之間。此外，本文所述之CD33/CD3結合蛋白在不存在CD33⁺標靶細胞之情況下不顯示細胞介素釋放之任何顯著誘導，該顯著誘導為該等分子之安全特性之基本組成。此外，本文所述之CD33/CD3串聯雙價抗體屬半衰期在8 h至24 h之大概範圍內之分子類別，該範圍應允許方便給藥。

在一態樣中，本文提供特異性結合至人類CD33之表位之CD33結合蛋白。在一些實施例中，結合蛋白包含源自人類之重鏈可變結構域及輕鏈可變結構域。

在一些實施例中，CD33結合蛋白具有至少一個包含輕鏈可變結構域及重鏈可變結構域之結合位點，其中輕鏈可變結構域包含由選自由SEQ ID NO:21至27組成之群之序列組成之CDR1、由選自由SEQ ID NO:28至34組成之群之序列組成之CDR2及由SEQ ID NO:35至41組成之群之序列組成之CDR3。

在一些實施例中，CD33結合蛋白具有至少一個包含輕鏈可變結構域及重鏈可變結構域之結合位點，其中重鏈可變結構域包含由選自由SEQ ID NO:42至48組成之群之序列組成之CDR1、由選自由SEQ ID NO:49至55組成之群之序列組成之CDR2及由選自由SEQ ID NO:56至63組成之群之序列組成之CDR3。

在某些情形下，輕鏈可變結構域之CDR1、CDR2及CDR3選自由以下組成之群：SEQ ID NO:21、28及35；SEQ ID NO:22、29及36；SEQ ID NO:23、30及37；SEQ ID NO:24、31及38；SEQ ID NO:25、32及39；SEQ ID NO:26、33及40；及SEQ ID NO:27、34及41。

在某些情形下，重鏈可變結構域之CDR1、CDR2及CD3選自由以

下組成之群：SEQ ID NO:42、49及56；SEQ ID NO:43、50及57；SEQ ID NO:43、50及58；SEQ ID NO:43、50及59；SEQ ID NO:43、50及60；SEQ ID NO:44、51及61；SEQ ID NO:45、52及62；SEQ ID NO:46、53及63；SEQ ID NO:47、54及63；及SEQ ID NO:48、55及63。

在某些情形下，可變重鏈結構域及可變輕鏈結構域之人類CD33結合位點選自由以下組成之群：SEQ ID NO:1及SEQ ID NO:11；SEQ ID NO:2及SEQ ID NO:12；SEQ ID NO:3及SEQ ID NO:13；SEQ ID NO:4及SEQ ID NO:14；SEQ ID NO:5及SEQ ID NO:15；SEQ ID NO:6及SEQ ID NO:16；SEQ ID NO:7及SEQ ID NO:17；SEQ ID NO:8及SEQ ID NO:18；SEQ ID NO:9及SEQ ID NO:19；及SEQ ID NO:10及SEQ ID NO:20。

在一些實施例中，CD33表位位於人類CD33之₆₂DQEVQEETQ₇₀(SEQ ID NO:94)(SEQ ID NO:93之胺基酸殘基62至70)內。

在以上實施例中任一實施例中，CD33結合蛋白包含至少一個其他功能性結構域。在一些情形下，功能性結構域為結合至效應細胞之效應物結構域。在某些情形下，效應物結構域為包含形成針對人類CD3之抗原結合位點之至少一個抗體可變重鏈結構域及至少一個可變輕鏈結構域之CD3結合位點。

在某些情形下，CD3結合位點包含包括STYAMN (SEQ ID NO:72)之CDR1序列、RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:73)之CDR2序列及HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO:74)之CDR3序列之重鏈可變結構域。在其他情形下，CD3結合位點包含包括

RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:90)之CDR1序列、GTNKRAP (SEQ ID NO:91)之CDR2序列及ALWYSNL (SEQ ID NO:92)之CDR3序列之輕鏈可變結構域。

在某些情形下，CD3結合位點包含SEQ ID NO:64之重鏈可變結構域及SEQ ID NO:68之可變輕鏈結構域；SEQ ID NO:65之重鏈可變結構域及SEQ ID NO:69之可變輕鏈結構域；SEQ ID NO:66之重鏈可變結構域及SEQ ID NO:70之可變輕鏈結構域；或SEQ ID NO:67之重鏈可變結構域及SEQ ID NO:71之可變輕鏈結構域。

在以上實施例中任一實施例中，CD33結合蛋白為二聚體蛋白質。在以上實施例中任一實施例中，CD33結合蛋白為多功能性的。

在某些情形下，多功能性CD33結合蛋白對CD33及CD3具有雙特異性，其中結合特異性係由針對選自由以下組成之群之CD33及CD3之重鏈可變結構域及輕鏈可變結構域提供：SEQ ID NO:2、12、65及69；SEQ ID NO:3、13、65及69；SEQ ID NO:4、14、65及69；SEQ ID NO:5、15、65及69；SEQ ID NO:1、11、64及68；SEQ ID NO:2、12、64及68；SEQ ID NO:2、12、66及70；SEQ ID NO:4、14、66及70；SEQ ID NO:5、15、66及70；SEQ ID NO:3、13、64及68；SEQ ID NO:3、13、67及71；SEQ ID NO:4、14、64及68；SEQ ID NO:5、15、64及68；SEQ ID NO:7、17、64及68；SEQ ID NO:6、16、64及68；SEQ ID NO:6、16、67及71；SEQ ID NO:8、18、64及68；SEQ ID NO:9、19、64及68；SEQ ID NO:9、19、67及71；及SEQ ID NO:10、20、64及68。

在另一態樣中，本文提供對人類CD3及人類CD33具有特異性之

雙特異性抗原結合串聯雙價抗體。在一些實施例中，串聯雙價抗體包含第一多肽及第二多肽，每一多肽具有至少四個相繼地連接之可變鏈結構域，其中每一多肽包含對人類CD33具有特異性之可變重鏈結構域；對人類CD33具有特異性之可變輕鏈結構域；對人類CD3具有特異性之可變重鏈結構域，及對人類CD3具有特異性之可變輕鏈結構域，且其中在每一多肽中，四個可變鏈結構域係藉由肽連接體L1、L2及L3以以下順序相繼地連接：VL(CD3)-L1-VH(CD33)-L2-VL(CD33)-L3-VH(CD3)；VH(CD3)-L1-VL(CD33)-L2-VH(CD33)-L3-VL(CD3)；VL(CD33)-L1-VH(CD3)-L2-VL(CD3)-L3-VH(CD33)；或VH(CD33)-L1-VL(CD3)-L2-VH(CD3)-L3-VL(CD33)。

在一些實施例中，對人類CD33具有特異性之VL結構域包含由選自由SEQ ID NO:21至27組成之群之序列組成之CDR1、由選自由SEQ ID NO:28至34組成之群之序列組成之CDR2及由SEQ ID NO:35至41組成之群之序列組成之CDR3。

在一些實施例中，對人類CD33具有特異性之VH結構域包含由選自由SEQ ID NO:42至48組成之群之序列組成之CDR1、由選自由SEQ ID NO:49至55組成之群之序列組成之CDR2及由選自由SEQ ID NO:56至63組成之群之組成之CDR3。

在一些實施例中，對人類CD33具有特異性之VL結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由以下組成之群之序列：SEQ ID NO:21、28及35；SEQ ID NO:22、29及36；SEQ ID NO:23、30及37；SEQ ID NO:24、31及38；SEQ ID NO:25、32及39；SEQ ID NO:26、33及40；及SEQ ID NO:27、34及41。

在一些實施例中，對人類CD33具有特異性之VH結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由以下組成之群之序列：SEQ ID NO:42、49及56；SEQ ID NO:43、50及57；SEQ ID NO:43、50及58；SEQ ID NO:43、50及59；SEQ ID NO:43、50及60；SEQ ID NO:44、51及61；SEQ ID NO:45、52及62；SEQ ID NO:46、53及63；SEQ ID NO:47、54及63；及SEQ ID NO:48、55及63。

在一些實施例中，對CD33具有特異性之VL及VH結構域為選自由以下組成之群之序列：SEQ ID NO:1及SEQ ID NO:11；SEQ ID NO:2及SEQ ID NO:12；SEQ ID NO:3及SEQ ID NO:13；SEQ ID NO:4及SEQ ID NO:14；SEQ ID NO:5及SEQ ID NO:15；SEQ ID NO:6及SEQ ID NO:16；SEQ ID NO:7及SEQ ID NO:17；SEQ ID NO:8及SEQ ID NO:18；SEQ ID NO:9及SEQ ID NO:19；及SEQ ID NO:10及SEQ ID NO:20。

在一些實施例中，對人類CD3具有特異性之VH結構域包含STYAMN (SEQ ID NO:72)之CDR1序列、RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:73)之CDR2序列及HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO:74)或HGNFGNSYVSYFAY (SEQ ID NO:75)之CDR3序列。

在一些實施例中，對人類CD3具有特異性之VL結構域包含RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:90)之CDR1序列、GTNKRAP (SEQ ID NO:91)之CDR2序列及ALWYSNL (SEQ ID NO:92)之CDR3序列。

在一些實施例中，對CD3具有特異性之VL及VH結構域為選自由以下組成之群之序列：SEQ ID NO:64及SEQ ID NO:68；SEQ ID NO:65及SEQ ID NO:69；SEQ ID NO:66及SEQ ID NO:70；及SEQ ID

NO:67及SEQ ID NO:71。

在一些實施例中，每一多肽包含四個選自由以下組成之群之可變鏈結構域：SEQ ID NO:2、12、65及69；SEQ ID NO:3、13、65及69；SEQ ID NO:4、14、65及69；SEQ ID NO:5、15、65及69；SEQ ID NO:1、11、64及68；SEQ ID NO:2、12、64及68；SEQ ID NO:2、12、66及70；SEQ ID NO:4、14、66及70；SEQ ID NO:5、15、66及70；SEQ ID NO:3、13、64及68；SEQ ID NO:3、13、67及71；SEQ ID NO:4、14、64及68；SEQ ID NO:5、15、64及68；SEQ ID NO:7、17、64及68；SEQ ID NO:6、16、64及68；SEQ ID NO:6、16、67及71；SEQ ID NO:8、18、64及68；SEQ ID NO:9、19、64及68；SEQ ID NO:9、19、67及71；及SEQ ID NO:10、20、64及68。

在一些實施例中，連接體L1、L2及L3由約12個或更少胺基酸殘基組成。在某些情形下，連接體L1、L2及L3各自獨立地為GGSGGS (SEQ ID NO:95)、GGSG (SEQ ID NO:96)或GGSGG (SEQ ID NO:97)。在其他情形下，連接體L1及L3為GGSGGS (SEQ ID NO:95)且連接體L2為GGSG (SEQ ID NO:96)或GGSGG (SEQ ID NO:97)。

在一些實施例中，雙特異性串聯雙價抗體具有選自由SEQ ID NO:98至121組成之群之序列。在其他實施例中，雙特異性串聯雙價抗體為串聯雙價抗體01 (SEQ ID NO:98)、02 (SEQ ID NO:99)、03 (SEQ ID NO:100)、04 (SEQ ID NO:101)、05 (SEQ ID NO:102)、06 (SEQ ID NO:103)、07 (SEQ ID NO:104)、08 (SEQ ID NO:105)、09 (SEQ ID NO:106)、10 (SEQ ID NO:107)、11 (SEQ ID NO:108)、12 (SEQ ID NO:109)、13 (SEQ ID NO:110)、14 (SEQ ID NO:111)、15

(SEQ ID NO:112)、16 (SEQ ID NO:113)、17 (SEQ ID NO:114)、18 (SEQ ID NO:115)、19 (SEQ ID NO:116)、20 (SEQ ID NO:117)、21 (SEQ ID NO:118)、22 (SEQ ID NO:119)、23 (SEQ ID NO:120)或24 (SEQ ID NO:121)。

在一些實施例中，雙特異性抗原結合串聯雙價抗體對選自HL-60、KG-1及U-937之CD33⁺腫瘤細胞上之CD33具有10 nM或更小之結合K_D。

在一些實施例中，雙特異性之抗原結合串聯雙價抗體特異性結合至人類CD33之表位，該表位位於人類CD33之₆₂DQEVQEETQ₇₀ (SEQ ID NO:94) (SEQ ID NO:93之胺基酸殘基62至70)內。

在另一態樣中，本文提供編碼以上實施例中任一實施例之CD33結合蛋白或雙特異性串聯雙價抗體之多核苷酸。在另一態樣中，本文提供包含所述多核苷酸之載體。在另一態樣中，本文提供利用所述載體轉化之宿主細胞。

在又一態樣中，本文提供包含以上實施例中任一實施例之CD33結合蛋白或雙特異性串聯雙價抗體及醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物。

在又一態樣中，本文提供產生以上實施例中任一實施例之CD33結合蛋白或雙特異性串聯雙價抗體之方法，其包含將編碼以上實施例中任一實施例之CD33結合蛋白或雙特異性串聯雙價抗體之多核苷酸或包含所述多核苷酸之載體引入至宿主細胞中，在表現CD33結合蛋白或雙特異性串聯雙價抗體之條件下培養宿主細胞，並純化所表現之CD33結合蛋白或雙特異性串聯雙價抗體。

本文亦提供用於治療CD33⁺癌症之方法，其包含將以上實施例中任一實施例之雙特異性串聯雙價抗體投與給患有CD33⁺癌症之個體。在一些實施例中，CD33⁺癌症係急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、前體B細胞淋巴母細胞性白血病、骨髓樣肉瘤、多發性骨髓瘤、急性淋巴瘤、急性淋巴母細胞淋巴瘤或慢性骨髓單核球性白血病(CMML)。在一些實施例中，CD33⁺癌症為急性骨髓樣白血病(AML)。在一些實施例中，CD33⁺癌症為多發性骨髓瘤。在一些實施例中，CD33⁺癌症為急性淋巴母細胞性白血病(ALL)。

本文亦提供用於治療急性骨髓性白血病(AML)之方法，其包含將以上實施例中任一實施例之雙特異性串聯雙價抗體投與給患有AML之個體。在一些實施例中，AML係具有復發性遺傳異常之AML、具有骨髓發育不良相關變化之AML、治療相關之骨髓樣腫瘤、骨髓樣肉瘤、與唐氏症候群(Down syndrome)相關之骨髓增生、母細胞性漿細胞樣樹突細胞腫瘤或未另外分類之AML。在一些實施例中，AML係AML-M0、AML-M1、AML-M2、AML-M3、AML-M4、AML-M5、AML-M6或AML-M7。在其他實施例中，AML係新診斷的、復發的或難治的。

本文亦提供用於治療之方法骨髓發育不良症候群(MDS)，其包含將以上實施例中任一實施例之雙特異性串聯雙價抗體投與給患有MDS之個體。

本文亦提供用於治療骨髓增生性疾病(MPD)之方法，其包含將以上實施例中任一實施例之雙特異性串聯雙價抗體投與給患有MPD之個體。

本文亦提供用於治療慢性骨髓單核球性白血病(CMML)之方法，其包含將以上實施例中任一實施例之雙特異性串聯雙價抗體投與給患有CMML之個體。

本文亦提供用於治療由骨髓衍生抑制細胞(MDSC)導致之免疫抑制之方法，其包含將以上實施例中任一實施例中之雙特異性串聯雙價抗體投與給患有免疫抑制之個體。

在以上治療方法中，在某些情形下，該等方法進一步包含投與阿糖胞苷(cytarabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、地西他濱(decitabine)、蔥環(例如，道諾黴素(daunorubicin)、伊達比星(idarubicin)、多柔比星(doxorubicin)及諸如此類)、安吡啶(amsacrine)、氟達拉濱(fludarabine)、氯法拉濱(clofarabine)、克拉屈濱(cladribine)、奈拉濱(nelarabine)、胺甲喋呤(methotrexate)、硼替佐米(bortezomib)、卡非佐米(carfilzomib)、美法侖(melphalan)、依魯替尼(ibrutinib)、沙利度胺(thalidomide)、雷利度胺(lenalidomide)、泊馬度胺(pomalidomide)、阿普斯特(apremilast)、表鬼臼毒素(例如，依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(teniposide)及諸如此類)、蔥醌(例如，米托蔥醌(mitoxantrone)、匹杉瓊(pixantrone)、洛索蔥醌(losoxantrone)、吡羅蔥醌(piroxantrone)、阿美蔥醌(ametrantrone)及諸如此類)、抗CD20劑(例如，利妥昔單抗、奧瑞珠單抗(ocrelizumab)、奧法木單抗(ofatumumab)及諸如此類)或其組合。

以引用方式併入

本說明書中所提及之所有公開申請案、專利及專利申請案均以引用方式併入本文中，其併入程度如同明確地及單獨地指出將每一個

別公開申請案、專利或專利申請案以引用方式併入。

【圖式簡單說明】

本發明之新穎特徵詳細闡釋於隨附申請專利範圍中。參照闡述其中利用本發明原理之說明性實施例之下文詳細說明及附圖將會更好地瞭解本發明之特徵及優點，在附圖中：

圖1 CD3/CD33串聯雙價抗體(TandAb®)之基因組織及結構域順序之示意性代表圖。串聯雙價抗體係表現為由四個經由短肽連接體L1、L2及L3連接之可變結構域組成之單一多肽。在表現後，兩個單體多肽非共價頭尾相接以形成功能性同二聚體串聯雙價抗體分子。L1、L2、L3：連接體；V_H：重鏈可變結構域；V_L：輕鏈可變結構域。

圖2 CD3接合之串聯雙價抗體及其作用模式。串聯雙價抗體係可經由結合至CD3來接合細胞毒性T細胞之四價雙特異性蛋白質。串聯雙價抗體利用四個結合結構域中之兩者結合至CD3⁺腫瘤細胞並利用另兩個結合結構域結合至CD3。此T細胞/標靶細胞結合(交聯)事件促進T細胞之激活並經由ADCC促進腫瘤細胞之後續破壞。

圖3 CD33/CD3串聯雙價抗體之結構域順序變體。編碼串聯雙價抗體之基因序列內之可變重鏈(VH)及可變輕鏈(VL)之結構域順序之變化允許產生位於分子內部或外部上之具有CD33及CD3特異性之抗體。指示結構域特異性、信號序列(ss)及連接體(L1, L2, L3)及親和標籤(His)之位置以及5'-及3'-末端。

圖4 經正富集相對於經負選擇之健康供體T細胞之比較。將KG-1a細胞與10 pM (大約1 ng/mL)及25 pM (大約2.5 ng/mL)之10種所選串

聯雙價抗體中之一者及經負選擇健康供體T細胞或經正選擇健康供體T細胞以1:1或3:1之E:T細胞比一起培育，如所指示。48小時後，測定細胞計數並利用DAPI染色評價細胞毒性。結果係顯示為得自3個在一式兩份孔中實施之獨立實驗之死細胞百分數(各上圖)及特異性細胞毒性百分數(各下圖)之平均值 \pm SEM。

圖5 分析策略。散射及直方圖自一個健康供體T細胞等分試樣及1種代表性AML細胞系(HL-60)及原代AML試樣(AMP002)繪製，每一者圖解說明致力測定串聯雙價抗體誘導之細胞毒性之策略。FSC，前向散射；SSC，側向散射。

圖6 CD33+ AML細胞系中之篩選細胞毒性分析。將親代HL-60 (A、B)及KG-1a (C、D)細胞與10 pM (大約1 ng/mL)及25 pM (大約2.5 ng/mL)之22種CD33/CD3串聯雙價抗體分子中之一者或非結合對照串聯雙價抗體(00)及健康供體T細胞以1:1 (A、C)或5:1 (B、D)之E:T細胞比一起培育，如所指示。48小時後，測定細胞計數並利用DAPI染色評價細胞毒性以量化藥物特異性細胞毒性。結果係顯示為得自3個在一式兩份孔中實施之獨立實驗之DAPI⁺細胞百分數之平均值 \pm SEM。當將細胞毒性表示為特異性細胞毒性百分數時，獲得定性上類似之結果。

圖7 選擇原代AML試樣用於研究。自全部原代人類AML試樣獲得冷凍等分試樣用於分析。藉由流式細胞術基於CD45/側向散佈性質測定解凍時之AML母細胞百分數。經由流式細胞術使用DAPI作為活/死細胞標誌物在解凍時以及48小時後於含有細胞介素之液體培養物(不添加串聯雙價抗體分子或健康供體T細胞)中測定試樣之活力。針

對所有試樣繪示在解凍後以及48小時後活力之結果，該等試樣具有>58% AML母細胞。正方形：顯示於含有細胞介素之液體培養物中在解凍時>50%以及在48小時後>50%之活力之原代AML試樣，其包括在最終分析中。

圖8 原代AML試樣中之串聯雙價抗體誘導之細胞毒性。將原代AML試樣與2.5 pM (大約250 pg/mL)、10 pM (大約1 ng/mL)及25 pM (大約2.5 ng/mL)之9種串聯雙價抗體分子中之一者在不添加健康供體T細胞(A)之情況下或在存在健康供體T細胞之情況下以1:3 (B)或1:1 (C)之E:T細胞比一起培育，如所指示。48小時後，測定細胞計數並利用DAPI染色評價細胞毒性以量化藥物特異性細胞毒性。結果係顯示為得自在一式兩份孔中實施之實驗之特異性細胞毒性百分數之平均值±SEM。

圖9A係人類CD33之細胞外結構域之序列(aa 18至259) (SEQ ID NO: 93)；

圖9B係串聯雙價抗體1之全序列(SEQ ID NO:98)；

圖9C係串聯雙價抗體2之全序列(SEQ ID NO:99)；

圖9D係串聯雙價抗體3之全序列(SEQ ID NO:100)；

圖9E係串聯雙價抗體4之全序列(SEQ ID NO:101)；

圖9F係串聯雙價抗體5之全序列(SEQ ID NO:102)；

圖9G係串聯雙價抗體6之全序列(SEQ ID NO:103)；

圖9H係串聯雙價抗體7之全序列(SEQ ID NO:104)；

圖9I係串聯雙價抗體8之全序列(SEQ ID NO:105)；

圖9J係串聯雙價抗體9之全序列(SEQ ID NO:106)；

圖9K係串聯雙價抗體10之全序列(SEQ ID NO:107)；

圖9L係串聯雙價抗體11之全序列(SEQ ID NO:108)；

圖9M係串聯雙價抗體12之全序列(SEQ ID NO:109)；

圖9N係串聯雙價抗體13之全序列(SEQ ID NO:110)；

圖9O係串聯雙價抗體14之全序列(SEQ ID NO:111)；

圖9P係串聯雙價抗體15之全序列(SEQ ID NO:112)；

圖9Q係串聯雙價抗體16之全序列(SEQ ID NO:113)；

圖9R係串聯雙價抗體17之全序列(SEQ ID NO:114)；

圖9S係串聯雙價抗體18之全序列(SEQ ID NO:115)；

圖9T係串聯雙價抗體19之全序列(SEQ ID NO:116)；

圖9U係串聯雙價抗體20之全序列(SEQ ID NO:117)；

圖9V係串聯雙價抗體21之全序列(SEQ ID NO:118)；

圖9W係串聯雙價抗體22之全序列(SEQ ID NO:119)；

圖9X係串聯雙價抗體23之全序列(SEQ ID NO:120)；且

圖9Y係串聯雙價抗體24之全序列(SEQ ID NO:121)。加下劃線之序列代表連接體L1、L2及L3。

圖10 串聯雙價抗體16及12對NOD/scid小鼠中之HL-60細胞之生長之影響。在第0天藉由皮下注射 4×10^6 個HL-60細胞之懸浮液異種移植免疫缺陷型NOD/scid小鼠之8個實驗群組。在注射之前，將HL-60細胞與來自健康供體之 3×10^6 個純化T細胞混合。移植有腫瘤細胞及T細胞之實驗群組之所有動物均接受在第0天、第1天、第2天、第3天及第4天媒劑(對照)或串聯雙價抗體16或12以如所指示之3個劑量值(0.1 μg 、1 μg 及10 μg)之靜脈內濃注。一個不存在效應細胞及媒劑治

