



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I783914 B

(45) 公告日：中華民國 111 (2022) 年 11 月 21 日

(21) 申請案號：105130880

(22) 申請日：中華民國 105 (2016) 年 09 月 23 日

(51) Int. Cl. : C07K14/47 (2006.01)

A61K39/385 (2006.01)

(30) 優先權：2015/09/23 美國

62/222,605

(71) 申請人：美商再生元醫藥公司 (美國) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72) 發明人：史密斯 艾瑞克 SMITH, ERIC (US)；哈貝爾 勞瑞斯 HABER, LAURIC (FR)；鮑比 羅伯特 BABB, ROBERT (US)；陳 剛 CHEN, GANG (US)；麥克唐納 道格拉斯 MACDONALD, DOUGLAS (US)

(74) 代理人：林秋琴；陳彥希；何愛文

(56) 參考文獻：

CN 104704004A

WO 2014/047231A1

審查人員：施雅儀

申請專利範圍項數：18 項 圖式數：2 共 252 頁

(54) 名稱

最優化抗 CD 3 雙特異性抗體及其用途

(57) 摘要

本發明係提供以微弱或未檢出的結合親和力與 CD3 結合之抗體及彼等之使用方法。根據特定的實施例，本發明之抗體係以低親和力與人類 CD3 結合並引發人類 T 細胞增生及因而以高效力引發 T 細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺。根據特定的實施例，本發明係提供雙特異性抗原結合分子，其係包括在活體外分析中以微弱或未檢出的結合親和力與人類 CD3 特異性結合之第一抗原結合區，及與人類腫瘤-相關抗原特異性結合之第二抗原結合分子。在特定的實施例中，本發明之雙特異性抗原結合分子能抑制表現目標抗原，例如 PSMA 之腫瘤生長。本發明之抗體和雙特異性抗原結合分子可用於治療其中上調或引發靶向免疫反應為所欲的及/或治療上有利之疾病和病症。例如，本發明之抗體可用於治療各種癌症或其他，其中免疫治療，亦即效應細胞免疫調節證明為正當之疾病。

The present invention provides antibodies that bind to CD3 with weak or no detectable binding affinity and methods of using the same. According to certain embodiments, the antibodies of the invention bind human CD3 with low affinity and induce human T cell proliferation and hence induce T cell-mediated killing of tumor cells with high efficacy. According to certain embodiments, the present invention provides bispecific antigen-binding molecules comprising a first antigen-binding domain that specifically binds human CD3 with weak or no detectable binding affinity in an in vitro assay, and a second antigen-binding molecule that specifically binds human tumor-associated antigen. In certain embodiments, the bispecific antigen-binding molecules of the present invention are capable of inhibiting the growth of tumors expressing target antigen, such as PSMA. The antibodies and bispecific antigen-binding molecules of the invention are useful for the treatment of diseases and disorders in which an upregulated or induced targeted immune response is desired and/or therapeutically beneficial. For example, the antibodies of the invention are useful

I783914

TW I783914 B

for the treatment of various cancers or other diseases where immunotherapy, i.e. effector cell immunomodulation is warranted.

I783914

發明摘要

※ 申請案號：105130880

※ 申請日：105/09/23

※IPC 分類：*C07K 14/47* (2006.01)
A61K 39/385 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

最優化抗CD3雙特異性抗體及其用途

OPTIMIZED ANTI-CD3 BISPECIFIC ANTIBODIES AND USES THEREOF

【中文】

本發明係提供以微弱或未檢出的結合親和力與CD3結合之抗體及彼等之使用方法。根據特定的實施例，本發明之抗體係以低親和力與人類CD3結合並引發人類T細胞增生及因而以高效力引發T細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺。根據特定的實施例，本發明係提供雙特異性抗原結合分子，其係包括在活體外分析中以微弱或未檢出的結合親和力與人類CD3特異性結合之第一抗原結合區，及與人類腫瘤-相關抗原特異性結合之第二抗原結合分子。在特定的實施例中，本發明之雙特異性抗原結合分子能抑制表現目標抗原，例如PSMA之腫瘤生長。本發明之抗體和雙特異性抗原結合分子可用於治療其中上調或引發靶向免疫反應為所欲的及/或治療上有利之疾病和病症。例如，本發明之抗體可用於治療各種癌症或其他，其中免疫治療，亦即效應細胞免疫調節證明為正當之疾病。