療之群組充當額外陰性對照。

圖11 串聯雙價抗體16於AML異種移植物模型中之抗腫瘤活性。對NOD/scid小鼠進行亞致死輻照(2 Gy)並皮下接種 4×10^6 個HL-60細胞。在第9天，動物接受抗去唾液酸GM1兔Ab之單一濃注注射。當在第10天腫瘤達到介於 50 mm^3 至 150 mm^3 (平均值 $73 \pm 11 \text{ mm}^3$)間之體積時，將動物分派成3個治療群組。向群組2及3 ($n = 8$)腹膜內注射 1.5×10^7 個經擴增並激活之人類T細胞。自第13天至第21天(qdxd9)，動物接受串聯雙價抗體16 (群組3)或接受媒劑至側面尾靜脈中(群組1及群組2)。

圖12 在利用 $5 \mu\text{g}$ (0.25 mg/kg)或 $50 \mu\text{g}$ (2.5 mg/kg) CD33/CD3串聯雙價抗體12及16治療後第38天NSG小鼠之骨髓(BM)及脾中之人類AML母細胞之相對量(A)及絕對計數(B)。

圖13 CD33/CD3串聯雙價抗體16介導之標靶細胞溶解之動力學。將 1×10^4 個經鈣黃綠素標記之HL-60標靶細胞與作為效應細胞之原代人類T細胞以25:1之E:T比在串聯雙價抗體16之連續稀釋液之存在下或在不存在抗體(w/o)之情況下一起培育30 min、1 h、2 h、3 h、4 h或5 h。在每一時間點，使用所溶解標靶細胞釋放之螢光鈣黃綠素來計算特異性溶解。繪製三個複製之平均值及SD。

圖14 CD33/CD3串聯雙價抗體16之 EC_{50} 及特異性溶解值之動力學。在鈣黃綠素釋放細胞毒性分析中於所示培育時間處藉由非線性回歸/S形劑量-反應測定 EC_{50} 值(黑色實心圓)及串聯雙價抗體16介導之標靶細胞溶解(空心正方形)並進行繪製。

圖15 新診斷、復發性及難治性AML患者樣品中之細胞毒性活

性。

【實施方式】

本申請案主張2014年7月1日申請之美國臨時申請案第62/019,795號；2015年2月3日申請之美國臨時申請案第62/111,470號；及2015年3月9日申請之美國非臨時申請案第14/642,497號之權益，其每一者均以引用方式全文併入本文中。

根據第一態樣，本文闡述對至少CD33、較佳人類CD33具有特異性之結合蛋白。在一些實施例中，CD33結合蛋白對人類及食蟹猴CD33具有特異性，即具有交叉反應性。在一些實施例中，該等交叉反應性結合蛋白以類似親和力結合至人類及石蟹猴CD33。

CD33係表現與骨髓細胞(例如急性骨髓性白血病(AML)之母細胞)上。對於對CD33 (例如人類CD33)具有特異性之抗體結構域之分離，可篩選抗體文庫。例如，可藉由採用(例如)含有人類CD33之細胞外結構域之胺基酸1至243 (圖9A，SEQ ID NO:93)之重組CD33-Fc融合蛋白來篩選IgM噬菌體展示文庫。

在一些實施例中，CD33結合蛋白具有至少一個包含輕鏈可變結構域及重鏈可變結構域之CD33結合位點。該輕鏈可變結構域包含輕鏈CDR1、CDR2及CDR3且該重鏈可變結構域包含重鏈CDR1、CDR2及CDR3。在一些實施例中，該等輕鏈CDR (CDR1、CDR2及CDR3)選自表1中所顯示之人類CDR序列(SEQ ID NO:21至41)。在某些情形下，輕鏈CDR1選自SEQ ID NO:21至27。在某些情形下，輕鏈CDR2選自SEQ ID NO:28至34。在某些情形下，輕鏈CDR3選自SEQ ID NO:35至41。

在一些實施例中，該等重鏈CDR（重鏈CDR1、CDR2及CDR3）選自表2中所顯示之人類CDR序列（SEQ ID NO:42至63）。在某些情形下，重鏈CDR1選自SEQ ID NO:42至48。在某些情形下，重鏈CDR2選自SEQ ID NO:49至55。在某些情形下，重鏈CDR3選自SEQ ID NO:56至63。

在一些實施例中，選擇不存在各別可變結構域之周圍框架序列之輕鏈及重鏈CDR，該等CDR包括來自其他免疫球蛋白或共有框架區之框架序列，視情況進一步突變及/或經其他適宜框架序列置換。因此，在一些實施例中，本文提供包含輕鏈可變結構域之CD33結合蛋白，其中輕鏈CDR1係SEQ ID NO:21；輕鏈CDR2係SEQ ID NO:28且輕鏈CDR3係SEQ ID NO:35。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含輕鏈可變結構域，其中輕鏈CDR1係SEQ ID NO:22；輕鏈CDR2係SEQ ID NO:29且輕鏈CDR3係SEQ ID NO:36。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含輕鏈可變結構域，其中輕鏈CDR1係SEQ ID NO:23；輕鏈CDR2係SEQ ID NO:30且輕鏈CDR3係SEQ ID NO:37。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含輕鏈可變結構域，其中輕鏈CDR1係SEQ ID NO:24；輕鏈CDR2係SEQ ID NO:31且輕鏈CDR3係SEQ ID NO:38。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含輕鏈可變結構域，其中輕鏈CDR1係SEQ ID NO:25；輕鏈CDR2係SEQ ID NO:32且輕鏈CDR3係SEQ ID NO:39。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含輕鏈可變結構域，其中輕鏈CDR1係SEQ ID NO:26；輕鏈CDR2係SEQ ID NO:33且輕鏈CDR3係SEQ ID NO:40。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含輕鏈可變結構域，其中輕鏈CDR1係SEQ ID NO:27；輕鏈CDR2係SEQ ID NO:34

且輕鏈CDR3係SEQ ID NO:41。

在一些實施例中，本文亦提供包含重鏈可變結構域之CD33結合蛋白，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:42；重鏈CDR2係SEQ ID NO:49且重鏈CDR3係SEQ ID NO:56。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:43；重鏈CDR2係SEQ ID NO:50且重鏈CDR3係SEQ ID NO:57。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:43；重鏈CDR2係SEQ ID NO:50且重鏈CDR3係SEQ ID NO:58。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:43；重鏈CDR2係SEQ ID NO:50且重鏈CDR3係SEQ ID NO:59。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:43；重鏈CDR2係SEQ ID NO:50且重鏈CDR3係SEQ ID NO:60。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:44；重鏈CDR2係SEQ ID NO:51且重鏈CDR3係SEQ ID NO:61。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:45；重鏈CDR2係SEQ ID NO:52且重鏈CDR3係SEQ ID NO:62。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:46；重鏈CDR2係SEQ ID NO:53且重鏈CDR3係SEQ ID NO:63。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:47；重鏈CDR2係SEQ ID NO:54且重鏈CDR3係SEQ ID NO:63。在一些實施例中，CD33結合蛋白包含重鏈可變結構域，其中重鏈CDR1係SEQ ID NO:48；重鏈CDR2係SEQ ID NO:55且重鏈CDR3係SEQ ID NO:63。

在其他實施例中，CD33結合蛋白包含選自表3中所顯示之胺基酸序列SEQ ID NO.:1至10之可變輕鏈結構域。在其他實施例中，CD33結合蛋白包含選自表4中所顯示之胺基酸序列SEQ ID NO:11至20之可變重鏈結構域。在再其他實施例中，CD33結合蛋白包含選自表3中所顯示之胺基酸序列SEQ ID NO.:1至10之可變輕鏈結構域及選自表4中所顯示之胺基酸序列SEQ ID NO:11至20之可變重鏈結構域。

術語「結合蛋白」係指具有抗原結合性質之免疫球蛋白衍生物，即含有抗原結合位點之免疫球蛋白多肽或其片段。該結合蛋白包含抗體或其片段之可變結構域。每一抗原結合結構域係藉由結合至相同表位之抗體(即免疫球蛋白)可變重鏈結構域(VH)及抗體可變輕鏈結構域(VL)形成，而可變重鏈結構域(VH)包含三個重鏈互補決定區(CDR)：CDR1、CDR2及CDR3；且可變輕鏈結構域(VL)包含三個輕鏈互補決定區(CDR)：CDR1、CDR2及CDR3。在一些情形下，根據本文中之一些實施例之結合蛋白缺乏免疫球蛋白恆定結構域。在一些情形下，形成抗原結合位點之可變輕鏈及重鏈結構域彼此藉由(例如)肽連接體共價連接，或在其他情形下，可變輕鏈及重鏈結構域彼此非共價聯結以形成抗原結合位點。術語「結合蛋白」亦係指抗體片段或抗體衍生物，包括(例如) Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、單鏈Fv、串聯單鏈Fv ((scFv)₂)、雙特異性T細胞銜接器(BiTE®)、雙親和力再靶向抗體(DART™)、雙價抗體及串聯雙價抗體(TandAb®)。此外，在某些情形下，結合蛋白係多價的，即具有兩個、三個或更多個針對CD33之結合位點。

表1：抗CD33可變輕鏈CDR1、CDR2及CDR3之胺基酸序列

CDR	序列標識符	輕鏈CDR序列
CDR1	SEQ ID NO:21	GGNNIGSTTVH
	SEQ ID NO:22	SGSRSNIGSNTVN
	SEQ ID NO:23	SGSSSNIGSNTVN
	SEQ ID NO:24	TGSSSNIGAGYDVH
	SEQ ID NO:25	SGSSSNIGSNIVN
	SEQ ID NO:26	SGSSSNIGSNTVK
	SEQ ID NO:27	SGSSSNIGDNVVN
CDR2	SEQ ID NO:28	DDNERPS
	SEQ ID NO:29	GNNQRPS
	SEQ ID NO:30	SDNQRPS
	SEQ ID NO:31	GNSNRPS
	SEQ ID NO:32	SNNQRPS
	SEQ ID NO:33	SNNQRSS
	SEQ ID NO:34	STNKRPS
CDR3	SEQ ID NO:35	QVWDSGSDH
	SEQ ID NO:36	ATWDDSLIG
	SEQ ID NO:37	ATWDDSLNG
	SEQ ID NO:38	QSYDSSLSD
	SEQ ID NO:39	AAWDDSLKG
	SEQ ID NO:40	AAWDDSLNG
	SEQ ID NO:41	AAWDDSLSA

表2：抗CD33可變重鏈CDR1、CDR2及CDR3之胺基酸序列

CDR	序列標識符	重鏈CDR序列
CDR1	SEQ ID NO:42	SNYGIH
	SEQ ID NO:43	TSYDIN
	SEQ ID NO:44	TSYYMH
	SEQ ID NO:45	TSYWIG
	SEQ ID NO:46	SSY AIS
	SEQ ID NO:47	SSY GIS
	SEQ ID NO:48	DSY AIS
CDR2	SEQ ID NO:49	LISYDGNKKFYADSVKG
	SEQ ID NO:50	WMNPNSGNTGFAQKFQG
	SEQ ID NO:51	GIINPSGGSTSYAQKFQG
	SEQ ID NO:52	IIPGDS DTRYSPSFQG
	SEQ ID NO:53	GIYPIFGSANYAQKFQG
	SEQ ID NO:54	GIPIFGSAHYAQKFQG
	SEQ ID NO:55	GIPIFGSAHYSQKFQG
CDR3	SEQ ID NO:56	DRLESAAFDY
	SEQ ID NO:57	DRANTDFS YGMDV
	SEQ ID NO:58	DRAVTDY YYGMDV
	SEQ ID NO:59	DRANTDYSFGMDV
	SEQ ID NO:60	DRANTDYS LGMDV
	SEQ ID NO:61	DVVPAAIDY YGMDV
	SEQ ID NO:62	HKRGSDAFDI
	SEQ ID NO:63	EYYYDSSEWAFDI

表 3：所有抗 CD33 可變輕鏈結構域之胺基酸序列(可變輕鏈 CDR1、CDR2及 CDR3之胺基酸序列係呈粗體且加下劃線的)

抗 CD33 純系	序列標識符	可變輕鏈(VL)結構域序列
01	SEQ ID NO:1	SYELTQPPSVSVAPGQTAMITC <u>GGNNIGSTTVHWY</u> QKPGQAPVLVVY <u>DDNERPS</u> GIPERFSGSNSGSTA TLTINRVEAGDEADYYC <u>QVWDSGSDHVVFGGGT</u> KLTVL
02	SEQ ID NO:2	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>SGSRNIGSNTVNW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>GNNQRPS</u> GVPDRFSGSKSGSS ASLAISGLQSEDEADYYC <u>ATWDDSLIGWVFGGGT</u> KLTVL
03	SEQ ID NO:3	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>SGSRNIGSNTVNW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>GNNQRPS</u> GVPDRFSGSKSGTS ASLAISGLQSEDEADYYC <u>ATWDDSLIGWVFGGGT</u> KLTVL
04	SEQ ID NO:4	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>SGSRNIGSNTVNW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>GNNQRPS</u> GVPDRFSGSKSGTS ASLAISGLQSEDEADYYC <u>ATWDDSLIGWVFGGGT</u> KLTVL
05	SEQ ID NO:5	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>SGSRNIGSNTVNW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>GNNQRPS</u> GVPDRFSGSKSGTS ASLAISGLQSEDEADYYC <u>ATWDDSLIGWVFGGGT</u> KLTVL
06	SEQ ID NO:6	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS <u>SGSSNIGSNTVNW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>SDNQRPS</u> GVPDRFSGSKSGSSA SLAISGLQSDDEADYYC <u>ATWDDSLNGAVFGGGTK</u> LTVL
07	SEQ ID NO:7	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTIS <u>CTGSSSNIGAGYDV</u> <u>HWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS</u> GVPDRFSGSKSG

		TSASLAITGLQAEDEADYYC <u>QSYDSSLSD</u> VVFGGG TKLTVL
08	SEQ ID NO:8	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCS <u>SGSSSNIGSNIVNW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>SNNQRPS</u> GVPDRFSGSKSGTSA SLAISGLQSEDEADYYCA <u>AWDDSLKG</u> YVFGGGTK LTVL
09	SEQ ID NO:9	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCS <u>SGSSSNIGSNTVKW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>SNNQRSS</u> GVPDRFSGSKSGSSA SLAISGLQSEDEADYYCA <u>AWDDSLNG</u> YVFGGGTK LTVL
10	SEQ ID NO:10	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCS <u>SGSSSNIGDNVNW</u> YQQLPGTAPKLLIY <u>STNKRPS</u> GVPDRFSGSKSGSSA SLAISGLQSEDEADYYCA <u>AWDDLSA</u> YVFGGGTK LTVL

表4：抗CD33可變重鏈結構域之胺基酸序列(可變重鏈CDR1、
CDR2及CDR3之胺基酸序列係呈粗體且加下劃線的)

抗 CD33 純系	序列標識符	可變重鏈(VH)結構域序列
01	SEQ ID NO:11	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSF <u>SNYGIH</u> WVRQAPGKGLEWVALISYDGNKKFYADSVKGRF AISRDTSKNTVDLQMTSLRPEDTAVYYCAK <u>DRLES</u> <u>AAFDYWGQGL</u> TVTVSS
02	SEQ ID NO:12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>TSYDI</u> <u>NWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGFAQKFQ</u> <u>GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED</u> TAVYYCARD <u>RANTDFSYGMDV</u> WGQGLTVTVSS
03	SEQ ID NO:13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>TSYDI</u> <u>NWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGFAQKFQ</u> <u>GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED</u> TAVYYCARD

		<u>RAVTDYYYGMDVWGQGTLVTVSS</u>
04	SEQ ID NO:14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS <u>YDI</u> <u>NWVRQAPGQGLEWMGW</u> <u>MNPNSGNTGFAOKFO</u> <u>GRVTMTRDTSTSTVYME</u> <u>SSLRSED</u> <u>TA</u> <u>VYYCARD</u> <u>RANTDYSEFGMDVWGQGTLVTVSS</u>
05	SEQ ID NO:15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS <u>YDI</u> <u>NWVRQAPGQGLEWMGW</u> <u>MNPNSGNTGFAOKFO</u> <u>GRVTMTRDTSTSTVYME</u> <u>SSLRSED</u> <u>TA</u> <u>VYYCARD</u> <u>RANTDYSLGMDVWGQGTLVTVSS</u>
06	SEQ ID NO:16	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS <u>YYM</u> <u>HWVRQAPGQGLEWMG</u> <u>IINPSGGSTSYAOKFOGR</u> <u>VTMTRDTSTSTVYME</u> <u>SSLRSED</u> <u>TA</u> <u>VYYCARD</u> <u>VV</u> <u>PAAIDYYGMDVWGQGTTVTVSS</u>
07	SEQ ID NO:17	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTS <u>YWIG</u> <u>WVRQMPGKGLEWMG</u> <u>IYPGDS</u> <u>TRYSPSFQ</u> <u>QOV</u> <u>TISADKSISTAYLQW</u> <u>SSLKASDTAMYYCAR</u> <u>HKRGS</u> <u>DAFDIWGQGTTVTVSS</u>
08	SEQ ID NO:18	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF <u>SSYAIS</u> <u>WVRQAPGQGLEWMG</u> <u>GIYPIFGSANYAOKFOGRV</u> <u>TITADESTSTAYME</u> <u>SSLRSED</u> <u>TA</u> <u>VYYCARE</u> <u>YYID</u> <u>SSEWAFDIWGQGTLVTVSS</u>
09	SEQ ID NO:19	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF <u>SSYGIS</u> <u>WVRQAPGQGLEWMG</u> <u>GIPIFGSAHYAOKFOGRV</u> <u>TITADESTSTAYME</u> <u>SSLRSED</u> <u>TA</u> <u>VYYCARE</u> <u>YYID</u> <u>SSEWAFDIWGQGTLVTVSS</u>
10	SEQ ID NO:20	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF <u>DSYAIS</u> <u>WVRQAPGQGLEWMG</u> <u>GIPIFGSAHYSOKFOGRV</u> <u>ITADESTSTAYME</u> <u>SSLRSED</u> <u>TA</u> <u>VYYCARE</u> <u>YYDS</u> <u>SEWAFDIWGQGTLVTVSS</u>

在一些實施例中，向CD33賦予特異性之結合蛋白選自表3及表4

中所顯示之形成人類CD33結合位點之可變重鏈結構域及可變輕鏈結構域之以下組合中之一者。非限制性實例包括(i) SEQ ID NO:1及SEQ ID NO:11、(ii) SEQ ID NO:2及SEQ ID NO:12、(iii) SEQ ID NO:3及SEQ ID NO:13、(iv) SEQ ID NO:4及SEQ ID NO:14、(v) SEQ ID NO:5及SEQ ID NO:15、(vi) SEQ ID NO:6及SEQ ID NO:16、(vii) SEQ ID NO:7及SEQ ID NO:17、(viii) SEQ ID NO:8及SEQ ID NO:18、(ix) SEQ ID NO:9及SEQ ID NO:19及(x) SEQ ID NO:10及SEQ ID NO:20。

本文亦闡述不僅對CD33具有特異性且亦具有至少一種其他功能性結構域之結合蛋白。在再一實施例中，至少一種其他功能性結構域係效應物結構域。「效應物結構域」包含抗體之對效應細胞具有特異性之結合位點，該效應細胞可刺激或觸發細胞毒性、吞噬作用、抗原呈遞、細胞介素釋放。該等效應細胞係(例如但不限於) T細胞。具體而言，效應物結構域包含形成針對T細胞上之抗原(例如人類CD3)之抗原結合位點之至少一個抗體可變重鏈結構域及至少一個可變輕鏈結構域。

因此，在一些實施例中，CD33結合蛋白係多功能性的。本文所用之術語多功能性意指結合蛋白展現兩種或更多種不同生物功能。舉例而言，不同生物功能係針對不同抗原之不同特異性。在某些情形下，多功能性CD33結合蛋白係多特異性的，即具有對CD33及一或更多種抗原結合特異性。在某些情形下，結合蛋白係雙特異性的，其中對CD33及CD3具有特異性。該等雙特異性結合蛋白包括(例如)類別IgA、IgD、IgE、IgG或IgM之雙特異性單株抗體、雙價抗體、單鏈雙價抗體(scDb)、串聯單鏈Fv (scFv)₂ (例如雙特異性T細胞銜接器

(BiTE®)、雙親和力再靶向抗體(DART™)、串聯雙價抗體(TandAb®)及撓性抗體(flexibodies)。

在某些實施例中，雙特異性CD33及CD3結合蛋白之CD3結合位點對人類CD3且在一些情形下食蟹猴CD3具有特異性。此一結合位點之實例為包含來自表5中所顯示之序列(SEQ ID NO:64至67)之VH結構域CDR1、CDR2及CDR3及來自表6中所顯示之序列(SEQ ID NO:68至71)之VL結構域CDR1、CDR2及CDR3的多肽。在某些情形下，CD3結合位點係SEQ ID NO:64之可變重鏈結構域及SEQ ID NO:68之可變輕鏈結構域之組合。在某些情形下，CD3結合位點係SEQ ID NO:65之可變重鏈結構域及SEQ ID NO:69之可變輕鏈結構域之組合。在某些情形下，CD3結合位點係SEQ ID NO:66之可變重鏈結構域及SEQ ID NO:70之可變輕鏈結構域之組合。在某些情形下，CD3結合位點係SEQ ID NO:67之可變重鏈結構域及SEQ ID NO:71之可變輕鏈結構域之組合。

表5：抗CD3可變重鏈結構域之胺基酸序列(可變重鏈CDR1、CDR2及CDR3之胺基酸序列係呈粗體且加下劃線的)

抗CD3	VH結構域序列
SEQ ID NO:64 CD3-01	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF <u>STYAMNWVRQAPG</u> KGLEWVGR <u>IRSKYNNYATYYADSVKDR</u> RFTISRDDSKNSLYLQ MNSLKTEDTAVYYCAR <u>HGNFGNSYVSYFAYWGQGLVTVSS</u>
SEQ ID NO:65 CD3-02	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF <u>STYAMNWVRQAPG</u> KGLEWVGR <u>IRSKYNNYATYYADSVKDR</u> RFTISRDDSKNSLYLQ MNSLKTEDTAVYYCAR <u>HGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVS</u> S
SEQ ID NO:66	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF <u>STYAMNWVRQAPG</u> KGLEWVGR <u>IRSKYNNYATYYADSVKDR</u> RFTISRDDSKNSLYLQ

CD3-03	MNSLKTEDTAVYYCAR <u>HGNFGNSYVSWFAY</u> WGQGTLVTVS S
SEQ ID NO:67	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF <u>STYAMN</u> WVRQAPG KGLEWVGR <u>RIRSKYNNYATYYADSVKD</u> RFTISRDDSKNSLYLQ
CD3-04	MNSLKTEDTAVYYCAR <u>HGNFGNSYVSWFAY</u> WGQGTLVTVS S

表 6：抗 CD3 可變輕鏈結構域之胺基酸序列 (可變輕鏈 CDR1、
CDR2 及 CDR3 之胺基酸序列係呈粗體且加下劃線的)

抗 CD3	VL 結構域序列
SEQ ID NO:68 CD3-01	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR <u>RSSTGAVTTSNYAN</u> WVQQKP GKAPKALIG <u>GTNKRAP</u> GVPSRFSGLIGDKATLTISSLQPEDFA TYYC <u>ALWYSNL</u> WVFGQGGTKVEIK
SEQ ID NO:69 CD3-02	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR <u>RSSTGAVTTSNYAN</u> WVQQKP GKAPKGLIG <u>GTNKRAP</u> GVPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYC <u>ALWYSNL</u> WVFGQGGTKVEIK
SEQ ID NO:70 CD3-03	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR <u>RSSTGAVTTSNYAN</u> WVQQKP GKAPKGLIG <u>GTNKRAP</u> GVPSRFSGLIGDKATLTISSLQPEDFA TYYC <u>ALWYSNL</u> WVFGQGGTKVEIK
SEQ ID NO:71 CD3-04	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR <u>RSSTGAVTTSNYAN</u> WVQQKP GKAPKGLIG <u>GTNKRAP</u> GVPSRFSGLIGTDFTLTISSLQPEDFAT YYC <u>ALWYSNL</u> WVFGQGGTKVEIK

在其他實施例中，雙特異性 CD33 及 CD3 結合蛋白之 CD3 結合位點具有包含 STYAMN (SEQ ID NO:72) 之 CDR1 序列之可變重鏈結構域。在其他實施例中，雙特異性 CD33 及 CD3 結合蛋白之 CD3 結合位點具有包含 RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:73) 之 CDR2 序列之可變重鏈結構域。在其他實施例中，雙特異性 CD33 及 CD3 結合蛋白之 CD3 結合位點具有包含 HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO:74) 之 CDR3 序列之可變重鏈結構域。在其他實施例中，雙特異性 CD33 及

CD3結合蛋白之CD3結合位點具有包含HGNFGNSYVSYFAY (SEQ ID NO:75)之CDR3序列之可變重鏈結構域。在再其他實施例中，CD3結合位點具有包含分別SEQ ID NO:72至74之CDR1、CDR2及CDR3序列之可變重鏈結構域。在再其他實施例中，CD3結合位點具有包含分別SEQ ID NO:72、73及75之CDR1、CDR2及CDR3序列之可變重鏈結構域。

在其他實施例中，雙特異性CD33及CD3結合蛋白之CD3結合位點具有包含選自由NTYAMN (SEQ ID NO:76)、NTYAMH (SEQ ID NO:77)及NKYAMN (SEQ ID NO:78)組成之群之CDR1序列之可變重鏈結構域。在其他實施例中，雙特異性CD33及CD3結合蛋白之CD3結合位點具有包含選自由RIRNKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:79、RIRNKYNNYATEYADSVKD (SEQ ID NO:80)、RIRSKYNNYATEYAASVKD (SEQ ID NO:81)、RIRNKYNNYATEYAASVKD (SEQ ID NO:82)、RIRSKYNNYATYYADSVKG (SEQ ID NO:83) 及RIRSKYNNYATEYADSVKS (SEQ ID NO:84)組成之群之CDR2序列之可變重鏈結構域。在其他實施例中，雙特異性CD33及CD3結合蛋白之CD3結合位點具有包含選自由HGNFGDSYVSWFAY (SEQ ID NO:85)、HGNFGNTYVSWFAY (SEQ ID NO:86)、HGNFGCSYVSWFAY (SEQ ID NO:87)、HGNFGNSYISYWAY (SEQ ID NO:88)及HGNFGNSYVSFFAY (SEQ ID NO:89)組成之群之CDR3序列之可變重鏈結構域。

在再其他實施例中，CD3結合位點具有包含分別SEQ ID NO:76、

73及74、分別SEQ ID NO:76、79及74、分別SEQ ID NO:76、80及74、分別SEQ ID NO:76、81及74、分別SEQ ID NO:76、82及74、分別SEQ ID NO:76、83及74、分別SEQ ID NO:72、83及74、分別SEQ ID NO:72、83及85、分別SEQ ID NO:76、83及86、分別SEQ ID NO:77、83及74、分別SEQ ID NO:72、83及87、分別SEQ ID NO:78、73及88或分別SEQ ID NO:78、84及89之CDR1、CDR2及CDR3序列之可變重鏈結構域。

在其他實施例中，雙特異性CD33及CD3結合蛋白之CD3結合位點具有可變輕鏈結構域包含RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:90)之CDR1序列。在其他實施例中，雙特異性CD33及CD3結合蛋白之CD3結合位點具有可變輕鏈結構域包含GTNKRAP (SEQ ID NO:91)之CDR2序列。在其他實施例中，雙特異性CD33及CD3結合蛋白之CD3結合位點具有包含ALWYSNL (SEQ ID NO:92)之CDR3序列之可變輕鏈結構域。在再其他實施例中，CD3結合位點具有包含分別SEQ ID NO:90至92之CDR1、CD2及CD3序列之可變輕鏈結構域。

在某些情形下，CD3結合位點對CD3具有高親和力。或者，在其他情形下，來自重鏈結構域以及輕鏈結構域之CDR1、CDR2、CDR3、或視情況可變輕鏈結構域及可變重鏈結構域係源自其他CD3抗體，例如UCHT1、莫羅單抗(muromonab)-CD3 (OKT3)、奧昔珠單抗(otelixizumab) (TRX4)、替利珠單抗(teplizumab) (MGA031)、維西珠單抗(visilizumab) (Nuvion)及諸如此類。

在另一態樣中，本文闡述經人類化或完全為人類的(即人類來源)之CD33結合蛋白以及雙特異性CD33及CD3結合蛋白。

在一些實施例中，雙特異性CD33及CD3結合蛋白具有藉由針對CD33及CD3之可變輕鏈及重鏈結構域提供CD33及CD3特異性之以下組合中之一者：包括(但不限於) (i) SEQ ID NO:2、12、65及69，(ii) SEQ ID NO:3、13、65及69，(iii) SEQ ID NO:4、14、65及69，(iv) SEQ ID NO:5、15、65及69，(v) SEQ ID NO:1、11、64及68，(vi) SEQ ID NO:2、12、64及68，(vii) SEQ ID NO:2、12、66及70，(viii) SEQ ID NO:4、14、66及70，(ix) SEQ ID NO:5、15、66及70，及(x) SEQ ID NO:3、13、64及68，(xi) SEQ ID NO:3、13、67及71，(xii) SEQ ID NO:4、14、64及68，(xiii) SEQ ID NO:5、15、64及68，(xiv) SEQ ID NO:7、17、64及68，(xv) SEQ ID NO:6、16、64及68，(xvi) SEQ ID NO:6、16、67及71，(xvii) SEQ ID NO:8、18、64及68，(xviii) SEQ ID NO:9、19、64及68；(xix) SEQ ID NO:9、19、67及71，及(xx) SEQ ID NO:10、20、64及68。

CDR序列及重鏈及輕鏈結構域之保守變體

在替代實施例中，重鏈及輕鏈結構域納入本文所述CDR序列之免疫活性同系物或變體。因此，在一些實施例中，結合至CD33或CD3之重鏈或輕鏈結構域中之CDR序列與SEQ ID NO: 21至63或72至92中所繪示之胺基酸序列類似，但不相同。在某些情形下，CDR變體序列與SEQ ID NO: 21至63或72至90之序列比較具有99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%之序列一致性，且其具有免疫活性。

在其他情形下，CDR變體序列納入1個、2個、3個、4個或5個保

守胺基酸取代。保守取代包括用具有類似特徵之另一胺基酸取代給定胺基酸之胺基酸取代，且進一步在脂肪族胺基酸中丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸之互換；羥基殘基絲胺酸及蘇胺酸之互換、酸性殘基天冬胺酸及麩胺酸之交換、在醯胺殘基天冬醯胺與麩醯胺酸間之取代、鹼性殘基離胺酸及精胺酸之交換，及在芳香族殘基苯丙胺酸及酪胺酸中之置換。

在又其他情形下，CDR變體序列納入增強CDR之性質(例如穩定性、對蛋白酶之抗性及/或對CD33或CD3之結合親和力之增加)之取代。

在其他情形下，修飾CDR變體序列以改變非關鍵殘基或非關鍵區域中之殘基。並非關鍵之胺基酸可藉由已知方法鑑別，例如親和力成熟、CDR步移、定點誘變、結晶、核磁共振、光親和標記或丙胺酸掃描誘變。

在其他替代實施例中，CD33及CD3結合蛋白包含為本文所提供之重鏈及輕鏈結構域序列之免疫活性同系物或變體之重鏈及輕鏈結構域。因此，在一些實施例中，CD33及CD3結合蛋白包含與SEQ ID NO:1至20或64至71中所繪示之胺基酸序列類但不相同之重鏈或輕鏈結構域序列。在某些情形下，變體重鏈或輕鏈結構域序列與SEQ ID NO:1至20或64至71之序列比較具有99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%之序列一致性，且其具有免疫活性。

在其他情形下，變體重鏈或輕鏈結構域序列納入1個、2個、3個、4個或5個保守胺基酸取代。保守取代包括用具有類似特徵之另一

胺基酸取代給定胺基酸之胺基酸取代，且進一步包括在脂肪族胺基酸中丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸之互換；羥基殘基絲胺酸及蘇胺酸之互換、酸性殘基天冬胺酸及麩胺酸之交換、在醯胺殘基天冬醯胺酸與麩醯胺酸酸間之取代、鹼性殘基離胺酸及精胺酸之交換，及在芳香族殘基苯丙胺酸及酪胺酸中之置換。

在又其他情形下，變體重鏈或輕鏈結構域序列納入增強CDR性質(例如穩定性、對蛋白酶之抗性及/或對CD33或CD3之結合親和力之增加)之取代。

在其他情形下，修飾變體重鏈或輕鏈結構域序列以改變非關鍵殘基或非關鍵區域中之殘基。並非關鍵之胺基酸可藉由已知方法鑑別，例如親和力成熟、CDR步移(walking)、定點誘變、結晶、核磁共振、光親和標記或丙胺酸掃描誘變。

CD33及CD3雙特異性及串聯雙價抗體

在另一態樣中，CD33結合蛋白或雙特異性CD33及CD3結合蛋白係二聚體，即包含兩個具有針對CD33及CD3之抗原結合位點之多肽。

在另一態樣中，本文亦提供呈串聯雙價抗體(TandAb®)形式之二聚體且雙特異性之CD33及CD3結合蛋白。該等串聯雙價抗體係由單一基因構築體(圖1)中連接四個抗體可變結合結構域(兩個重鏈可變結構域(VH)及兩個輕鏈可變結構域(VL)能夠同二聚合來構築。在該等串聯雙價抗體中，連接體長度可防止可變結構域之分子內配對，從而使得該分子不能自身回摺以形成單鏈雙價抗體，而被迫與另一鏈之互補結構域配對。該等結構域亦經排列，使得相應VH及VL結構域在此二

聚合期間配對。在自單一基因構築體表現後，兩個相同多肽鏈頭對尾(head-to-tail)摺疊，形成大約105 kDa之功能性非共價同二聚體(圖1)。儘管不存在分子間共價鍵，但同二聚體一旦形成即高度穩定，保持完整且不會回復成單體形式。

串聯雙價抗體具有大量提供優於傳統單株抗體及其他較小雙特異性分子之優點之性質。串聯雙價抗體僅含有抗體可變結構域且因此預期缺乏可與Fc部分相關之副作用或非特異性相互作用。舉例而言，在許多細胞類型上發現可結合至Fc結構域之Fc受體，例如白血球(例如，嗜鹼性球、B細胞、嗜酸性球、天然殺傷細胞、嗜中性球及諸如此類)或庫弗氏(Kupffer)細胞。由於串聯雙價抗體允許二價結合至CD33及CD3中之每一者，故親合力與IgG相同。串聯雙價抗體之大小(大約105 kDa)小於IgG，此可允許增強腫瘤滲透。然而，此大小遠高於第一次通過清除之腎臨限值，從而提供與基於抗體結合結構域或非抗體骨架之較小雙特異性形式比較之藥物動力學優點。此外，基於此藥物動力學及親合力性質，串聯雙價抗體優於其他雙特異性結合蛋白(例如BiTE或DART分子)，從而導致較長之固有半衰期及快速細胞毒性。串聯雙價抗體在宿主細胞(例如哺乳動物CHO細胞)中充分表現。預期可獲得用於串聯雙價抗體之穩健之上游及下游製造製程。

本文所述之CD33及CD3雙特異性串聯雙價抗體係經設計，以允許藉由招募細胞毒性T細胞來特異性靶向CD33⁺腫瘤細胞。此與針對唯一抗原之全長抗體比較改良ADCC(抗體依賴性之細胞介導之細胞毒性)且不能直接招募細胞毒性T細胞。相比之下，藉由接合該等細胞上特異性表現之CD3分子，串聯雙價抗體可使細胞毒性T細胞與

CD33⁺腫瘤細胞以高度特異性方式交聯，從而顯著增加該等分子之細胞毒性潛力。此機制係概述於圖2中。串聯雙價抗體顯示強勁、特異性且高效之ADCC。據報導，T細胞可在控制腫瘤生長中起重要作用。舉例而言，顯示來自NHL患者之結腸直腸腫瘤以及淋巴結中之細胞毒性T細胞之存在與較好臨床結果相關。此外，已針對黑色素瘤疫苗以及針對CTLA-4之抗體、T細胞激活之陰性調節劑證明經設計以誘導T細胞反應之療法之潛力。本文所述之串聯雙價抗體經由結合至表面表現CD3來接合細胞毒性T細胞，該表面表現CD3形成T細胞受體之一部分。此串聯雙價抗體與特定腫瘤細胞表面上表現之CD3及CD33之同時結合導致T細胞激活並介導腫瘤細胞之後續溶解(圖2)。

因此，在再一態樣中係多特異性串聯雙價抗體。在一些實施例中，多特異性串聯雙價抗體對兩個、三個或更多個不同表位具有特異性，其中兩個或更多個表位可具有相同抗原標靶或不同抗原標靶。在某些實施例中，多特異性串聯雙價抗體係雙特異性及四價的，即包含四個抗原結合位點。此一雙特異性串聯雙價抗體利用至少一個抗原結合位點結合至人類CD3及人類CD33，其中在某些情形下，串聯雙價抗體利用兩個抗原結合位點結合至人類CD3並利用兩個其他抗原結合位點結合至人類CD33，即串聯雙價抗體二價結合至每一抗原。

在一些實施例中，雙特異性之抗原結合串聯雙價抗體對人類CD33及人類CD3具有特異性，其中該串聯雙價抗體包含第一多肽及第二多肽，每一多肽具有至少四個相繼地連接之可變鏈結構域，其中每一多肽包含

- (i) 對人類CD33具有特異性之可變重鏈(VH)結構域；

- (ii) 對人類CD33具有特異性之可變輕鏈(VL)結構域；
- (iii) 對人類CD3具有特異性之VH結構域，及
- (iv) 對人類CD3具有特異性之VL結構域。

在特定實施例中，雙特異性串聯雙價抗體特異性結合至人類CD33之表位，該表位位於人類CD33之₆₂DQEVQEETQ₇₀ (SEQ ID NO:94) (SEQ ID NO:93之胺基酸殘基62至70)內。在特定情形下，此一串聯雙價抗體包含第一多肽及第二多肽，每一多肽具有至少四個相繼地連接之可變鏈結構域，其中每一多肽包含

(i) 對人類CD33之表位具有特異性之可變重鏈結構域，該表位位於人類CD33之₆₂DQEVQEETQ₇₀ (SEQ ID NO:94) (SEQ ID NO:93之胺基酸殘基62至70)內；

(ii) 對人類CD33之表位具有特異性之可變輕鏈結構域，該表位位於人類CD33之₆₂DQEVQEETQ₇₀ (SEQ ID NO:94) (SEQ ID NO:93之胺基酸殘基62至70)內；

- (iii) 對人類CD3具有特異性之可變重鏈結構域，及
- (iv) 對人類CD3具有特異性之可變輕鏈結構域。

在其他實施例中，本文闡述以10 nM或更小、5 nM或更小、1 nM或更小或0.5 nM或更小之 K_D 對CD33⁺細胞上之CD33具有親和力之CD33/CD3串聯雙價抗體。CD33⁺細胞可選自腫瘤細胞，例如HL-60或KG-1。

在再一實施例中，本文所述之CD33/CD3串聯雙價抗體以10 nM或更小、5 nM或更小或2 nM或更小之 K_D 結合CD3且在某些情形下CD3⁺細胞(特定而言T細胞)上之CD3之 ϵ 鏈。

在一些實施例中，雙特異性串聯雙價抗體之每一多肽包含四個可變鏈結構域之以下組合中之一者：(i) SEQ ID NO:2、12、65及69，(ii) SEQ ID NO:3、13、65及69，(iii) SEQ ID NO:4、14、65及69，(iv) SEQ ID NO:5、15、65及69，(v) SEQ ID NO:1、11、64及68，(vi) SEQ ID NO:2、12、64及68，(vii) SEQ ID NO:2、12、66及70，(viii) SEQ ID NO:4、14、66及70，(ix) SEQ ID NO:5、15、66及70，及(x) SEQ ID NO:3、13、64及68，(xi) SEQ ID NO:3、13、67及71，(xii) SEQ ID NO:4、14、64及68，(xiii) SEQ ID NO:5、15、64及68，(xiv) SEQ ID NO:7、17、64及68，(xv) SEQ ID NO:6、16、64及68，(xvi) SEQ ID NO:6、16、67及71，(xvii) SEQ ID NO:8、18、64及68，(xviii) SEQ ID NO:9、19、64及68；(xix) SEQ ID NO:9、19、67及71，及(xx) SEQ ID NO:10、20、64及68。

本文所用之「二聚體」係指兩個多肽之複合物。在某些實施例中，該兩個多肽彼此非共價聯結，特定而言限制條件係在兩個多肽間無共價鍵。在某些情形下，兩個多肽具有共價聯結，例如形成以有助於二聚體之穩定之二硫鍵。在某些實施例中，該二聚體為同二聚體，即包含兩個相同多肽。術語「多肽」係指胺基酸殘基藉由醯胺鍵連接之聚合物。在某些情形下，該多肽係單鏈融合蛋白，其不具支鏈。在該多肽中，可變抗體結構域相繼地連接。在其他情形下，除可變結構域N-末端及/或C-末端殘基以外，該多肽可具有鄰接胺基酸殘基。舉例而言，在一些情形下該等鄰接胺基酸殘基可在C-末端包含Tag序列，該Tag序列預期用於多肽之純化及檢測。

在一態樣中，雙特異性串聯雙價抗體之每一多肽包含四個可變

結構域，即CD3結合蛋白之可變輕鏈(VL)及可變重鏈(VH)以及CD33結合蛋白之可變輕鏈(VL)及可變重鏈(VH)。在某些實施例中，四個可變結構域係藉由肽連接體L1、L2及L3連接並在一些情形下自N-至C-末端如以下排列：

結構域順序：

- (1) VL(CD3)-L1-VH(CD33)-L2-VL(CD33)-L3-VH(CD3)；或
- (2) VH(CD3)-L1-VL(CD33)-L2-VH(CD33)-L3-VL(CD3)；或
- (3) VL(CD33)-L1-VH(CD3)-L2-VL(CD3)-L3-VH(CD33)；或
- (4) VH(CD33)-L1-VL(CD3)-L2-VH(CD3)-L3-VL(CD33)。

根據所報導研究，長度之連接體影響抗原結合串聯雙價抗體之撓性。因此，在一些實施例中，肽連接體L1、L2及L3之長度使得一個多肽之結構域可與另一多肽之結構域以分子間方式聯結以形成二聚體抗原結合串聯雙價抗體。在某些實施例中，該等連接體「較短」，即由0個、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個或12個胺基酸殘基組成。因此，在某些情形下，該等連接體由約12個或更少胺基酸殘基組成。在0個胺基酸殘基之情形下，連接體為肽鍵。該等短連接體藉由在不同多肽之抗體可變輕鏈結構域與抗體可變重鏈結構域之間結合並形成正確抗原結合位點來支持兩個多肽之分子間二聚合。將連接體縮短至約12個或更少胺基酸殘基通常防止同一多肽鏈之毗鄰結構域彼此進行分子內相互作用。在一些實施例中，該等連接體由約3個至約10個、例如4個、5個或6個鄰接胺基酸殘基組成。

關於連接體之胺基酸組成，選擇不會干擾兩個多肽之二聚合之

肽。舉例而言，包含甘胺酸及絲胺酸殘基之連接體通常提供蛋白酶抗性。連接體之胺基酸序列可藉由(例如)噬菌體展示方法經最佳化，以改良抗原結合多肽二聚體之抗原結合及產率。在一些實施例中，適於串聯雙價抗體之肽連接體之實例為GGSGGS (SEQ ID NO:95)、GGSG (SEQ ID NO:96)或GGSGG (SEQ ID NO:97)。

本文所述之串聯雙價抗體之非限制性實例為具有根據表7之抗CD33 VL及VH結構域、抗CD3 VL及VH結構域、結構域順序及連接體之串聯雙價抗體。

表7：實例性CD33/CD3串聯雙價抗體(TandAb)