【英文】

The present invention provides antibodies that bind to CD3 with weak or no detectable binding affinity and methods of using the same. According to certain embodiments, the antibodies of the invention bind human CD3 with low

affinity and induce human T cell proliferation and hence induce T cell-mediated killing of tumor cells with high efficacy. According to certain embodiments, the present invention provides bispecific antigen-binding molecules comprising a first antigen-binding domain that specifically binds human CD3 with weak or no detectable binding affinity in an *in vitro* assay, and a second antigen-binding molecule that specifically binds human tumor-associated antigen. In certain embodiments, the bispecific antigen-binding molecules of the present invention are capable of inhibiting the growth of tumors expressing target antigen, such as PSMA. The antibodies and bispecific antigen-binding molecules of the invention are useful for the treatment of diseases and disorders in which an upregulated or induced targeted immune response is desired and/or therapeutically beneficial. For example, the antibodies of the invention are useful for the treatment of various cancers or other diseases where immunotherapy, *i.e.* effector cell immunomodulation is warranted.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

最優化抗CD3雙特異性抗體及其用途

OPTIMIZED ANTI-CD3 BISPECIFIC ANTIBODIES AND USES THEREOFv

【技術領域】

序列表之參照

【0001】 本申請案係以電腦可讀取形式之參照序列表提出，存檔為10151WO01_ST25.txt，其係於2016年9月22日所建立並含有264,418位元。

【0002】 本發明係關於以效應子抗原，例如CD3抗原和腫瘤相關抗原為目標之雙特異性抗體，以及殺死腫瘤的方法。本發明係關於降低或消除腫瘤負荷並控制可能與腫瘤免疫治療有關的毒性副作用。本發明係提供雙特異性抗體，其係包括以微弱親和力或以未檢出的結合親和力與效應子抗原結合之效應子臂，例如抗-CD3抗原結合臂，其在一活體外親和力分析中，係以大於約500 nM之 K_D 與CD3結合。

【先前技術】

【0003】 治療性雙特異性抗體(bsAb)之前景，特別是在腫瘤免疫治療中，係瞄準橋接多重抗原目標，以便對帶有不欲目標之細胞或生物體引出更健全先天免疫反應。

【0004】 為了媒介重新定向的溶離，bsAb 必須直接聚集一目標細胞與一效應細胞，例如 T 細胞上的觸發分子，目前已完全建立。在 bsAb 設計上有許多因素須考慮，例如大小和組成將影響活體內的生物分布和穩定性 (Segal, DM, Weiner, GJ, and Weiner, LM. *Current Opinion in Immunol* 1999,

11: 558-562 ; Chames, P. and Baty, D. *MAbs*. 2009, 1(6): 539–547)。依照所欲觸發反應之 T 細胞亞群，以及所欲刺激的 T 細胞狀態，分化結果難以預測。眾所皆知的，bsAb 不會得到一致的結果(Manzke O, et al. *Cancer Immunol Immunother*. 1997, 45:198–202)。例如，在無充分的細胞激素產生下，CD3 交叉連接可能在 T 細胞中引發細胞凋亡反應(Noel PJ, Boise LH, Thompson CB: Regulation of T cell activation by CD28 and CTLA4. *Adv Exp Med Biol* 1996, 406:209-217)。T 細胞亞群和此等招募的 T 細胞，例如初始 T 細胞之分化狀態，對於效力為重要的，因為初始 T 細胞在無活化下無法溶離目標細胞(例如在 IL-2 存在下與 TCR 交叉連接)。

【0005】 特定的雙特異性治療為成功的，然而，如同許多癌症治療，需付出代價。毒性為癌症治療中主要的失敗原因。眾所皆知的，所謂的治療藥物毒性為病患副作用之主要原因及次要弊病。「殺死細胞」之行為本身為病患製造了麻煩。過剩的細胞毒性反應可能係由效應細胞，例如 T 細胞活化所引發，且癌症目標細胞，在腫瘤免疫治療中哪一類型的反應為最有利的仍尚待分曉。用於雙特異性治療之鑑定抗-CD3 抗體的方法具有降低副作用同時維持效力和所欲的藥物動力學性質，應為有利的。

【0006】 以結構/活性關係(SAR)為基礎之技術，例如親和力成熟，已有描述，其係利用致突變來優化抗體，使其相較於開始的抗體，對目標抗原具有增加和提升的結合特異性或親和力(參見，例如 2011 年 5 月 12 日公開的 WO2011056997)。能以各種程度的親和力與 CD3 結合和交互作用，同時仍具有中度至高度 T 細胞活化作用之修飾的 OKT3 抗體已有描述(US7820166)。然而，降低抗體分子之結合親和力至接近或超出可偵測結合量之外，並未描述，亦無顯示對腫瘤減少或抑制具有必須的功效。