串聯雙價抗體	抗CD33結構域		抗CD3結構域		結構域順序	連接體	
	VL	VH	VH	VL		L1/L3	L2
01	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:65	SEQ ID NO:69	1	GGSGGS (SEQ ID NO: 95)	GGSG (SEQ ID NO: 96)
02	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:65	SEQ ID NO:69	1	GGSGGS (SEQ ID NO: 95)	GGSG (SEQ ID NO: 96)
03	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:65	SEQ ID NO:69	1	GGSGGS (SEQ ID NO: 95)	GGSG (SEQ ID NO: 96)
04	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:65	SEQ ID NO:69	1	GGSGGS (SEQ ID NO: 95)	GGSG (SEQ ID NO: 96)
05	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	1	GGSGGS	GGSGG

	NO:4	NO:14	NO:65	NO:69		<u>(SEQ ID NO: 95)</u>	<u>(SEQ ID NO: 97)</u>
06	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:65	SEQ ID NO:69	1	GGSGGS <u>(SEQ ID NO: 95)</u>	GGSGG <u>(SEQ ID NO: 97)</u>
07	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>(SEQ ID NO: 95)</u>	GGSGGS <u>SEQ ID NO: 95)</u>
08	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	3	GGSGGS <u>(SEQ ID NO: 95)</u>	GGSGGS <u>SEQ ID NO: 95)</u>
09	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:66	SEQ ID NO:70	1	GGSGGS <u>(SEQ ID NO: 95)</u>	GGSG <u>(SEQ ID NO: 96)</u>
10	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:66	SEQ ID NO:70	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO: 95)</u>	GGSG <u>(SEQ ID NO: 96)</u>
11	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:66	SEQ ID NO:70	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO: 95)</u>	GGSG <u>(SEQ ID NO: 96)</u>
12	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO: 95)</u>	GGSG <u>(SEQ ID NO: 96)</u>
13	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:67	SEQ ID NO:71	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO: 95)</u>	GGSG <u>(SEQ ID NO: 96)</u>
14	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO: 95)</u>	GGSG <u>(SEQ ID NO: 96)</u>
15	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	1	GGSGGS	GGSG <u>(SEQ</u>

	NO:4	NO:14	NO:64	NO:68		<u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	<u>ID NO: 96)</u>
16	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>
17	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:17	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>
18	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:17	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	2	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>
19	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:16	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>
20	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:16	SEQ ID NO:67	SEQ ID NO:71	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>
21	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:18	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>
22	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:19	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>
23	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:19	SEQ ID NO:67	SEQ ID NO:71	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>
24	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:20	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:68	1	GGSGGS <u>SEQ ID NO:</u> <u>95)</u>	GGSG (<u>SEQ</u> <u>ID NO: 96)</u>

在一些實施例中，串聯雙價抗體為圖9B至9Y中所繪示之串聯雙

價抗體 01 (SEQ ID NO:98)、02 (SEQ ID NO:99)、03 (SEQ ID NO:100)、04 (SEQ ID NO:101)、05 (SEQ ID NO:102)、06 (SEQ ID NO:103)、07 (SEQ ID NO:104)、08 (SEQ ID NO:105)、09 (SEQ ID NO:106)、10 (SEQ ID NO:107)、11 (SEQ ID NO:108)、12 (SEQ ID NO:109)、13 (SEQ ID NO:110)、14 (SEQ ID NO:111)、15 (SEQ ID NO:112)、16 (SEQ ID NO:113)、17 (SEQ ID NO:114)、18 (SEQ ID NO:115)、19 (SEQ ID NO:116)、20 (SEQ ID NO:117)、21 (SEQ ID NO:118)、22 (SEQ ID NO:119)、23 (SEQ ID NO:120)或24 (SEQ ID NO:121)。

在一些實施例中，本文所述之CD33結合蛋白及CD33/CD3雙特異性結合蛋白(例如，CD33/CD3雙特異性串聯雙價抗體)係藉由表現編碼與另一相同多肽聯結以形成抗原結合串聯雙價抗體之串聯雙價抗體之多肽的多核苷酸來產生。因此，另一態樣為編碼本文所述之抗原結合串聯雙價抗體之多肽之多核苷酸，例如DNA或RNA。

多核苷酸係藉由已知方法構築，例如藉由將由肽連接體隔開或在其他實施例中藉由肽鍵直接連接之編碼至少四個抗體可變結構域之基因組合成可操作連接至適宜啟動子及視情況適宜轉錄終止子之單一遺傳構築體，並在細菌或其他適當表現系統(例如CHO細胞)中表現。端視所用載體系統及宿主而定，可使用任一數量之適宜轉錄及轉譯元件，包括組成型及誘導型啟動子。啟動子經選擇，使得其驅動多核苷酸於各別宿主細胞中之表現。

在一些實施例中，將多核苷酸插入至載體(較佳表現載體)中，此代表再一實施例。此重組載體可根據已知方法構築。

可利用各種表現載體/宿主系統以含有並表現編碼所述抗原結合串聯雙價抗體之多肽之多核苷酸。用於在大腸桿菌(*E.coli*)中表現之表現載體之實例為pSKK (Le Gall等人, *J Immunol Methods*. (2004) 285(1):111-27)或用於在哺乳動物細胞中表現之pcDNA5 (Invitrogen)。

因此，在一些實施例中，本文所述之抗原結合串聯雙價抗體係藉由將編碼上文所述多肽之載體引入至宿主細胞中並在表現多肽鏈之條件下培養該宿主細胞來產生，可分離並視情況進一步純化。

在其他態樣中，本文所述之CD33結合蛋白或CD33/CD3雙特異性結合蛋白(例如，CD33/CD3雙特異性串聯雙價抗體)具有修飾。典型修飾包括(但不限於)乙醯化、醯化、ADP-核糖基化、醯胺化、黃素之共價附接、原血紅素部分之共價附接、核苷酸或核苷酸衍生物之共價附接、脂質或脂質衍生物之共價附接、磷脂酸肌醇之共價附接、藥物偶聯、交聯、環化、二硫鍵形成、去甲基化、共價交聯之形成、胱胺酸之形成、焦麩胺酸之形成、甲醯化、 γ 羧基化、糖基化、GPI錨定物形成、羥基化、碘化、甲基化、肉豆蔻醯化、氧化、蛋白水解加工、磷酸化、聚異戊二烯化、外消旋化、硒化、硫酸化、胺基酸至蛋白質之傳遞RNA介導之添加(例如精胺醯基化)及泛素化。在其他實施例中，利用額外胺基酸(例如前導或分泌性序列或用於多肽純化之序列)修飾CD33結合蛋白或CD33/CD3雙特異性結合蛋白。

在其他態樣中，本文提供醫藥組合物，其包含CD33結合蛋白、抗原結合串聯雙價抗體、包含編碼抗原結合串聯雙價抗體之多肽之多核苷酸之載體或藉由此載體轉化之宿主細胞，及至少一種醫藥上可接受之載劑。術語「醫藥上可接受之載劑」包括(但不限於)不會干擾成

份之生物活性之有效性且對投與其之患者無毒之任何載劑。適宜醫藥載劑之實例為業內所熟知並包括磷酸鹽緩衝鹽水溶液、水、乳液(例如油/水乳液)、各種類型之潤濕劑、無菌溶液等。該等載劑可藉由習用方法來調配且可以適宜劑量投與給個體。較佳地，該等組合物無菌。該等組合物亦可含有佐劑，例如防腐劑、乳化劑及分散劑。可藉由包括各種抗細菌劑及抗真菌劑來確保微生物之作用之預防。

與CD33及CD3具有高親和力結合之雙特異性CD33/CD3結合蛋白在大量原代AML試樣中具有高活性，此表明該等分子可在整個細胞遺傳學/分子病譜中具有對抗人類AML之活性，甚至在最低CD33表現之情形下亦如此。應注意，藥物特異性細胞毒性亦在殘餘自體T細胞之存在下觀測到並藉由添加受控數量之健康供體T細胞來顯著加強(參見實例6)。

CD33/CD3雙特異性結合蛋白(特定而言串聯雙價抗體)可誘導CD33⁺白血病細胞活體外之強力細胞溶解。數據指示，與CD33及CD3二者之高親和力結合使雙特異性蛋白質誘導之T細胞激活及抗AML效能最大化。高親和力CD33/CD3定向之雙特異性結合蛋白(例如本文所述串聯雙價抗體)展示活體外在原代AML中之細胞溶解活性。因此，該等雙特異性結合蛋白及串聯雙價抗體適於用於治療急性骨髓性白血病(AML)或其他血液惡性病(例如骨髓發育不良症候群(MDS)或骨髓增生性疾病(MPD))之治療方法。

因此，本文提供其中將上文所述之抗原結合串聯雙價抗體以有效劑量投與給個體(例如患者)用於治療CD33⁺癌症(例如急性骨髓性白血病(AML))、疾病或病狀之方法。CD33⁺癌症包括(但不限於)急性白

血病(例如急性骨髓性白血病、急性淋巴母細胞性白血病(ALL，包括前體B細胞淋巴母細胞性白血病))、骨髓樣肉瘤、多發性骨髓瘤、急性淋巴瘤(例如急性淋巴母細胞淋巴瘤)、慢性骨髓單核球性白血病及諸如此類。CD33⁺疾病及病狀包括在某些癌症及慢性發炎中歸因於骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)之免疫抑制性狀態或環境。

在一些實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療急性骨髓性白血病(AML)。在某些實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療急性骨髓性白血病亞型。

French-American-British分類系統將AML分成八個亞型：AML-M0 (微分化型)、AML-M1 (不成熟)、AML-M2 (具有粒細胞成熟)、AML-M3 (早幼粒細胞或急性早幼粒細胞白血病)、AML-4 (急性骨髓單核球性白血病)、AML-M5 (急性單核母細胞性或單核細胞性白血病)、AML-M6 (急性紅血球白血病)及AML-M7 (急性巨核母細胞白血病)。在某些情形下，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療AML-M0、AML-M1、AML-M2、AML-M3、AML-M4、AML-M5、AML-M6或AML-M7。

WHO AML分類方案根據以下亞型組織AML：具有復發性遺傳異常之AML、具有骨髓發育不良相關變化之AML、治療相關之骨髓樣腫瘤、骨髓樣肉瘤、與唐氏症候群相關之骨髓增生、母細胞性漿細胞樣樹突細胞腫瘤及未另外分類之AML。在某些其他情形下，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療具有復發性遺傳異常之AML、具有骨髓發育不良相關變化之AML、治療相關之骨髓樣腫瘤、骨髓樣肉瘤、與唐氏症候群相關之骨髓增生、母細胞性漿細胞樣

樹突細胞腫瘤或未另外分類之AML。

在一些其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療新診斷、復發性或難治性AML。

在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療白血病前期血液病症，例如骨髓發育不良症候群(MDS)或骨髓增生性疾病(MPD)。在某些情形下，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療MDS。在某些情形下，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療MPD。

在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療多發性骨髓瘤。在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療慢性骨髓單核球性白血病(CMML)。

在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於抑制或消除骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)。MDSC在某些分離之病變組織中高度過表現CD33並具有強勁免疫抑制活性。在某些人類癌症(CD33⁺以及非CD33⁺)中，MDSC增殖並經激活以抑制腫瘤特異性CD4⁺T細胞反應並誘導T_{reg}細胞，從而允許腫瘤或癌症在微環境中活躍。在慢性發炎中，據報導，MDSC係經擴增併發現在發炎部位抑制T細胞免疫功能。在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用於治療與MDSC相關之病狀。在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體以治療免疫抑制。在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體以治療由MDSC抑制之發炎。在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體以治療由MDSC引起之免疫反應降低。在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價

抗體以治療由MDSC促進之血管生成、腫瘤侵襲或癌症轉移。在其他實施例中，投與本文所述之抗原結合串聯雙價抗體以治療由MDSC增強、加強、加重或增加之癌症或腫瘤。

預期本文所述之抗原結合串聯雙價抗體用作藥劑。投與受不同方式影響，例如受靜脈內、腹膜內、皮下、肌內、局部或真皮內投與影響。在一些實施例中，投與途徑取決於療法種類及醫藥組合物中所含之化合物種類。劑量方案將由主治醫師及其他臨床因素確定。針對任一患者之劑量取決於許多因素，包括患者之尺寸、身體表面積、年齡、性別、欲投與之特定化合物、投與之時間及途徑、療法種類、一般健康及同時投與之其他藥物。「有效劑量」係指足以影響疾病之過程及嚴重程度，從而導致該病況之減輕或緩解之活性成份之量。可用於治療及/或預防AML之「有效劑量」可使用已知方法來確定。

在其他實施例中，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與CD33⁺癌症、疾病或病狀之標準療法組合投與。標準療法包括化學療法、免疫療法、激素療法、輻射、手術、基因療法及諸如此類。在某些情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與標準AML療法組合投與。在某些情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與以下化合物組合投與：阿糖胞苷、阿紮胞苷、地西他濱、蔥環(例如，道諾黴素、伊達比星、多柔比星及諸如此類)、安吡啶、氟達拉濱、氯法拉濱、克拉屈濱、奈拉濱、胺甲喋呤、硼替佐米、卡非佐米、美法侖、依魯替尼、沙利度胺、雷利度胺、泊馬度胺、阿普斯特、表鬼臼毒素(例如，依託泊苷、替尼泊苷及諸如此類)、蔥醌(例如，米托蔥醌、匹杉瓊、洛索蔥醌、吡羅蔥醌、阿美蔥醌及諸如此類)、抗CD20劑(例

如，利妥昔單抗、奧瑞珠單抗、奧法木單抗或其組合。在某些情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與阿糖胞苷(ara-C)組合投與。在某些情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與阿紮胞苷組合投與。在某些情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與地西他濱組合投與。在其他情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與蔥環(例如，道諾黴素、伊達比星、多柔比星及諸如此類)組合投與。在其他情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與檢查點抑制劑(例如，PD-1抑制劑、CTLA-4抑制劑及諸如此類)組合投與。在又其他情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與表鬼白毒素(例如，依託泊苷、替尼泊苷及諸如此類)組合投與。在又其他情形下，將本文所述之抗原結合串聯雙價抗體與蔥醌(例如，米托蔥醌、匹杉瓊、洛索蔥醌、吡羅蔥醌、阿美蔥醌及諸如此類)組合投與。

下文實例進一步闡釋所述實施例，而不限制本發明範圍。

實例1

編碼單鏈Fv抗體之DNA表現構築體之選殖

對於抗CD33單鏈Fv(scFv)抗體在大腸桿菌中之細菌表現，將編碼所有分子之序列之DNA選殖至細菌表現載體中。所有表現構築體係經設計以含有N-末端信號肽及C-末端六組胺酸(6×His)標籤之編碼序列(**SEQ ID NO: 122**)以分別促進至周質中之抗體分泌及純化。來自所有抗CD33 scFv純系之VL及VH-結構域之胺基酸序列係顯示於表3及表4中。

重組抗CD33 scFv抗體於大腸桿菌中之表現

重組scFv抗體在大腸桿菌周質中係表現為可溶性分泌蛋白。在第

一步驟中，用經轉化細菌接種補充有胺苄青黴素之少量培養基並在28°C下培育16 h。隨後，藉由添加補充有胺苄青黴素之第二培養基來調整光學密度，並再次在28°C下培育直至達到在600 nm下在0.6至0.8範圍內之光學密度為止。藉助添加50 μ M IPTG並在21°C至28°C及200 rpm下培育培養物長達16 h來誘導蛋白質表現。在培育後，使細胞沈澱(30 min, 4°C, 7500 rpm)並儲存在-20°C下直至進一步加工為止。

抗CD33單鏈Fv抗體之純化

在離心細菌細胞培養物後藉由將細胞糰粒再懸浮於緩衝液中並在室溫下在溫和攪動下培育30 min以自大腸桿菌周質提取重組scFv。使細胞沈澱並保留含有重組蛋白質之上清液。將該程序再重複一次，然後將上清液彙集並藉由超音波處理來均質化。將均質物稀釋，補充低濃度之咪唑，並裝載至預充填之固定金屬親和力層析(IMAC)管柱(GE Healthcare)上。洗滌該管柱，直至達到基線為止，且然後利用咪唑緩衝液溶析結合蛋白。將含有抗體之流分彙集且隨後藉由尺寸排除層析(SEC)純化。最後，藉由超濾濃縮蛋白質溶析液並針對儲存緩衝液進行透析。在低pH處理(在37°C下在pH 3.0下培育20 h至24 h)後，使用Tris中和樣品。在-80°C下以等分試樣儲存經純化蛋白質，直至使用為止。

實例2

編碼串聯雙價抗體(TandAb®)之DNA表現構築體之選殖

對於雙特異性串聯雙價抗體在CHO細胞中之表現，將所有分子之編碼序列選殖至哺乳動物表現載體系統中。使用實例1之抗CD33 scFv結構域與抗CD3 scFv結構域組合構築CD33/CD3串聯雙價抗體，

其中結構域如表7及圖3中所顯示來組織。簡而言之，合成並亞選殖編碼由肽連接體隔開之抗CD33 VH及VL結構域之基因序列(VH-連接體-VL或VL-連接體-VH)。消化所得構築體以利用位於連接體序列內之Bam HI限制位點生成單獨VH及VL編碼序列。然後利用編碼抗CD3(VH-連接體-VL或VL-連接體-VH)之VH及VL結構域之DNA片段連結該等VH及VL片段以產生最終構築體。CD33/CD3串聯雙價抗體之結構域順序變體1至3係顯示於圖3中。所有表現構築體係經設計以含有N-末端信號肽及C-末端六組胺酸(6×His)標籤之編碼序列(**SEQ ID NO: 122**)以分別促進抗體分泌及純化。

串聯雙價抗體在經穩定轉染CHO細胞中之表現

使用CHO細胞表現系統(Flp-In®, Life Technologies)，即CHO-K1中國倉鼠卵巢細胞(ATCC, CCL-61)之衍生物(Kao及Puck, Proc. Natl. Acad Sci USA 1968; 60(4):1275-81)。根據由Life Technologies提供之標準細胞培養方案次培養黏附細胞。

為適應在懸浮液中之生長，將細胞自組織培養燒瓶脫離並置於無血清培養基中。將適應懸浮液之細胞低溫保存在具有10% DMSO之培養基中。

藉由轉染適應懸浮液之細胞來生成穩定表現分泌型串聯雙價抗體之重組CHO細胞系。在利用抗生素潮黴素B選擇之期間，每週兩次量測活細胞密度，且對細胞離心並以 0.1×10^6 個活細胞/mL之最大密度再懸浮於新鮮選擇培養基中。在2週至3週選擇後回收穩定表現串聯雙價抗體之細胞庫，此時將細胞轉移至搖瓶中之標準培養基中。藉由實施蛋白質凝膠電泳或流式細胞術來證實重組分泌蛋白之表現。將穩定

細胞庫低溫保存於含有DMSO之培養基中。

在經穩定轉染CHO細胞系之10天給料分批培養物中藉由分泌至細胞培養上清液中來產生串聯雙價抗體。10天後在通常>75%之培養物活力下收穫細胞培養上清液。每隔一天自產生培養物收集樣品並評價細胞密度及活力。收穫當天，在進一步使用之前藉由離心及真空過濾使細胞培養物上清液澄清。

藉由SDS-PAGE分析在細胞培養物上清液中之蛋白質表現力價及產物完整性。

串聯雙價抗體之純化

在兩步驟程序中自CHO細胞培養物上清液純化串聯雙價抗體。使經His6加標籤(SEQ ID NO: 122)構築體在第一步驟中經受Ni-NTA Superflow層析，接著在第二步驟中在Superdex 200上經受製備型粒徑排阻層析(SEC)。在其同二聚體(串聯雙價抗體)含量方面表徵經溶析串聯雙價抗體，並若同二聚體含量為90%或更高時彙集。最終，對經彙集樣品進行緩衝液交換並藉由超濾濃縮至>1 mg/mL之典型濃度。藉由SDS PAGE並在還原及非還原條件下分別藉由免疫墨點法使用抗His標籤抗體以及藉由分析型SEC來評價最終樣品之純度及均質性(通常>90%)。在-80°C下將經純化蛋白質儲存為等分試樣，直至使用為止。

CD33/CD3串聯雙價抗體之多肽係顯示於表7及圖3中。每一串聯雙價抗體由兩個相同多肽組成(圖1)。兩個外部連接體L1及L3由六個胺基酸GGSGGS (SEQ ID NO:95)組成，而中心肽連接體2之長度分別隨序列GGSG (SEQ ID NO:96)、GGSGG (SEQ ID NO:97)或GGSGGS

(SEQ ID NO:95)有所變化(4個至6個胺基酸)。

使用一系列抗CD33可變結構域及抗CD3可變結構域，生成大量可在經轉染細胞系中穩定產生並在體溫下以及在重複冷凍/解凍循環後維持穩定性之串聯雙價抗體分子。為促進進一步研發及臨床前毒物學研究，重點在於顯示與人類及食蟹猴CD33二者之結合之串聯雙價抗體分子之選擇。分別在圖9M、9O及9Q中顯示串聯雙價抗體12 (SEQ ID NO:109)、14 (SEQ ID NO:111)及16 (SEQ ID NO:113)之單鏈之完整胺基酸序列之實例。在此實例中，該等結構之可變結構域及其連接體之順序為：VL (CD3)-L1-VH (CD33)-L2-VL (CD33)-L3-VH (CD3)。

實例3

抗體親和力之藉由流式細胞術之測定

將細胞與100 μ L之CD33/CD3串聯雙價抗體連續稀釋液一起培育。在用FACS緩衝液洗滌三次後，在冰上將細胞與0.1 mL之10 μ g/mL小鼠單株抗His抗體於相同緩衝液中一起培育45 min。在第二洗滌循環後，將細胞與0.1 mL之15 μ g/mL FITC偶聯之山羊抗小鼠IgG抗體在與之前相同之條件下一起培育。作為對照，將細胞與抗His IgG、接著FITC偶聯之山羊抗小鼠IgG抗體在不具有抗CD33串聯雙價抗體之情況下一起培育。然後再次洗滌細胞並再懸浮於0.2 mL含有2 μ g/mL碘丙啶(PI)之FACS緩衝液中以便排除死細胞。使用Beckman-Coulter FC500 MPL流式細胞儀使用MXP軟體(Beckman-Coulter, Krefeld, Germany)或Millipore Guava EasyCyte流式細胞儀使用Incyte軟體(Merck Millipore, Schwalbach, Germany)來量測 1×10^4 活細胞之螢

光。使用CXP軟體(Beckman-Coulter, Krefeld, Germany)或Incyte軟體(Merck Millipore, Schwalbach, Germany)計算細胞樣品之平均值螢光強度。在減去利用二級及三級試劑染色之細胞之螢光強度值後，僅使用該等值利用GraphPad Prism (用於Windows之6.00版，GraphPad軟體，La Jolla California USA)之單一位點結合(雙曲線)之方程式計算 K_D 值。

測試串聯雙價抗體與人類 $CD3^+$ 及 $CD33^+$ 細胞及食蟹猴 $CD3^+$ 及 $CD33^+$ 細胞之結合親和力。所選串聯雙價抗體之實例性結合數據係概述於表8中：

表8：CD33/CD3串聯雙價抗體之CD3及CD33結合特徵：

TandAb	對T細胞 之 K_D [nM]	對HL-60 之 K_D [nM]	對KG-1之 K_D [nM]	對U-937之 K_D [nM]	K_D 比石蟹猴 CD33/ huCD33	對HL-60之 EC_{50} [pM]
01	94.2	0.6	0.9	7.1	0.7	1.9
02	69.8	0.2	0.3	0.9	1.1	0.5
03	81.9	1.1	1.8	8.9	0.6	3.6
04	79.3	0.5	0.5	1.7	1.1	1.8
05	69.5	1.0	1.2	6.2	0.8	2.7
06	86.3	0.4	0.5	1.6	0.8	1.6
07	49.7	13.7	47.9	47.1	45.8	17.8
08	2.4	0.3	0.5	1.8	0.6	1.8
09	2.4	0.5	0.3	2.2	1.0	6.8
10	1.9	0.5	1.0	1.7	0.8	7.0
11	2.6	0.3	0.5	0.6	1.2	5.9
12	1.5	0.3	0.9	0.5	1.7	1.3
13	55.7	0.2	0.3	0.5	1.6	1.1
14	2.1	0.3	0.3	1.2	1.0	1.6
15	1.3	0.4	0.3	0.9	1.1	1.8

16	2.1	0.3	0.2	0.3	1.4	1.5
17	3.3	5.0	52.5	24.4	1.9	18.4
18	1.9	3.4	16.3	15.1	3.1	6.3
19	6.3	2.8	3.6	5.4	37.3	5.7
20	143.8	4.1	7.0	7.2	33.8	10.0
21	2.1	9.7	25.1	80.2	0.9	7.6
22	4.1	0.7	2.0	8.6	0.6	3.2
23	97.2	0.4	1.0	5.1	1.9	2.8
24	2.3	5.6	12.4	39.5	1.8	9.6

#基於對分別表現食蟹猴CD33及人類CD33之CHO細胞量測之 K_D 值計算 K_D 比石蟹猴CD33/人類CD33。‡基於對Jurkat細胞(hu CD3)量測之 K_D 值及三種人類CD33⁺腫瘤細胞系(HL-60、KG-1、U937)之平均值 K_D 計算 K_D 比hu CD3 / hu CD33。

在對CD3⁺ Jurkat細胞(由Dr. Moldenhauer, DKFZ Heidelberg提供；人類急性T細胞白血病)及食蟹猴CD3⁺ HSC-F細胞系(JCRB，目錄編號JCRB1164)之滴定及流式細胞術實驗中評估CD3結合親和力及交叉反應性。對以下人類CD33⁺腫瘤細胞系評價CD33結合及交叉反應性：HL-60 (DSMZ，目錄編號ACC 3，人類B細胞前體白血病)、U-937 (DSMZ，目錄編號ACC5；人類組織細胞性淋巴瘤)及KG-1 (DSMZ，目錄編號ACC14；急性骨髓性白血病)。使用對表現重組人類或重組食蟹猴抗原之CHO細胞系測定之 K_D 值計算交叉反應性之 K_D 比。

串聯雙價抗體展現與大部分所測試腫瘤細胞系上之人類CD33⁺低於1 nM之相對較高親和力。與人類CD3之親和力經測定等於或小於2 nM。

實例4

細胞毒性分析

對於毒性分析，收穫在標準條件下培養之標靶細胞，洗滌並再懸浮於提供於PKH67綠色螢光細胞連接體微型套組中之稀釋劑C中，達 2×10^7 個細胞/mL之密度。然後將細胞懸浮液與相等體積之雙倍濃縮PKH67標記溶液混合並在室溫下培育2 min至5 min。藉由添加相等體積之FCS並培育1 min來實施染色反應。在用完全RPMI培養基洗滌經標記標靶細胞後，對細胞計數並再懸浮於完全RPMI培養基中達 2×10^5 個細胞/mL之密度。然後將 2×10^4 個標靶細胞與作為效應細胞之經富集人類T細胞以5:1之E:T比一起在漸增濃度之所示串聯雙價抗體之存在下接種在微量滴定板之個別孔中，且總體積為200 μ L/孔。在每一板上針對至少三個複製測定在不存在抗體之情況下之自發細胞死亡及藉由T細胞殺死標靶。在離心後，在37°C下在具有5% CO₂之潮濕化氛圍中將分析板培育所示時期。在培育後，用FACS緩衝液將培養物洗滌一次且然後再懸浮於補充有2 μ g/mL PI之150 μ L FACS緩衝液中。藉由利用PKH67之陽性綠色染色及PI陰性染色使用Beckman-Coulter FC500 MPL流式細胞儀(Beckman-Coulter)或Millipore Guava EasyCyte流式細胞儀(Merck Millipore)量測活標靶細胞之絕對量。基於所量測之剩餘活標靶細胞，計算特異性細胞溶解之百分數根據以下公式： $[1 - (\text{活標靶之數量}_{(\text{樣品})} / \text{活標靶之數量}_{(\text{自發})})] \times 100\%$ 。藉由非線性回歸/4參數邏輯擬合使用GraphPad軟體計算S形劑量反應曲線及EC₅₀值。使用針對給定抗體濃度所獲得之溶解值並藉由4參數邏輯擬合分析使用Prism軟體計算S形劑量-反應曲線。

在20小時至24小時分析中對CD33⁺ U-937 (DSMZ, 目錄編號ACC5; 人類組織細胞性淋巴瘤)標靶細胞利用經富集人類T細胞作為效應細胞以5:1之比測定EC₅₀值。亦在細胞毒性分析中對CD33⁺ KG-1 (DSMZ, 目錄編號ACC14; 急性骨髓性白血病)及HL-60標靶細胞測試一些串聯雙價抗體。具體而言, 選擇HL-60細胞作為具有相當高之CD33細胞表面表現之AML之模型(任意MFI [平均值±SEM]: 3,133±215; n=3), 並選擇KG-1a作為具有極有限CD33表現之AML之模型(任意MFI: 277±11; n=3)。所選串聯雙價抗體之實例性細胞毒性數據係概述於表9中。HL-60細胞系之額外細胞毒性數據係見於表8之最後一行。

表9: 不同CD33⁺腫瘤細胞系上之CD33/CD3串聯雙價抗體之活體外功效:

串聯雙價抗體	對人類CD33 ⁺ 標靶細胞系之EC ₅₀ [pM (pg/mL)]			
	HL-60	U-937	KG-1	平均值
12	1.3 (137)	0.8 (84)	1.2 (126)	1.1 (116)
14	1.6 (168)	3.6 (378)	2.6 (273)	2.6 (273)
16	1.5 (158)	1.9 (200)	1.8 (189)	1.7 (179)

在基於FACS之細胞毒性分析中利用原代人類T細胞作為效應細胞以5:1之E:T比對培育20小時至24小時之所示標靶細胞系測定EC₅₀值。在至少兩個獨立實驗中對每一腫瘤細胞系測試每一串聯雙價抗體。呈現平均值。

實例5

在48小時時在人類CD33⁺ AML細胞系中之其他細胞毒性篩選實驗

如上文所述, 早在24小時時檢測到顯著細胞毒性, 然而在48小

時時可檢測到較高程度之毒性。對於後續分析，選擇48小時時間點。測試T細胞選擇對串聯雙價抗體誘導之細胞毒性之影響。為實現此，獲得來自健康志願者供體之未受刺激PBMC，並藉由簡單「正富集」經由使用CD3微珠粒以及藉由較複雜「負選擇」經由針對CD14、CD15、CD16、CD19、CD34、CD36、CD56、CD123及CD235a之抗體之微珠粒混合物二者來分離CD3⁺細胞。如圖4中所繪示，利用負選擇健康供體T細胞時相比於利用正選擇T細胞時，串聯雙價抗體誘導之細胞毒性較大。然而，個別串聯雙價抗體之相對細胞毒性活性不受T細胞選擇方法影響。因此，利用經正富集健康供體T細胞實施後續分析。

由福瑞德·哈金森癌症研究中心(FHCRC, Fred Hutchinson Cancer Research Center)造血細胞加工核心(Hematopoietic Cell Processing Core) (Core Center of Excellence)根據FHCRC人體試驗委員會(Institutional Review Board)批准之研究方案經由白血球分離術自健康成年志願者收集未受刺激單核細胞。藉助磁性細胞分選經由CD3微珠粒(「正富集」)或經由泛T細胞分離套組(「負選擇」；二者均來自Miltenyi Biotec, Auburn, CA)富集T細胞，且然後以等分試樣冷凍並儲存於液態氮中。根據製造商之說明書用3 μ M CellVue Burgundy (eBioscience, San Diego, CA)標記解凍之細胞等分試樣。在不同濃度之串聯雙價抗體分子之存在下培養經純化之PBMC。

對於藥物誘導之細胞毒性之量化，如實例4中在37°C(於5% CO₂及空氣中)以不同E:T細胞比培育細胞。在24小時至72小時後，使用LSRII細胞儀(BD Biosciences)測定細胞數量及藥物誘導之細胞毒性(使

用DAPI以檢測非活細胞)並利用FlowJo分析。藉由前向/側向散射性質及在添加健康供體T細胞之實驗中CellVue Burgundy染料之陰性來鑑別AML細胞(圖5)。藥物誘導之特異性細胞毒性係表示為： $\%細胞毒性 = 100 \times (1 - \text{活標靶細胞}_{處理} / \text{活標靶細胞}_{對照})$ 。細胞毒性分析之結果係表示為平均值 \pm 平均值標準誤差(SEM)。使用斯皮曼非參數相關(Spearman nonparametric correlation)計算連續樣品特徵間之相關性。所有P值為雙邊的。使用GraphPad Prism軟體實施統計分析。

在健康供體T細胞不存在下，CD33/CD串聯雙價抗體中之任一者在T細胞不存在下對AML細胞系不發揮任何顯著細胞毒性效應，此證實T細胞對於其細胞毒性效應絕對需要(數據未顯示)。在T細胞存在下，串聯雙價抗體誘導之特異性細胞毒性之程度取決於串聯雙價抗體之濃度以及E:T細胞比。CD33/CD3定向之串聯雙價抗體分子與一種對照串聯雙價抗體(00)間之直接頭對頭比較(Direct head-to-head comparison)顯示在HL-60細胞(圖6A/B及表10)及KG-1a細胞(圖6C/D及表10)二者中抗體誘導之細胞毒性之顯著差異，結果在重複實驗中高度再現。總之，串聯雙價抗體誘導之細胞毒性之程度與對原代人類T細胞上之CD3之結合親和力相關(在25 pM (大約2.5 ng/mL)及E:T=5:1下在KG-1a細胞中之細胞毒性： $r=-0.542$ ， $p=0.009$ ；在25 pM及E:T=5:1下在HL-60細胞中之細胞毒性： $r=-0.391$ ， $p=0.07$)。串聯雙價抗體12、14、16對HL-60及KG-1a細胞具有高細胞毒性。

表 10：CD33/CD3 串聯雙價抗體在 48 h 時之 CD25 及 CD69 誘導及細胞毒性

串聯雙價抗體 ¹	CD3 K _D (nM) 人類 T 細胞	CD33 K _D (nM) HL-60 細胞	CD25 誘導 EC ₅₀ (pM) ²	CD69 誘導 EC ₅₀ (pM) ²	在 PBMC 中之 T 細胞增殖 EC ₅₀ (pM) ³	細胞毒性 HL-60 細胞 (%±SEM) ⁴	細胞毒性 KG-1a 細胞 (%±SEM) ⁴
15	1.3	0.4	6	7	7	82.9±3.7	80.2±1.9
12	1.5	0.3	6	3	2	84.7±2.3	85.6±1.6
10	1.9	0.5	10	6	6	48.0±2.4	78.6±2.3
14	2.1	0.3	10	7	6	86.0±0.4	69.8±5.7
21	2.1	9.7	ND	225	500	12.4±1.0	0.0±0.2
24	2.3	5.6	ND	57	264	24.5±1.9	1.1±0.2
09	2.4	0.5	11	7	9	43.2±15.8	74.6±3.2
11	2.6	0.3	11	5	6	52.7±8.1	84.7±1.4
17	3.3	5.0	30	114	30	4.2±0.2	0.7±0.4
22	4.1	0.7	10	4	7	74.2±7.4	44.4±5.3
16	5.1	0.3	1	2	3	86.0±1.4	81.3±1.5
19	6.3	2.8	9	5	6	79.4±3.5	83.8±2.9
07	49.7	13.7	134	65	50	6.3±3.3	2.1±0.7
13	55.7	0.2	30	22	23	70.4±2.5	1.3±0.4
05	69.5	1	116	74	74	23.8±6.9	0.3±0.3
02	69.8	0.2	42	27	4	80.9±3.6	4.6±2.1
04	79.3	0.5	94	62	44	24.1±4.0	0.7±0.8
03	81.9	1.1	117	87	63	13.1±3.6	0.0±0.5
06	86.3	0.4	39	21	48	45.7±6.4	1.4±0.2
01	94.2	0.6	92	91	89	8.0±1.6	0.4±0.4
23	97.2	0.4	41	17	37	73.7±2.6	1.5±0.3
20	143.8	4.1	98	75	38	31.2±3.9	1.1±0.3

¹串聯雙價抗體(TandAb)係以漸增CD3親和力之順序列示。

²在24小時後在未分級分離PBMC培養物中量測CD25及CD69誘導。

³在存在CD33+細胞之未分級分離PBMC中藉由CD33/CD3串聯雙價抗體誘導之T細胞增殖。

⁴來自3個在一式兩份孔中實施之獨立實驗、在25 pM之串聯雙價抗體濃度下、在健康供體T細胞之存在下以5:1之E:T細胞比，DAPI+細胞在48小時後之細胞毒性(%)。

ND：未檢測到任何CD25激活

實例6

串聯雙價抗體在原代人類AML試樣中之其他表徵

對於該等候選者之細胞毒性性質之全面表徵，獲得來自AML患者之試樣用於來自FHCRC試樣庫之研究。

自FHCRC之庫獲得來自患有AML之成年患者之治療前(「診斷」)末梢血或骨髓試樣之Ficoll分離單核細胞之冷凍等分試樣。使用2008 WHO準則定義AML (Vardiman等人；Blood. 2009；114(5):937-951)並使用經細化英國醫學研究委員會(United Kingdom Medical Research Council, MRC)準則指定細胞遺傳學風險(Grimwalde等人；Blood. 2010；116(3):354-365)。患者提供關於根據由FHCRC人體試驗委員會批准之方案收集及使用其生物試樣用於研究目的之書面知情同意書。遵照健康保險可攜性與責任法案(Health Insurance Portability and Accountability Act)規則去鑑別臨床數據。在解凍後，利用識別CD33 (純系P67.6；PE-Cy7偶聯、CD3 (純系SK7；PerCP偶聯)、CD34

(純系8G12；APC偶聯；所有均來自BD Biosciences, San Jose, CA)及CD45 (純系HI30；APC-eFluor®780偶聯；eBioscience)之經直接標記抗體對細胞染色。為鑑別非活細胞，利用4',6-二甲脒基-2-苯基吡啶(DAPI)對樣品染色。在Canto II流式細胞儀(BD Biosciences)上獲取至少10,000個事件，並使用FlowJo (Tree Star, Ashland, OR)分析DAPI-細胞。

在解凍後，試樣具有>58% AML母細胞，如藉由流式細胞術基於CD45/側向散佈性質所測定。在含有細胞介素之液體培養物中，試樣在剛解凍後具有>50%活細胞且在48小時後具有>50%活細胞(圖7)。患者之中值年齡為58.1 (範圍：23.9至76.2)歲；在2個患者中細胞遺傳學疾病風險係有利的，在18個患者中係中等的，且在7個患者中係不利的。關於*NPM1*、*FLT3*及*CEBPA*之突變狀態之資訊不完整；然而，已知一個樣品為*CEBPA*^{雙突變體}，且另一樣品為*NPM1*^{pos}/*FLT3-ITD*^{neg}。研究試樣中之骨髓樣母細胞及CD3⁺ T細胞之中值百分數分別為86.1% (範圍：58.4%至97.0%)及2.0% (範圍：0%至11.9%)，且培養物中在48小時後之中值樣品活力為80.1% (範圍：53.6%至93.6%)。患者中之15個患有新診斷AML，而在試樣收集之時12個患有復發性(n=7)或難治性(n=5)疾病。如表11中所概述，來自患有新診斷AML之患者之試樣之鹼性特徵與患有復發性/難治性疾病之彼等在於骨髓樣母細胞上之CD33表現、自體T細胞之量、骨髓樣母細胞之比例及培養物活力方面類似。

將串聯雙價抗體分子添加至AML試樣培養物中導致適度之劑量依賴性細胞毒性(圖8A)，此證明來自患有活性AML之患者之試樣所含

之自體T細胞可致力於裂解白血病細胞。在健康供體T細胞之存在下，個別串聯雙價抗體之細胞毒性活性嚴格地取決於藥物劑量及E:T細胞比(圖8B/C)。然而，甚至在一些在AML母細胞上具有極低CD33表現之試樣中亦觀測到串聯雙價抗體之高活性。在串聯雙價抗體分子中，12似乎最具活性，此乃因其在低濃度(2.5 pM (大約250 ng/mL)下且在較不顯著程度上亦在10 pM (大約1 ng/mL))下在E:T=1:3及E:T=1:1二者下均具有最高細胞毒性。

已在代表性AML患者血液樣品中篩選CD33/CD3串聯雙價抗體，該等血液樣品因患者性別、年齡、疾病階段(新診斷、復發性、難治性)、CD33表現程度及細胞遺傳學風險(表11)而有所不同。令人注目地，大量經檢查串聯雙價抗體(例如，02、08、09、11、12、14、16、19、22及23)在幾乎所有患者樣品中在病譜中具有高活性，如圖15中所顯示。此外，活性之程度及範圍在AML之所有階段(包括新診斷、復發性及難治性患者)中均類似。

表11. 原代AML試樣之特徵

	所有患者 (n=27)	新診斷 AML (n=15)	復發性/難治性 AML (n=12)
中值年齡(範圍)，歲	58.1 (23.9-76.2)	64.0 (40.2-76.2)	44.4 (23.9-67.4)
細胞遺傳學/分子風險			
有利的	2	2	--
中等的	18	10	8
<i>CEBPA</i> 雙突變體	1	1	--
<i>NPM1^{pos}/FLT3-ITD^{neg}</i>	1	--	1
<i>NPM1^{pos}/FLT3-ITD^{pos}</i> 或 <i>NPM1^{neg}/FLT3-ITD^{pos}</i>	10	5	5
不利的	7	3	4

試樣來源			
骨髓	11	4	7
末梢血	16	11	5
中值%母細胞(範圍)	86.1 (58.4-97.0)	86.1 (66.7-95.5)	86.7 (58.4-97.0)
於母細胞上之中值 CD33表現(範圍)	849 (5-5,356)	849 (5-5,356)	788 (7-2,242)
中值% T細胞(範圍)	2.0 (0-11.9)	1.6 (0-11.9)	2.1 (0.7-8.7)
48小時時之中值%活 力(範圍)	80.1 (53.6-93.6)	76.0 (53.6-93.6)	83.5 (63.9-93.1)

實例7

CD33/CD3串聯雙價抗體12及串聯雙價抗體16在表現不同含量之CD33之不同來源之不同CD33⁺細胞系上的功效及效能

為評價CD33/CD3串聯雙價抗體之功效及效能是否取決於標靶細胞上之CD33密度，使用QIFIKIT量化套組及抗CD33 mAb WM53測試表現重組人類CD33之各種人類CD33⁺腫瘤細胞系及CHO細胞之CD33表現含量。表12中之結果顯示，腫瘤細胞系上之CD33密度係在介於約1300 SABC (標準化抗體結合能力)與約46000 SABC之間之範圍內。CHO-CD33細胞上之表現為約197000 SABC，實質上高於於腫瘤細胞系上之表現。在至少3個基於FACS之獨立細胞毒性分析中在CD33/CD3串聯雙價抗體12及串聯雙價抗體16之連續稀釋液之存在下以5:1之效應物-與-標靶比使用所有所測試CD33⁺細胞系作為標靶細胞並利用人類T細胞作為效應細胞。在每一分析中，藉由非線性回歸計算EC₅₀及串聯雙價抗體介導之溶解值。該等結果證明，12及16之功效(EC₅₀值)或效能(%溶解)與標靶細胞表面上之CD33密度相關。

值得注意的係，至少12及16展現其低於1500 SABC之極低CD33

密度亦針對如SEM之細胞之細胞毒性活性。

細胞系	CD33密度[SABC]		12		16	
			EC ₅₀ [pM]		EC ₅₀ [pM]	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
CHO-CD33	196990	28053	11.8	11.2	24.0	19.5
HL-60	45948	4478	1.4	0.5	1.6	0.4
KG-1	42828	6923	1.0	0.6	1.9	2.0
KASUMI-1	25922	6484	1.3	0.6	2.4	1.4
THP-1	22065	415	1.9	0.2	6.0	1.2
RPMI-8226	19931	2604	14.0	17.8	2.8	2.0
U-937	17669	4593	0.9	0.1	1.3	0.6
K562	13789	2156	4.5	1.3	4.8	2.7
BV-173	8518	1231	1.4	0.6	3.2	1.6
SEM	1306	144.2	2.2	0.5	5.1	3.0

表12：CD33/CD3串聯雙價抗體12及串聯雙價抗體16之CD33標靶細胞表面表現及細胞毒性功效：

使用QIFIKIT及抗CD33 mAb WM53測定對CD33⁺細胞系之標準化抗體結合能力(SABC)。在基於FACS之細胞毒性分析中以5:1之E:T比利用人類原代T細胞作為效應細胞及20 h至24 h培育測定重定向標靶細胞溶解之串聯雙價抗體12及串聯雙價抗體16之EC₅₀值；將利用表現CD33之CHO細胞之分析培育40 h至48 h。顯示至少3個獨立分析之平均值及SD。

實例8

T細胞之TandAb-激活及AML細胞之活體外殺死

將TandAb與經純化人類T細胞及經VPD-450標記之人類CD33⁺白血病細胞系KG-1或CD33⁻人類ALL細胞系G2 (E:T 5:1)一起培育。使用

流式細胞術評估藉由TandAb之標靶細胞溶解(10^{-15} M至 10^{-8} M；24 h， 37°C)。

TandAb 12、16及19與人類T細胞一起培育有效溶解KG-1細胞(IC₅₀分別為約0.01 pM、0.5 pM及5 pM)。高達40%之T細胞被激活(CD25+)且細胞毒性活性升高。具有不相關標靶之對照TandAb (00) ($>10^{-7}$ M)未導致KG-1活體外之顯著殺死。單獨地，16誘導KG-1細胞之溶解(IC₅₀ = 5×10^{-12} M)，而 1×10^{-8} M對CD33- G2細胞沒有影響。結果指示，當藉由CD33/CD3 TandAb靶向CD33+白血病細胞(KG-1)及原代CD33+ AML母細胞時，T細胞被激活且強力溶解腫瘤細胞。