【0007】 因此，對於具有控制的細胞毒性和較佳PK性質之替代的雙特異性抗原結合分子存有需求。此等癌症治療在治療設置中應為相當有用

的。

【發明內容】

【0008】 在第一方面，本發明係提供與人類 CD3 結合，對人類及/或獼猴 CD3 具有微弱或未檢出親和力之抗體及其抗原結合片段。根據本發明此方面，此等抗體可用於，其中包括，以表現 CD3 之 T 細胞為標靶，及用於刺激 T 細胞活化，例如在其中 T 細胞媒介的毒殺為有利或所欲的情況。本發明之抗-CD3 抗體或其抗原結合部份可包括將 CD3-媒介的 T 細胞活化導向特定細胞類型，例如腫瘤細胞或感染原，作為雙特異性抗體的部份。

【0009】 本發明之示例性抗-CD3 抗體係列於文中的表 2 和 3 中。表 2 係列出重鏈可變區(HCVR)以及重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2 和 HCDR3)之胺基酸序列辨識碼。表 3 係列出編碼示例抗-CD3 抗體之 HCVR、HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 區的核酸分子之序列辨識碼。表 4 和 5 係列出示例的抗-CD3 抗體之輕鏈可變區(LCVR)以及輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2 和 LCDR3)。

【0010】 本發明係提供包括一 HCVR 之抗體或其抗原結合片段，該 HCVR 係包括一由表 2 所列的任何 HCVR 胺基酸序列中選出之胺基酸序列，或具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%其序列相同度之實質上其類似序列。

【0011】 本發明亦提供包括一 HCVR 和一 LCVR 胺基酸序列對(HCVR/LCVR)之抗體或其抗原結合片段，而該 HCVR 和 LCVR 胺基酸序列對係包括表 2 所列的任何 HCVR 胺基酸序列與表 4 所列的任何 LCVR 胺基酸序配對，或衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈的共同輕鏈，或衍生自一已知或公共區輕鏈可變區，其係衍生自具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈。根據特定的實施例，本發明係提供包括一 HCVR/LCVR 胺基酸序列對之抗體或其抗原結合片段，該 HCVR/LCVR 胺

基酸序列對係包含在與表 4 所列的示例輕鏈可變區配對之表 2 所列的任何示例抗-CD3 抗體內。在特定的實施例中，此 HCVR/LCVR 胺基酸序列對係由下列組成之群中選出：SEQ ID NO：10/162(例如 CD3-VH-G2)；18/162(例如 CD3-VH-G3)；26/162(例如 CD3-VH-G4)；34/162(例如 CD3-VH-G5)；42/162 (例如 CD3-VH-G8)；50/162(例如 CD3-VH-G9)；58/162(例如 CD3-VH-G10)；66/162(例如 CD3-VH-G11)；74/162(例如 CD3-VH-G12)；82/162(例如 CD3-VH-G13)；90/162(例如 CD3-VH-G14)；98/162(例如 CD3-VH-G15)；106/162(例如 CD3-VH-G16)；114/162(例如 CD3-VH-G17)；122/162(例如 CD3-VH-G18)；130/162(例如 CD3-VH-G19)；138/162(例如 CD3-VH-G20)；及 146/162 (例如 CD3-VH-G21)。

【0012】 本發明亦提供包括一重鏈 CDR1(HCDR1)之抗體或其抗原結合片段，該重鏈 CDR1 係包括一由表 2 所列的任何 HCDR1 胺基酸序列中選出之胺基酸序列，或具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。本發明亦提供包括一重鏈 CDR1(HCDR1)之抗體或其抗原結合片段，而該重鏈 CDR1 係包括一 SEQ ID NO: 178 中所示的胺基酸序列。

【0013】 本發明亦提供包括一重鏈 CDR2(HCDR2)之抗體或其抗原結合片段，該重鏈 CDR2 係包括一由表 2 所列的任何 HCDR2 胺基酸序列中選出之胺基酸序列，或具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似序列。本發明亦提供包括一重鏈 CDR2(HCDR2)之抗體或其抗原結合片段，而該重鏈 CDR2 係包括一 SEQ ID NO: 179 中所示的胺基酸序列。