實例9

表位映射

使用CLIPS技術(Pepscan)使含有不同CD33結合部分之串聯雙價抗體經受表位映射以鑑別CD33結合表位。

CLIPS技術促進肽結構化成單一環、雙環、三環、片狀摺疊、螺旋狀摺疊及其組合，從而提供映射標靶分子之不連續表位之可能性。

合成超過7000個獨立肽之陣列並在ELISA中測試每一抗體與肽之結合。

串聯雙價抗體12、14、16及22結合至人類CD33之第一Ig樣結構域中之段₆₂DQEVQEETQ₇₀ (SEQ ID NO:94)。各別胺基酸段係在圖9A中以加下劃線及粗體顯示。預期串聯雙價抗體01、02、04、06、08、09、13及23亦結合至此表位，此乃因該等串聯雙價抗體共享與串聯雙價抗體12、14、16及22相同之CD33結合結構域(SEQ ID NO:2及12、3及13、5及15、9及19)。

實例 10

在預防性活體內腫瘤模型中之劑量-反應

在利用人類T細胞重構之NOD/scid小鼠中在預防性HL-60腫瘤異種移植模型中在不同劑量值下比較串聯雙價抗體12及16。為達成劑量-反應，選擇三個在10 μg 、1 μg 及0.1 μg (0.5 mg/kg、0.05 mg/kg及0.005 mg/kg)下之劑量值。

藉由皮下注射 4×10^6 個HL-60細胞之懸浮液對八個免疫缺陷型NOD/scid小鼠實驗群組進行異種移植。在注射之前，將細胞與採用負選擇自血沉棕黃層(健康供體)分離之 3×10^6 個T細胞混合。為解釋T細胞之可能供體可變性，將每一實驗群組細分為三個隊列，每一隊列僅接受一個個別供體之T細胞。移植有腫瘤細胞及T細胞之實驗群組之所有動物在第0天、第1天、第2天、第3天及第4天(qd \times d5)接受在所示之三個不同劑量值(0.1 μg 、1 μg 及10 μg)下之媒劑(對照)或16或12之靜脈內濃注。一個無效應細胞及媒劑治療之群組充當額外對照。表13概述群組分派及劑量時間表。

群組	治療	劑量	細胞濃度/動物	隊列	時間表 (iv)	n
1	媒劑	---	4×10^6 個HL-60			4
2	媒劑	---	4×10^6 個HL-60 + 3×10^6 個T細胞	隊列1	第0天、第1天、第2天、第3天、第4天	3
			4×10^6 個HL-60 + 3×10^6 個T細胞	隊列2		3
			4×10^6 個HL-60 + 3×10^6 個T細胞	隊列3		3
3	16	10 μg	4×10^6 個HL-60 +	隊列1	第0天、第1天、第2天、第3	3

			3×10 ⁶ 個T細胞 4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列2	天、第4天	3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列3		3
4	16	1 μg	4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列1	第0天、第1天、第2天、第3 天、第4天	3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列2		3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列3		3
5	16	0.1 μg	4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列1	第0天、第1天、第2天、第3 天、第4天	3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列2		3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列3		3
6	12	10 μg	4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列1	第0天、第1天、第2天、第3 天、第4天	3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列2		3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列3		3
7	12	1 μg	4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列1	第0天、第1天、第2天、第3 天、第4天	3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列2		3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列3		3
8	12	0.1 μg	4×10 ⁶ 個HL-60 +	隊列1	第0天、第1天、第2天、第3	3

			3×10 ⁶ 個T細胞 4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列2	天、第4天	3
			4×10 ⁶ 個HL-60 + 3×10 ⁶ 個T細胞	隊列3		3

表13

在HL-60異種移植物模型中之活體內劑量-反應研究之治療群組。對照群組中之所有動物可靠地生成腫瘤並展現均勻腫瘤生長。T細胞之存在對腫瘤生成無影響。在媒劑治療之對照群組中在T細胞之存在或不存在下未觀測到HL-60生長有任何差異。

利用兩個測試項目治療揭露明顯劑量依賴性抗腫瘤效應(圖10)。在兩種串聯雙價抗體之間未發現任何實質差異。當大部分治療群組完成時，圖10中平均值腫瘤體積之繪製限制至第29天為止。繼續該研究直至第45天為止並觀測動物之無腫瘤存活率。在利用10 µg或1 µg之16治療之群組中，9個動物中有6個在觀測時期結束時不含腫瘤，且9個接受10 µg之12之動物中有5個在第45天不含腫瘤。一個動物在利用1 µg之12治療時保持不含腫瘤。

對照群組中之所有動物可靠地生成腫瘤並展現均勻腫瘤生長。利用任一串聯雙價抗體之治療揭露劑量依賴性抗腫瘤效應且直至第29天為止在兩種串聯雙價抗體之間未發現任何實質差異。

僅在延長觀測(第45天)後觀測到可檢測差異，此時低劑量及對照群組已因而生長大腫瘤終止。利用16治療之群組具有更多無腫瘤動物。

實例11

已建立之腫瘤模型

研發在採用16之具有預建立HL-60腫瘤之NOD/scid小鼠中之異種移植模型以證明概念性驗證。

簡而言之，對雌性免疫缺陷型NOD/scid小鼠進行亞致死輻照(2 Gy)並皮下接種 4×10^6 個HL-60細胞。在第9天，動物接受抗去唾液酸GM1兔抗體(Wako, Neuss, Germany)之單一濃注注射以耗盡鼠類自然殺手(NK)細胞。在第10天，當腫瘤達到介於 50 mm^3 至 150 mm^3 (平均值 $73 \pm 11 \text{ mm}^3$)間之體積時，將動物分派成3個治療群組。向群組2及3 (各自8個動物)腹膜內注射 1.5×10^7 個經激活人類T細胞。在注射之前，採用負選擇自血沉棕黃層(健康供體)分離T細胞。根據製造商說明書(Miltenyi Biotech)利用T細胞激活/擴增套組擴增並激活T細胞。為解決可能供體可變性，將群組2及3細分為兩個隊列，每一隊列接受來自個別供體之經擴增及激活之T細胞。每一隊列僅接受來自一個個別T細胞供體之T細胞。

群組	動物 (n)	經接種細胞		隊列	治療
		第0天，sc.	第10天，ip.		
1	5	4×10^6 個HL-60			第13天至第21天，每天一次 媒劑(iv)
2	4	4×10^6 個HL-60	1.5×10^7 個T細胞(供體1)	1	媒劑(iv)
	4	4×10^6 個HL-60	1.5×10^7 個T細胞(供體2)	2	
3	4	4×10^6 個HL-60	1.5×10^7 個T細胞(供體1)	1	TandAb 16 (iv) 50 μ g
	4	4×10^6 個HL-60	1.5×10^7 個T細胞(供體2)	2	

表14：預建立HL-60異種移植模型之治療群組。

在第13天開始，群組3中之動物展示105 mm³之平均值腫瘤體積並用總計9個50 µg串聯雙價抗體16 (qd×9d)之靜脈內劑量治療。表14闡釋群組分派及劑量時間表。群組1及2僅利用媒劑治療。測定體重及腫瘤體積直至第27天為止。

所有動物可靠地生成腫瘤，其在第6天可觸到。媒劑治療之群組1及2 (HL-60)動物之平均值腫瘤體積不斷增加，直至在第27天研究終止為止(圖11)。在群組2中，除HL-60腫瘤細胞以外亦接受原代經激活人類T細胞之動物，平均值腫瘤體積與群組1 (僅HL-60)比較增加較快。

相對於群組1及群組2，自第13天至第21天(qd×d9)在人類T細胞之存在下利用串聯雙價抗體16 (50 µg/動物；2.5 mg/kg)之重複靜脈內治療(群組3)快速延遲腫瘤生長。與媒劑治療之對照群組(群組2)比較，在群組3中串聯雙價抗體16使腫瘤生長延遲大約4天至5天。在第22天(p<0.05)、第23天(p<0.01)及第27天(p<0.01)在群組2 (HL-60、T細胞、媒劑)與群組3 (HL-60、T細胞、16)之間鑑別在第6天至第27天之時期中之統計上顯著差異(利用Bonferroni事後測試之雙因子重複測量ANOVA)。因在群組1中腫瘤之不尋常緩慢生長，在群組1與群組3之間不存在任何統計上顯著差異。

當比較一個接受來自不同供體之T細胞(參見表14)之群組內之隊列1及隊列2中之腫瘤生成時，關於T細胞活性未觀測到任何供體可變性。

實例10顯示，成功研發具有預建立HL-60腫瘤(AML)及腹膜內植

入之人類T細胞之NOD/scid小鼠中之異種移植模型。與媒劑治療之各別對照群組相比，利用串聯雙價抗體16以單一劑量值重複給藥導致腫瘤生長之統計上顯著延遲。所生成之數據與利用CD33/CD3 BiTE™之類似研究所公佈之結果(Aigner等人，2012；Leukemia, 2013, Apr；27(5):1107-15)相當。

實例12

CD33/CD3串聯雙價抗體在NSG小鼠中之AML PDX模型中之效能

使用來自其CD33⁺白血病含有2%至4% CD3⁺ T細胞之AML患者之低溫保存細胞確立NSG小鼠中之AML PDX模型。在將腫瘤細胞注射至經輻照(250 cGy) NSG小鼠後1小時，於200 μL濃注中以兩個靜脈內劑量中之任一者(50 μg或5 μg；n= 8個小鼠/群組)注射CD33/CD3串聯雙價抗體16或12。在接下來4天之每一天實施串聯雙價抗體之額外注射。每週對小鼠稱重一次，且隨後在第38天處死以允許收集末梢血、骨髓及脾用於藉由流式細胞術之分析(huCD33、huCD34、huCD45、muCD45、huCD14、huCD3、huCD4、huCD8及7AAD)。結果係顯示於圖12中。

圖12顯示，38天後未經治療小鼠在骨髓及脾中具有大量人類母細胞。相比之下，利用串聯雙價抗體12或16之每天靜脈內注射治療之小鼠在骨髓及脾中展現實質上較少數量之人類AML母細胞。在兩個劑量值(5 μg/注射及50 μg/注射)下均觀測到CD33/CD3串聯雙價抗體之強勁抗AML效應。

針對兩種CD33/CD3串聯雙價抗體12及16所觀測到之抗AML效應較靶向AML之CD123/CD3 DART®抗體在相同小鼠模型中之效應強勁

得多(Hussaini等人：「Targeting CD123 In Leukemic Stem Cells Using Dual Affinity Re-Targeting Molecules (DARTs®)」 2013年11月15日；Blood: 122 (21))。與消除骨髓及脾中幾乎所有之AML母細胞之CD33/CD3串聯雙價抗體相比，Hussaini等人報導，在2.5 mg/kg及0.25 mg/kg下CD123/CD3 DART®僅使PDX模型中之骨髓及脾中之AML母細胞之數量減少到1/50至1/1000，該等作者進一步報導，在0.5 mg/kg下CD123/CD3 DART™僅使PDX模型中之骨髓及脾中之AML母細胞之數量減少40%至78%。

實例13

CD33/CD3串聯雙價抗體16介導之標靶細胞溶解之迅速發作

為評價CD33/CD3串聯雙價抗體介導之標靶細胞溶解之動力學，實施具有不同培育時間之鈣黃綠素釋放細胞毒性分析。將經鈣黃綠素標記之CD33⁺ HL-60標靶細胞與串聯雙價抗體16之連續稀釋液在作為效應細胞之原代人類T細胞之存在下以25:1之E:T比一起培育30 min、1 h、2 h、3 h、4 h或5 h。在每一時間點處，使用自所溶解標靶細胞釋放之鈣黃綠素並使用非線性回歸/S形劑量-反應計算EC₅₀值及串聯雙價抗體16介導之標靶細胞溶解。**圖13**顯示串聯雙價抗體介導之標靶細胞溶解之意外的迅速發作，且在飽和串聯雙價抗體濃度下在30 min培育後具有超過40%溶解。在4小時培育後，達到超過90%標靶細胞溶解。**表15**及**圖14**概述在介於30 min與5小時間之培育時間下針對串聯雙價抗體16所測定之EC₅₀及特異性溶解值。結果進一步證明，在所用分析條件下在2小時培育後達到最大功效(最低EC₅₀值)並在5小時培育後溶解幾乎所有標靶細胞。該等結果一起證明藉由CD33/CD3串聯雙

價抗體介導之極迅速、強力且有效之標靶細胞溶解。

培育時間 [min]	EC ₅₀ [pM]	串聯雙價抗體 介導之溶解[%]
30	4.8	44.1
60	2.5	59.8
120	1.6	75.1
180	1.6	88.8
240	1.5	93.7
300	1.6	97.4

表15：針對串聯雙價抗體16所測定之EC₅₀及溶解值之動力學

實例14

用於將CD33/CD3串聯雙價抗體投與給AML患者之概念性驗證臨床試驗方案

用於研究CD33/CD3串聯雙價抗體16作為急性骨髓性白血病(AML)之治療之此I/II期臨床試驗。

研究結果：

主要：CD33/CD3串聯雙價抗體16之最大耐受劑量

次要：以確定CD33/CD3串聯雙價抗體16之活體外反應是否與臨床反應有關

I期

將在該試驗之I期部分中測定最大耐受劑量(MTD)。

1.1 將在該試驗之I期部分中測定最大耐受劑量(MTD)。

1.2 滿足合格性準則之患者將進入對CD33/CD3串聯雙價抗體16之試驗。

1.3 目標為鑑別可安全投與且在參與者中無嚴重或難操縱副作

用之CD33/CD3串聯雙價抗體16之最高劑量。所給劑量將取決於先前已入選該研究之參與者數量及該劑量耐受性如何。並非所有參與者均將接受相同劑量。

II期

2.1 後續II期部分將以MTD治療，且目標為確定利用CD33/CD3串聯雙價抗體16療法之療法是否導致至少20%反應率。

II期之主要結果---以確定CD33/CD3串聯雙價抗體16之療法是否導致至少20%之患者達成臨床反應(爆炸性反應(blast response)、輕微反應、部分反應或完全反應)

合格性：

藉由末梢血及骨髓分析證明之滿足WHO準則之AML，排除患有急性早幼粒細胞白血病(APL)之患者

患有AML之患者，其因初治誘導化學療法、復發性疾病或年齡 ≥ 60 而難治且根據治療醫師因年齡、體能狀態及/或不利風險因素而不適於標準細胞毒性療法

年齡 ≥ 18 歲

Karnofsky體能狀態 $\geq 50\%$ 或ECOG體能狀態0至2

預期壽命 ≥ 6 週

雖然已在本文中顯示及闡述了某些實施例，但熟習此項技術者顯而易見，該等實施例僅作為實例提供。熟習此項技術者現將構想出許多變更、改變及取代，此並不背離本發明。應理解，在實踐實施例時可採用本文中所述實施例之多種替代方案。以下申請專利範圍意欲界定本發明範圍並由此涵蓋該等申請專利範圍及其等效形式範圍內之方法及結構。

【序列表】

<110> 美商安菲維那治療公司 (AMPHIVENA THERAPEUTICS, INC.)

<120> 雙特异性CD33及CD3結合蛋白

<130> TW 110105389

<150> US 14/642,497

<151> 2015-03-09

<150> US 62/111,470

<151> 2015-02-03

<150> US 62/019,795

<151> 2014-07-01

<160> 122

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 108

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

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

Thr Ala Met Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Thr Thr 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 Asn Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Ser 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 Gly Ser Asp His
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 2

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

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 Arg 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 Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 3

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<400> 3

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 Arg 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 Gly 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 Thr Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 4

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<400> 4

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 Arg 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 Gly 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 Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 5

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<400> 5

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 Arg 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 Gly 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 Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 6

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<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 Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 7

<211> 111

<212> PRT

<213> 智人

<400> 7

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95

Leu Ser Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 8

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<400> 8

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

Ile 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

Lys Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 9

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<400> 9

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 Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Ser 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 Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 10
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 10
 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 Asp Asn
 20 25 30

Val Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Ser Thr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Ser 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

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 11

<211> 119

<212> PRT

<213> 智人

<400> 11

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Leu Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Lys Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Arg Leu Glu Ser Ala Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 12
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 12
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Phe Ser Tyr Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 13
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 13
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Arg Ala Val Thr Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 14

<211> 122

<212> PRT

<213> 智人

<400> 14

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

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

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

Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Phe Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 15

<211> 122

<212> PRT

<213> 智人

<400> 15

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

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

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

Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Leu Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 16
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 16
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Val Val Pro Ala Ala Ile Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 17
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 17
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg His Lys Arg Gly Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 18

<211> 122

<212> PRT

<213> 智人

<400> 18

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

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

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

Gly Gly Ile Tyr Pro Ile Phe Gly Ser Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Glu Trp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19

<211> 122

<212> PRT

<213> 智人

<400> 19

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

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

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ser Ala His Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Glu Trp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 20
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 20
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

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

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ser Ala His Tyr Ser Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Glu Trp Ala Phe Asp Ile Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 21
 Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Thr Thr Val His
 1 5 10

<210> 22
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22
Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn
1 5 10

<210> 23
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn
1 5 10

<210> 24
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24
Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 25
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 25
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ile Val Asn
1 5 10

<210> 26
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 27

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asp Asn Val Val Asn

1 5 10

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 28

Asp Asp Asn Glu Arg Pro Ser

1 5

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 29

Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 30

Ser Asp Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 31

Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 32
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32
Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33
Ser Asn Asn Gln Arg Ser Ser
1 5

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 34
Ser Thr Asn Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35
Gln Val Trp Asp Ser Gly Ser Asp His
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 36
Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu Ile Gly
1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 37

Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 38

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Asp

1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 39

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Lys Gly

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 40

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly

1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 41

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Ala

1 5

<210> 42
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 42
Ser Asn Tyr Gly Ile His
1 5

<210> 43
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 43
Thr Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 44
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 44
Thr Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 45
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45
Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5

<210> 46
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46
Ser Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 47

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 47

Ser Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 48

Asp Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 49

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<400> 49

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

1 5 10 15

Gly

<210> 50

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<400> 50

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 51
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人

<400> 51
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
1 5 10 15

Gln Gly

<210> 52
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52
Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 53
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53
Gly Ile Tyr Pro Ile Phe Gly Ser Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 54
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 54
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ser Ala His Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 55

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<400> 55

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ser Ala His Tyr Ser Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 56

Asp Arg Leu Glu Ser Ala Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 57

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 57

Asp Arg Ala Asn Thr Asp Phe Ser Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 58

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 58

Asp Arg Ala Val Thr Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 59
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59
Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Phe Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 60
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 60
Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Leu Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 61
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61
Asp Val Val Pro Ala Ala Ile Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62
His Lys Arg Gly Ser Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 63
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63
Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Glu Trp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 64
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 64
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80

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

Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 65
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 65
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80

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

Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 66

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 66

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80

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

Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 67

<211> 125

<212> PRT

<213> 智人

<400> 67

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 68
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 68
 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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 69
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 69
 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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 70

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<400> 70

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 71
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 71
 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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 72
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 72
 Ser Thr Tyr Ala Met Asn
 1 5

<210> 73
 <211> 19

<212> PRT
<213> 智人

<400> 73
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 74
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 75
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 76
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 76
Asn Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 77
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77
Asn Thr Tyr Ala Met His
1 5

<210> 78

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 78

Asn Lys Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 79

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 79

Arg Ile Arg Asn Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 80

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 80

Arg Ile Arg Asn Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 81

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 81

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 82

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 82

Arg Ile Arg Asn Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 83

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 83

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 84

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人

<400> 84

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Ser

<210> 85

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 85

His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 86

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 86

His Gly Asn Phe Gly Asn Thr Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 87

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 87

His Gly Asn Phe Gly Cys Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 88

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 88

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 89

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 89

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 90

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 90

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 91

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 92

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu
1 5

<210> 93

<211> 242

<212> PRT

<213> 智人

<400> 93

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

Arg Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp Asn
 85 90 95

Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser Tyr
 100 105 110

Lys Ser Pro Gln Leu Ser Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg Pro
 115 120 125

Lys Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Pro Gly His Ser Lys Asn Leu
 130 135 140

Thr Cys Ser Val Ser Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile Phe
 145 150 155 160

Ser Trp Leu Ser Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr His
 165 170 175

Ser Ser Val Leu Ile Ile Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr Asn
 180 185 190

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

Thr Ile Gln Leu Asn Val Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr Gly
 210 215 220

Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly Val
 225 230 235 240

Val His

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 94

Asp Gln Glu Val Gln Glu Glu Thr Gln

1 5

<210> 95

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 95

Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 96

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 96

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 97

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 97

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 98

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 98

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Phe Ser Tyr Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 99

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 99

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg

50

55

60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Val Thr Asp Tyr Tyr Tyr Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
 260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
 275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn

450

455

460

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 100

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 100

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Phe Gly
 210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
 245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
 260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
 275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 101

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 101

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Leu Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Phe Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr
245 250 255

Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile
 260 265 270

Gly Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro
 275 280 285

Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp
 290 295 300

Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser
 305 310 315 320

Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp
 325 330 335

Asp Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
 340 345 350

Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 355 360 365

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 370 375 380

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
 385 390 395 400

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn
 405 410 415

Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser
 420 425 430

Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
 435 440 445

Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly
 450 455 460

Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 465 470 475 480

Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490 495

<210> 103

<211> 495

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 103

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Leu Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr
245 250 255

Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile
260 265 270

Gly Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro
275 280 285

Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp
290 295 300

Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser
305 310 315 320

Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp

325

330

335

Asp Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
 340 345 350

Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 355 360 365

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 370 375 380

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
 385 390 395 400

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn
 405 410 415

Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser
 420 425 430

Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
 435 440 445

Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly
 450 455 460

Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 465 470 475 480

Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490 495

<210> 104

<211> 491

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 104

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
 115 120 125

Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser
 130 135 140

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

Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Lys Lys Phe Tyr
 165 170 175

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys
 180 185 190

Asn Thr Val Asp Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Arg Leu Glu Ser Ala Ala Phe Asp Tyr
 210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly
 245 250 255

Gln Thr Ala Met Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Thr Thr
 260 265 270

Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val
 275 280 285

Tyr Asp Asp Asn Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly
 290 295 300

Ser Asn Ser Gly Ser Thr Ala Thr Leu Thr Ile Asn Arg Val Glu Ala
 305 310 315 320

Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Ser Asp
 325 330 335

His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Ser
 340 345 350

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 355 360 365

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 370 375 380

Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 385 390 395 400

Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
 405 410 415

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 420 425 430

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
 435 440 445

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
 450 455 460

Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 465 470 475 480

Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 105

<211> 496

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 105

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 Arg 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 Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
115 120 125

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
130 135 140

Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
165 170 175

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
180 185 190

Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp
195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
210 215 220

Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225 230 235 240

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
245 250 255

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser

260

265

270

Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln
 275 280 285

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg
 290 295 300

Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys
 305 310 315 320

Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
 325 330 335

Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr
 340 345 350

Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
 355 360 365

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
 370 375 380

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val
 385 390 395 400

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro
 405 410 415

Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
 420 425 430

Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser
 435 440 445

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala
 450 455 460

Asn Thr Asp Phe Ser Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
465 470 475 480

Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
485 490 495

<210> 106

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 106

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Phe Ser Tyr Gly
 210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
 245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
 260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
 275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
450 455 460

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
485 490

<210> 107

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 107

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala

195

200

205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Phe Gly
 210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
 245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
 260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
 275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 108

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 108

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Leu Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
 275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 109

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 109

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr

130

135

140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Val Thr Asp Tyr Tyr Tyr Gly
 210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
 245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
 260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
 275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 110

<211> 483

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 110

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Val Thr Asp Tyr Tyr Tyr Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser

<210> 111

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 111

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
450 455 460

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

465

470

475

480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 112

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 112

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Phe
165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Phe Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 113

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 113

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

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Ala Asn Thr Asp Tyr Ser Leu Gly
210 215 220

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly
260 265 270

Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp
325 330 335

Ser Leu Ile Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr

405

410

415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 114

<211> 492

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 114

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser
130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr
165 170 175

Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile
180 185 190

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
195 200 205

Met Tyr Tyr Cys Ala Arg His Lys Arg Gly Ser Asp Ala Phe Asp Ile
210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gln
225 230 235 240

Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg
245 250 255

Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr
260 265 270

Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
275 280 285

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
290 295 300

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
305 310 315 320

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
325 330 335

Ser Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
340 345 350

Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
355 360 365

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
370 375 380

Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
385 390 395 400

Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
405 410 415

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
420 425 430

Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp
435 440 445

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
450 455 460

Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
465 470 475 480

Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 115

<211> 492

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 115

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80

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

Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
 115 120 125

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

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

Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala
165 170 175

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile
195 200 205

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

Asp Ser Ser Leu Ser Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
225 230 235 240

Val Leu Gly Gly Ser Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
245 250 255

Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly
260 265 270

Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly
275 280 285

Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr
290 295 300

Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys
305 310 315 320

Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp
325 330 335

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg His Lys Arg Gly Ser Asp Ala Phe

340

345

350

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser
 355 360 365

Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
 370 375 380

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala
 385 390 395 400

Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 405 410 415

Ala Pro Lys Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val
 420 425 430

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Thr Leu Thr
 435 440 445

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Leu
 450 455 460

Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 465 470 475 480

Lys Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 116

<211> 495

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 116

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Val Val Pro Ala Ala Ile Asp Tyr Tyr
210 215 220

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr
245 250 255

Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile
260 265 270

Gly Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro
275 280 285

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp
290 295 300

Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser
305 310 315 320

Gly Leu Gln Ser Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp
325 330 335

Asp Ser Leu Asn Gly Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
340 345 350

Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
355 360 365

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
370 375 380

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
385 390 395 400

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn
405 410 415

Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser
 420 425 430

Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
 435 440 445

Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly
 450 455 460

Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 465 470 475 480

Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490 495

<210> 117

<211> 484

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 117

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr
165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
180 185 190

Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Val Val Pro Ala Ala Ile Asp Tyr Tyr
210 215 220

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr
245 250 255

Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile
260 265 270

Gly Ser Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro

275

280

285

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp
 290 295 300

Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser
 305 310 315 320

Gly Leu Gln Ser Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp
 325 330 335

Asp Ser Leu Asn Gly Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
 340 345 350

Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 355 360 365

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 370 375 380

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
 385 390 395 400

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn
 405 410 415

Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser
 420 425 430

Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
 435 440 445

Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly
 450 455 460

Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 465 470 475 480

Thr Val Ser Ser

<210> 118

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 118

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
 130 135 140

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Tyr Pro Ile Phe Gly Ser Ala Asn Tyr
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Glu Trp Ala
 210 215 220

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
 245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly
 260 265 270

Ser Asn Ile Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
 275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Lys Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 119

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 119

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
 130 135 140

Phe Ser Ser Tyr Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ser Ala His Tyr
 165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr
 180 185 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Glu Trp Ala

210

215

220

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
 245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly
 260 265 270

Ser Asn Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
 275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 120

<211> 483

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 120

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Phe Ser Ser Tyr Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ser Ala His Tyr
165 170 175

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr
180 185 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Glu Trp Ala
210 215 220

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly
260 265 270

Ser Asn Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg
 290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp
 325 330 335

Ser Leu Asn Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser

<210> 121

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 121

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 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 20 25 30

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

Ala Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

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

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

Asn Leu Trp Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
 130 135 140

Phe Asp Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly

145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ser Ala His Tyr
165 170 175

Ser Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr
180 185 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Glu Trp Ala
210 215 220

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro
245 250 255

Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly
260 265 270

Asp Asn Val Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys
275 280 285

Leu Leu Ile Tyr Ser Thr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
290 295 300

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly
305 310 315 320

Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp
325 330 335

Ser Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
340 345 350

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 355 360 365

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 370 375 380

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
 405 410 415

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 420 425 430

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
 435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 450 455 460

Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 465 470 475 480

Val Ser Ser Ala Ala Ala Gly Ser His His His His His His
 485 490

<210> 122

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成6xHis標籤

<400> 122

His His His His His His

1

5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種對人類CD33及人類CD3具有特異性之雙特異性抗原結合串聯雙價抗體(diabody)，其中該串聯雙價抗體包含第一多肽及第二多肽，每一多肽具有至少四個相繼地連接之可變鏈結構域，其中每一多肽包含

- (i) 對人類CD33具有特異性之可變重鏈(VH)結構域；
- (ii) 對人類CD33具有特異性之可變輕鏈(VL)結構域；
- (iii) 對人類CD3具有特異性之VH結構域，及
- (iv) 對人類CD3具有特異性之VL結構域，且

其中在每一多肽中，該四個可變鏈結構域係藉由肽連接體L1、L2及L3以下列順序相繼地連接：

VL(CD3)-L1-VH(CD33)-L2-VL(CD33)-L3-VH(CD3)；

VH(CD3)-L1-VL(CD33)-L2-VH(CD33)-L3-VL(CD3)；

VL(CD33)-L1-VH(CD3)-L2-VL(CD3)-L3-VH(CD33)；或

VH(CD33)-L1-VL(CD3)-L2-VH(CD3)-L3-VL(CD33)，

其中該對人類CD33具有特異性之VL結構域包含由選自由SEQ ID NO: 21至27組成之群之序列組成之CDR1、由選自由SEQ ID NO: 28至34組成之群之序列組成之CDR2及由SEQ ID NO: 35至41組成之群之序列組成之CDR3，且

其中該對人類CD33具有特異性之VH結構域包含由選自由SEQ ID NO: 42至48組成之群之序列組成之CDR1、由選自由SEQ ID NO: 49至55組成之群之序列組成之CDR2及由選自由SEQ ID NO: 56至63組成之

群之組成之CDR3。

【請求項2】

如請求項1之雙特異性串聯雙價抗體，其中該對人類CD33具有特異性之VL結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由以下組成之群之序列：

- (i) SEQ ID NO: 21、28及35；
- (ii) SEQ ID NO: 22、29及36；
- (iii) SEQ ID NO: 23、30及37；
- (iv) SEQ ID NO: 24、31及38；
- (v) SEQ ID NO: 25、32及39；
- (vi) SEQ ID NO: 26、33及40；及
- (vii) SEQ ID NO: 27、34及41。

【請求項3】

如請求項1之雙特異性串聯雙價抗體，其中該對CD33具有特異性之VH結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由以下組成之群之序列：

- (i) SEQ ID NO: 42、49及56；
- (ii) SEQ ID NO: 43、50及57；
- (iii) SEQ ID NO: 43、50及58；
- (iv) SEQ ID NO: 43、50及59；
- (v) SEQ ID NO: 43、50及60；
- (vi) SEQ ID NO: 44、51及61；
- (vii) SEQ ID NO: 45、52及62；
- (viii) SEQ ID NO: 46、53及63；

- (ix) SEQ ID NO: 47、54及63；及
- (x) SEQ ID NO: 48、55及63。

【請求項4】

如請求項2之雙特異性串聯雙價抗體，其中該對CD33具有特異性之VH結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由以下組成之群之序列：

- (i) SEQ ID NO: 42、49及56；
- (ii) SEQ ID NO: 43、50及57；
- (iii) SEQ ID NO: 43、50及58；
- (iv) SEQ ID NO: 43、50及59；
- (v) SEQ ID NO: 43、50及60；
- (vi) SEQ ID NO: 44、51及61；
- (vii) SEQ ID NO: 45、52及62；
- (viii) SEQ ID NO: 46、53及63；
- (ix) SEQ ID NO: 47、54及63；及
- (x) SEQ ID NO: 48、55及63。

【請求項5】

如請求項3之雙特異性串聯雙價抗體，其中該對CD3具有特異性之VH結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由SEQ ID NO: 72至75組成之群之序列。

【請求項6】

如請求項3之雙特異性串聯雙價抗體，其中該對CD3具有特異性之VL結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由SEQ ID NO: 90至92組成之群之序列。

【請求項7】

如請求項4之雙特異性串聯雙價抗體，其中該對CD3具有特異性之VH結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由SEQ ID NO: 72至75組成之群之序列。

【請求項8】

如請求項4之雙特異性串聯雙價抗體，其中對CD3具有特異性之VL結構域之CDR1、CDR2及CDR3為選自由SEQ ID NO: 90至92組成之群之序列。

【請求項9】

一種對人類CD33及人類CD3具有特異性之雙特異性抗原結合串聯雙價抗體(diabody)，其中該串聯雙價抗體包含第一多肽及第二多肽，每一多肽具有至少四個相繼地連接之可變鏈結構域，其中每一多肽包含

- (i) 對人類CD33具有特異性之可變重鏈(VH)結構域；
- (ii) 對人類CD33具有特異性之可變輕鏈(VL)結構域；
- (iii) 對人類CD3具有特異性之VH結構域，及
- (iv) 對人類CD3具有特異性之VL結構域，且

其中在每一多肽中，該四個可變鏈結構域係藉由肽連接體L1、L2及L3以下列順序相繼地連接：

VL(CD3)-L1-VH(CD33)-L2-VL(CD33)-L3-VH(CD3)；

VH(CD3)-L1-VL(CD33)-L2-VH(CD33)-L3-VL(CD3)；

VL(CD33)-L1-VH(CD3)-L2-VL(CD3)-L3-VH(CD33)；或

VH(CD33)-L1-VL(CD3)-L2-VH(CD3)-L3-VL(CD33)，

其中該對人類CD33具有特異性之VL結構域包含由SEQ ID NO: 22組成之CDR1、由SEQ ID NO: 29組成之CDR2及由SEQ ID NO: 36組成之CDR3，且

其中該對人類CD33具有特異性之VH結構域包含由SEQ ID NO: 43組成之CDR1、由SEQ ID NO: 50組成之CDR2及由SEQ ID NO: 57組成之CDR3。

【請求項10】

如請求項9之雙特異性串聯雙價抗體，其中該對CD3具有特異性之VH結構域之CDR1、CDR2及CDR3係分別由SEQ ID NO: 72、73及75組成之序列。

【請求項11】

如請求項9之雙特異性串聯雙價抗體，其中該對CD3具有特異性之VL結構域之CDR1、CDR2及CDR3係分別由SEQ ID NO: 90、91及92組成之序列。

【請求項12】

一種如請求項1至11中任一項之雙特異性串聯雙價抗體之用途，其係用於製造用以治療CD33⁺癌症之醫藥品。

【請求項13】

如請求項12之用途，其中該CD33⁺癌症為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、前體B細胞淋巴母細胞性白血病、骨髓樣肉瘤、多發性骨髓瘤、急性淋巴瘤、急性淋巴母細胞淋巴瘤或慢性骨髓單核球性白血病(CMML)。

【請求項14】

如請求項12之用途，其中該CD33⁺癌症為急性骨髓性白血病(AML)。

【請求項15】

請求項14之用途，其中該AML為具有復發性遺傳異常之AML、具有骨髓發育不良相關變化之AML、治療相關之骨髓樣腫瘤、骨髓樣肉瘤、與唐氏症候群(Down syndrome)相關之骨髓增生(Myeloid proliferations)、母細胞性漿細胞樣樹突細胞腫瘤或未另外分類之AML。

【請求項16】

如請求項14之用途，其中該AML為AML-M0、AML-M1、AML-M2、AML-M3、AML-M4、AML-M5、AML-M6或AML-M7。

【請求項17】

如請求項14至16中任一項之用途，其中該AML為新診斷的、復發性的或難治性的。

【請求項18】

如請求項12之用途，其中該醫藥品進一步包含以下或係用於與以下併用：阿糖胞苷(cytarabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、地西他濱(decitabine)、蒽環(anthracycline)、氟達拉濱(fludarabine)、氯法拉濱(clofarabine)、克拉屈濱(cladribine)、奈拉濱(nelarabine)、胺甲喋呤(methotrexate)、硼替佐米(bortezomib)、卡非佐米(carfilzomib)、美法侖(melphalan)、依魯替尼(ibrutinib)、沙利度胺(thalidomide)、雷利度胺(lenalidomide)、泊馬度胺(pomalidomide)、阿普斯特(apremilast)、表鬼臼毒素(epipodophyllotoxin)、蒽醌(anthracenedione)、抗CD20劑

或其組合。

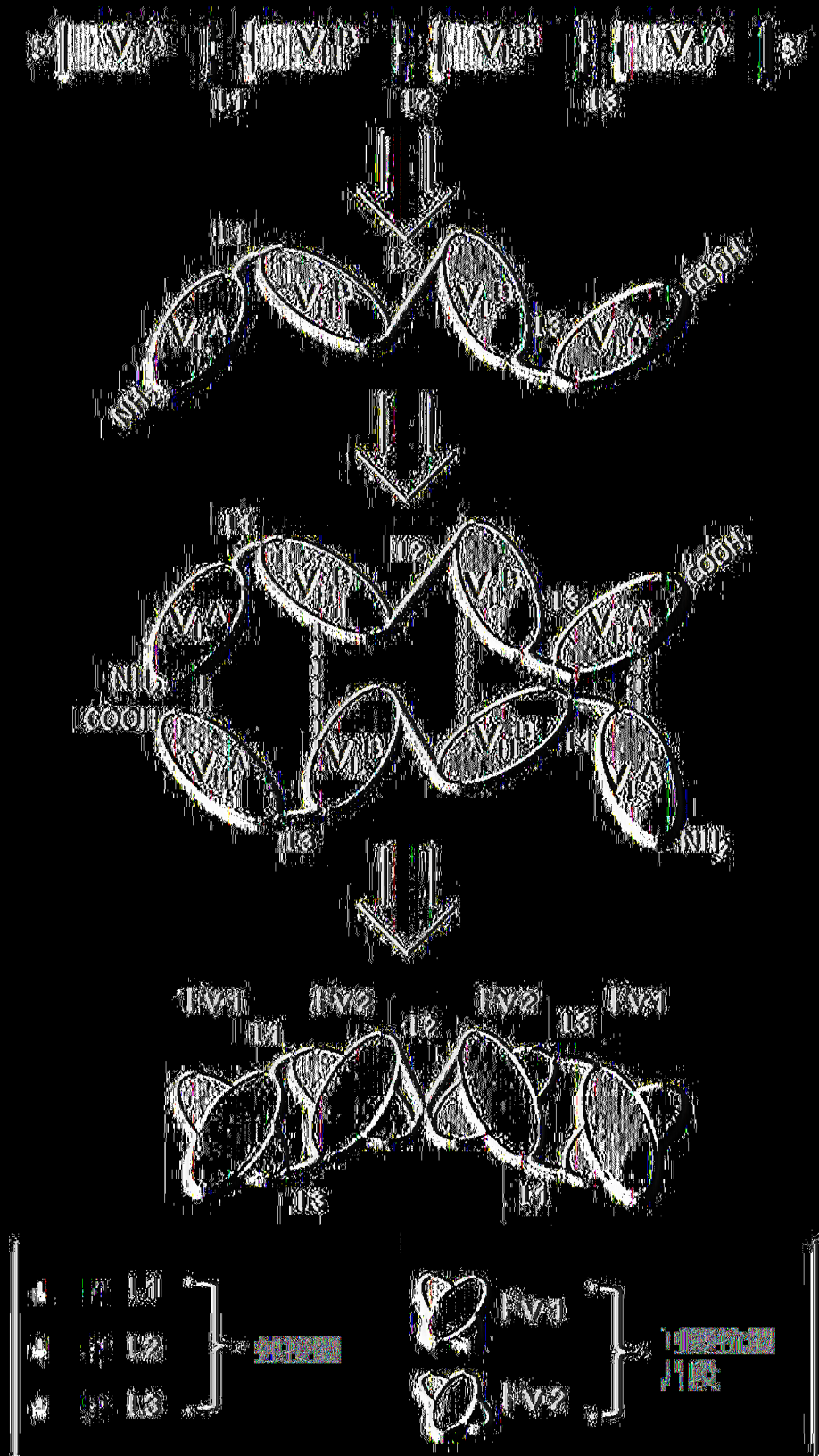
【請求項19】

一種如請求項1至11中任一項之雙特異性串聯雙價抗體之用途，其係用於製造用以治療骨髓發育不良症候群(MDS)之醫藥品。

【請求項20】

如請求項19之用途，其特徵在於該醫藥品進一步包含以下或係用於以下併用：阿糖胞苷、阿紮胞苷、地西他濱、蔥環、安吡啶(amsacrine)、氟達拉濱、氯法拉濱、克拉屈濱、奈拉濱、胺甲喋呤、硼替佐米、卡非佐米、美法侖、依魯替尼、沙利度胺、雷利度胺、泊馬度胺、阿普斯特、表鬼臼毒素、蔥醌、抗CD20劑或其組合。

(發明圖式)



(圖1)

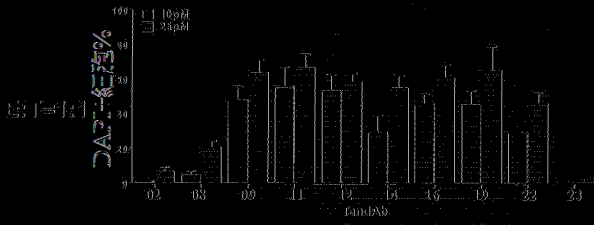


(圖2)

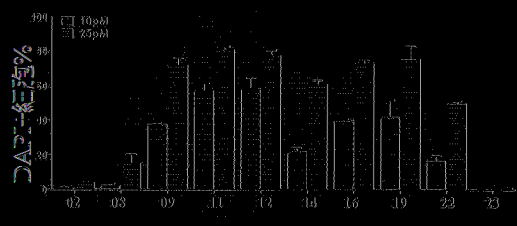
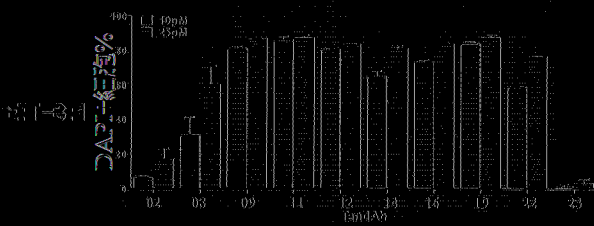


(圖3)

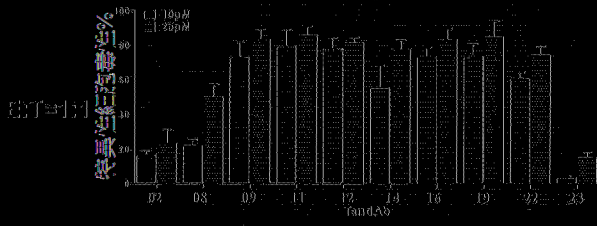
負T細胞選擇



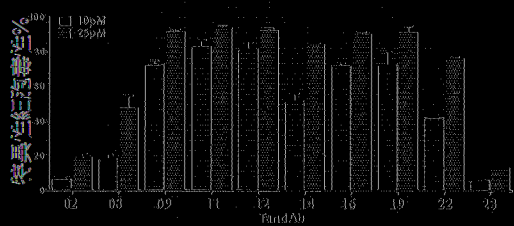
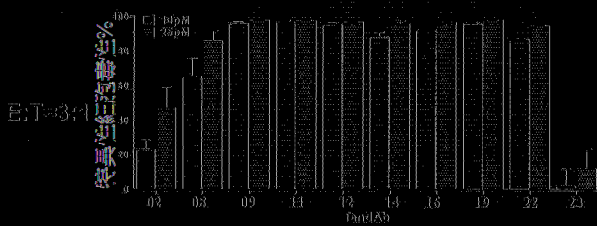
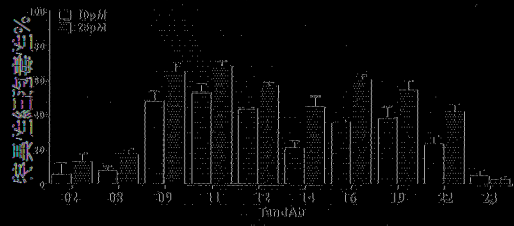
正T細胞選擇



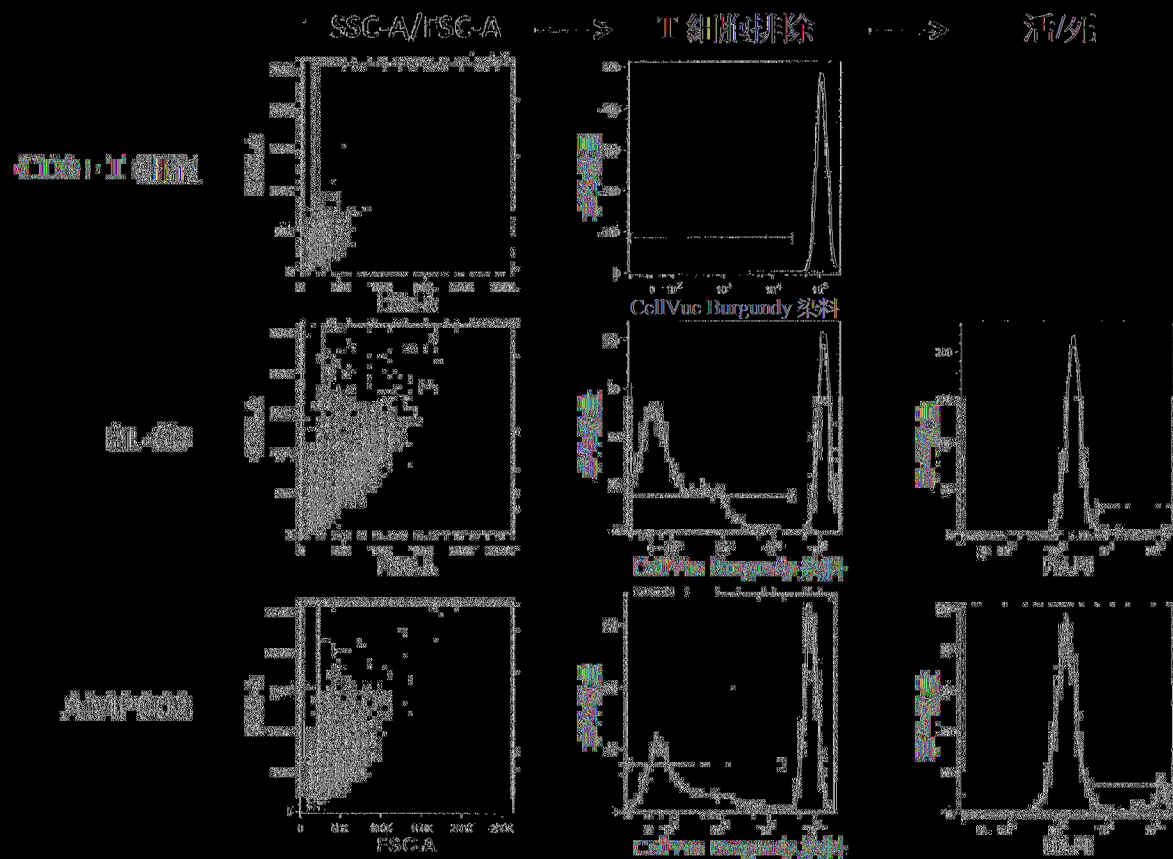
負T細胞選擇



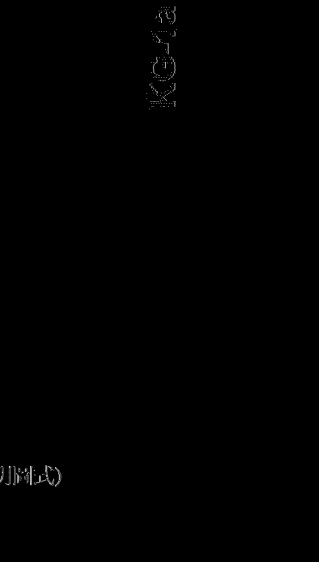
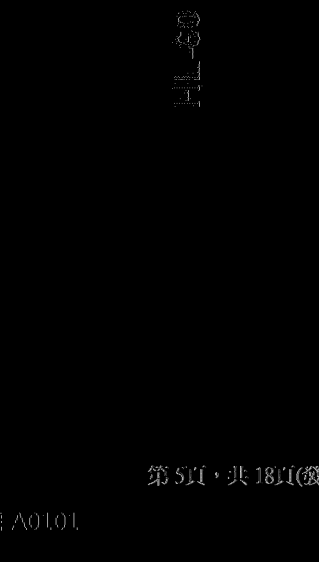
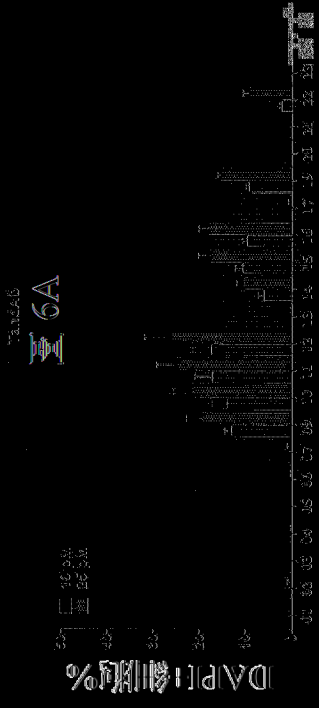
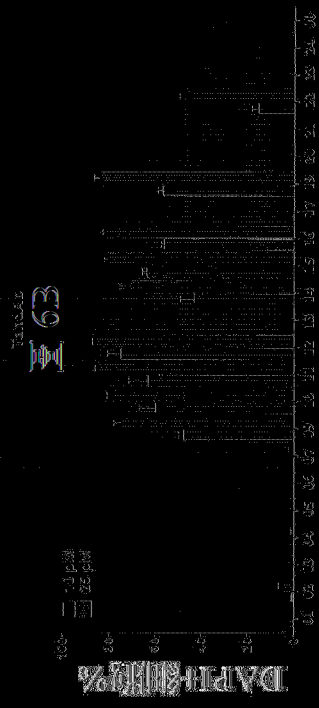
正T細胞選擇



(11/14)



(F-15)



HLL

未添加任何健康供體 T 細胞

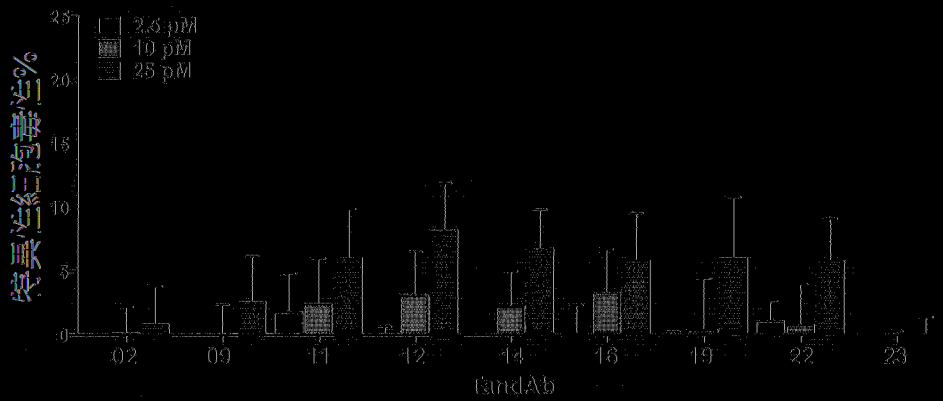


圖 8A

添加 1:1 健康供體 T 細胞

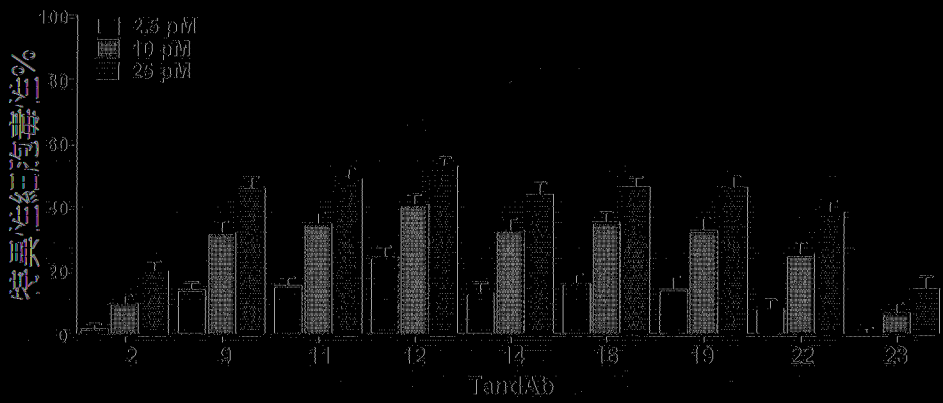


圖 8B

添加 1:10 健康供體 T 細胞

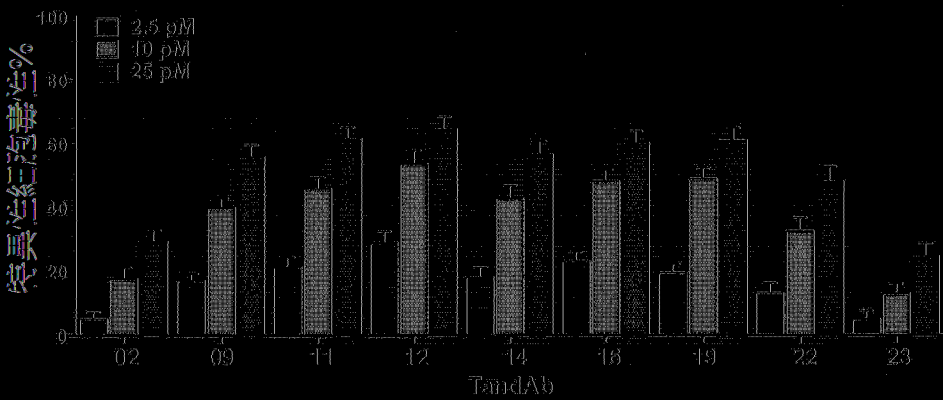
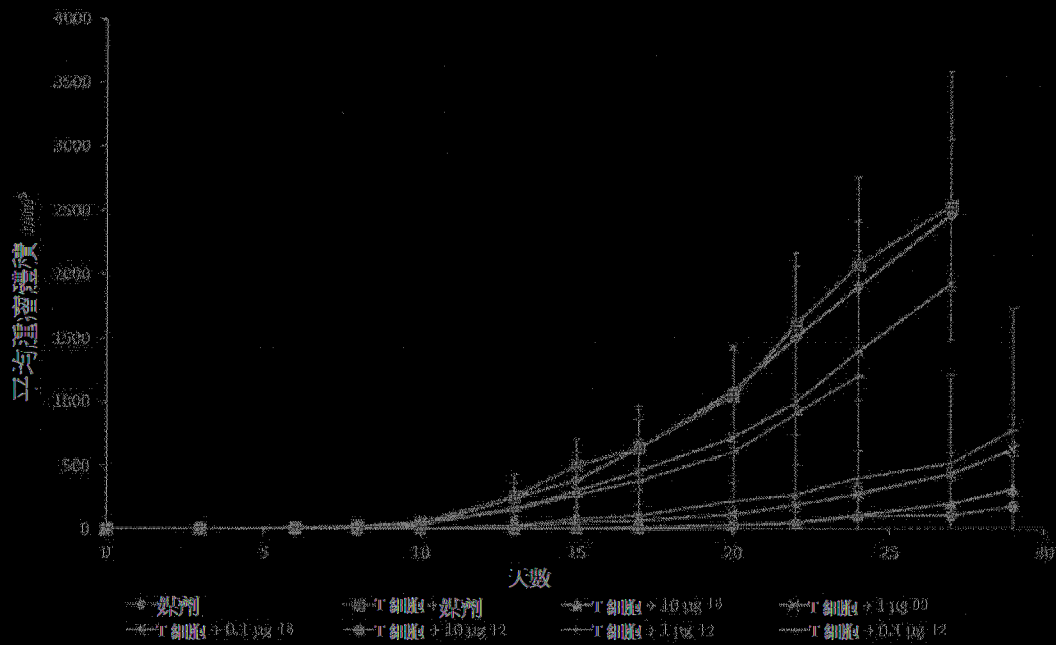
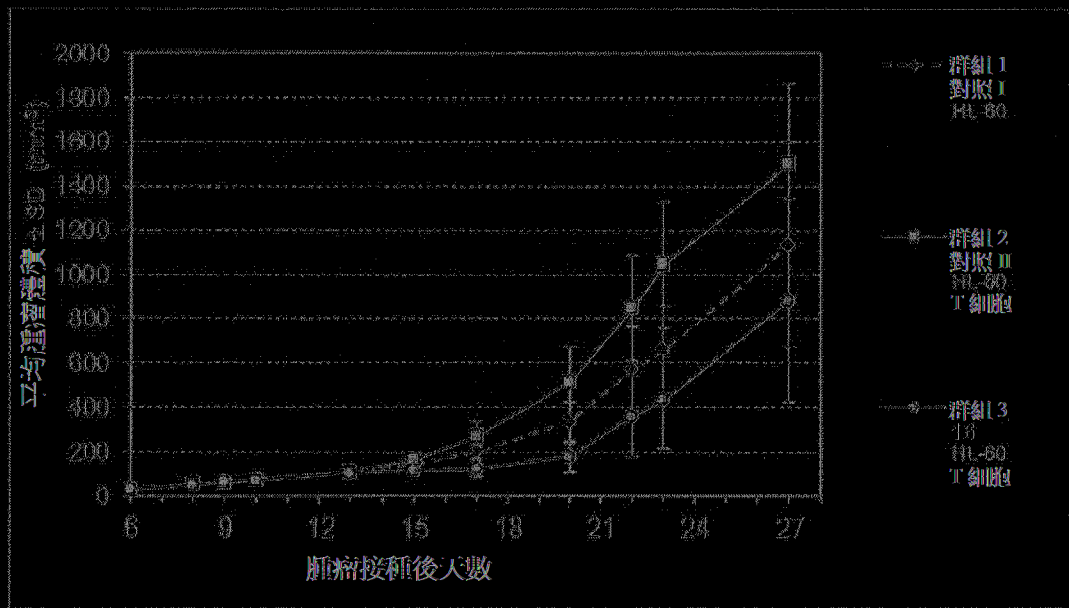


圖 8C

(圖 8)



(圖10)



(圖11)

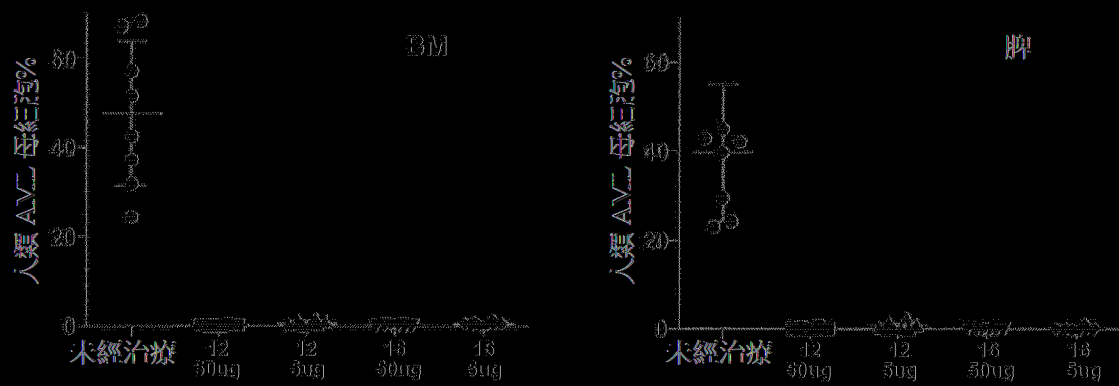


圖 12A

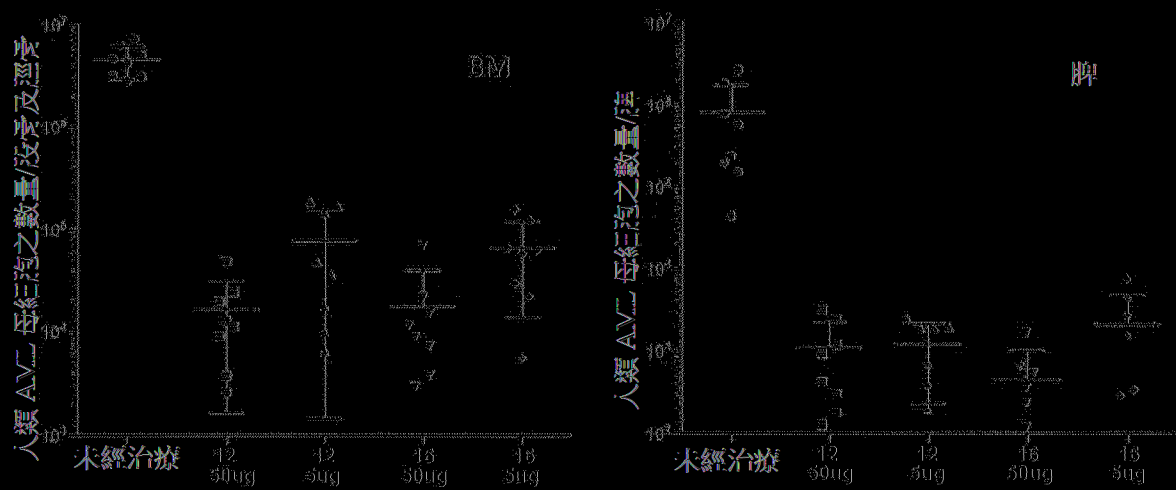
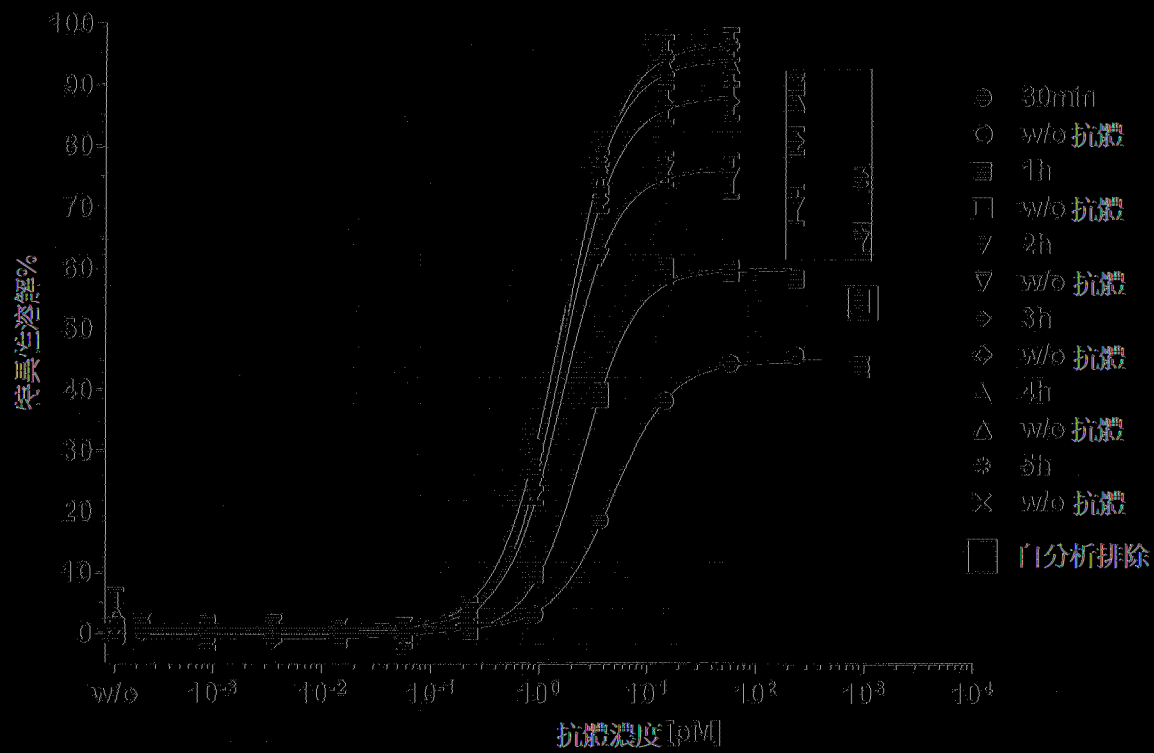
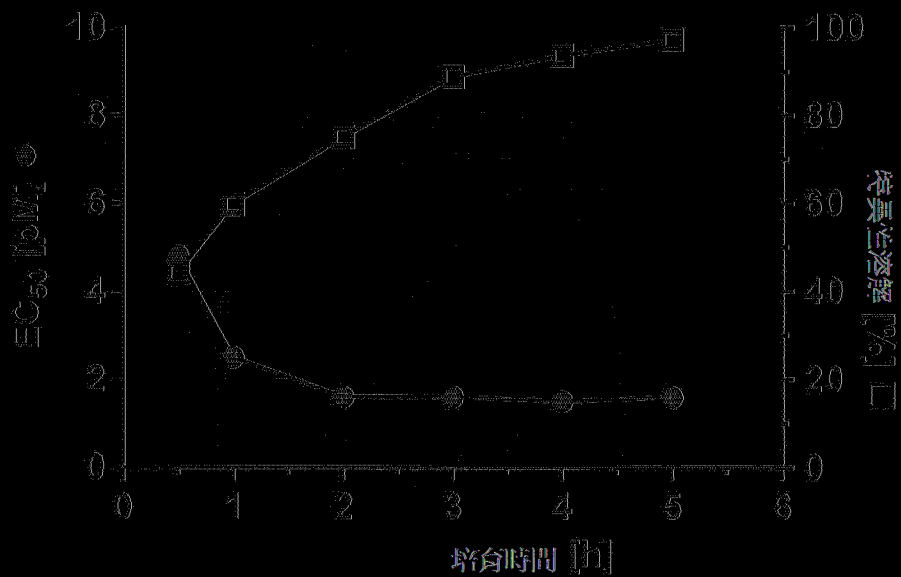


圖 12B

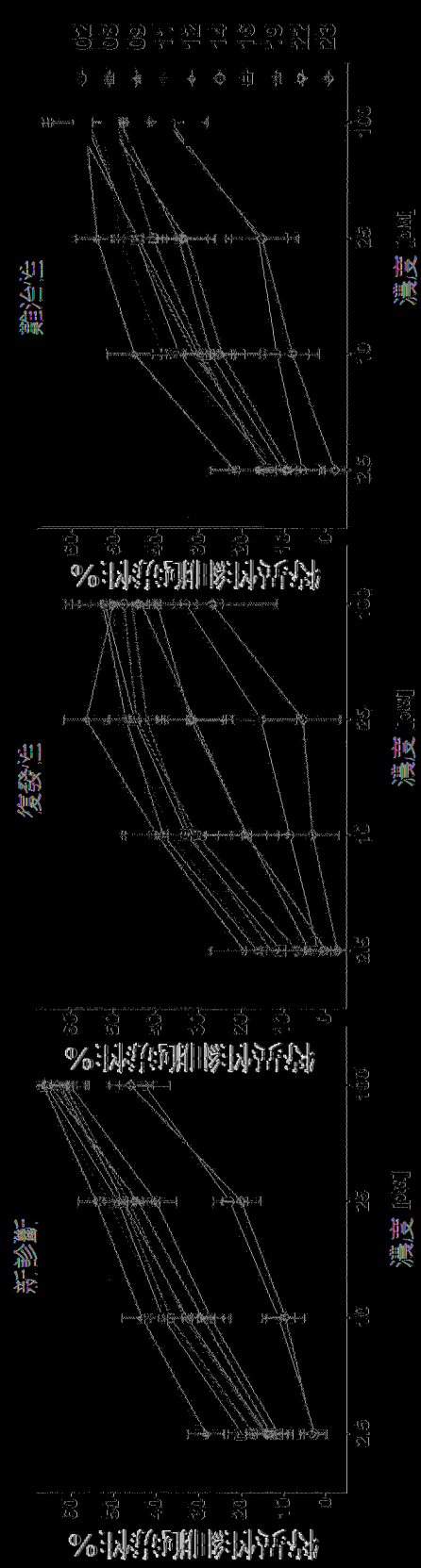
(圖 12)



(圖13)



(圖14)



(圖 5)