【0014】 本發明亦提供包括一重鏈 CDR3(HCDR3)之抗體或其抗原結合片段，該重鏈 CDR3 係包括一由表 2 所列的任何 HCDR3 胺基酸序列中選出之胺基酸序列，或具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序

列相同度之實質上其類似的序列。本發明亦提供包括一重鏈 CDR3(HCDR3) 之抗體或其抗原結合片段，而該重鏈 CDR3 係包括一 SEQ ID NO: 180 中所示的胺基酸序列。

【0015】 本發明亦提供包括一輕鏈 CDR1(LCDR1)之抗體或其抗原結合片段，該輕鏈 CDR1 係包括一由表 4 所列的任何 LCDR1 胺基酸序列中選出之胺基酸序列，或具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。本發明亦提供包括一輕鏈 CDR1(LCDR1) 之抗體或其抗原結合片段，而該輕鏈 CDR1 係包括衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈。

【0016】 本發明亦提供包括一輕鏈 CDR2(LCDR2)之抗體或其抗原結合片段，該輕鏈 CDR2 係包括一由表 4 所列的任何 LCDR2 胺基酸序列中選出之胺基酸序列，或具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。本發明亦提供包括一輕鏈 CDR2(LCDR2) 之抗體或其抗原結合片段，而該輕鏈 CDR2 係包括衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈。

【0017】 本發明亦提供包括一輕鏈 CDR3(LCDR3)之抗體或其抗原結合片段，該輕鏈 CDR3 係包括一由表 4 所列的任何 LCDR3 胺基酸序列中選出之胺基酸序列，或具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。本發明亦提供包括一輕鏈 CDR3(LCDR3) 之抗體或其抗原結合片段，而該輕鏈 CDR3 係包括衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈。

【0018】 本發明亦提供包括一 HCDR3 和一 LCDR3 胺基酸序列對

(HCDR3/LCDR3)之抗體或其抗原結合片段，而該胺基酸序列對係包括表 2 所列的任何 HCDR3 胺基酸序列與表 4 所列的任何 LCDR3 胺基酸序配對。根據特定的實施例，本發明係提供包括一 HCDR3/LCDR3 胺基酸序列對之抗體或其抗原結合片段，而該胺基酸序列對係包含在表 2 所列的任何示例抗-CD3 抗體內。在特定的實施例中，此 HCDR3/LCDR3 胺基酸序列對係由下列組成之群中選出：SEQ ID NO: 16/168(例如 CD3-VH-G2)；24/168(例如 CD3-VH-G3)；32/168(例如 CD3-VH-G4)；40/168(例如 CD3-VH-G5)；48/168(例如 CD3-VH-G8)；56/168(例如 CD3-VH-G9)；64/168(例如 CD3-VH-G10)；72/168(例如 CD3-VH-G11)；80/168(例如 CD3-VH-G12)；88/168(例如 CD3-VH-G13)；96/168(例如 CD3-VH-G14)；104/168(例如 CD3-VH-G15)；112/168(例如 CD3-VH-G16)；120/168(例如 CD3-VH-G17)；128/168(例如 CD3-VH-G18)；136/168(例如 CD3-VH-G19)；144/168(例如 CD3-VH-G20)；及 152/168(例如 CD3-VH-G21)。

【0019】本發明亦提供包括一組 6 個 CDR(亦即 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)之抗體或其抗原結合片段，而該 CDR 組係包含在表 2 和 4 所列的任何示例抗-CD3 抗體內。在特定的實施例中，此 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列係由下列組成之群中選出：SEQ ID NO:12-14-16-164-166-168(例如 CD3-VH-G2)；20-22-24-164-166-168(例如 CD3-VH-G3)；28-30-32-164-166-168(例如 CD3-VH-G4)；36-38-40-164-166-168(例如 CD3-VH-G5)；44-46-48-164-166-168(例如 CD3-VH-G8)；52-54-56-164-166-168(例如 CD3-VH-G9)；60-62-64-164-166-168(例如 CD3-VH-G10)；68-70-72-164-166-168(例如 CD3-VH-G11)；76-78-80-164-166-168(例如 CD3-VH-G12)；84-86-88-164-166-168(例如 CD3-VH-G13)；92-94-96-164-166-168(例如 CD3-VH-G14)；

100-102-104-164-166-168(例如 CD3-VH-G15)；108-110-112-164-166-168(例如 CD3-VH-G16)；116-118-120-164-166-168(例如 CD3-VH-G17)；124-126-128-164-166-168(例如 CD3-VH-G18)；132-134-136-164-166-168(例如 CD3-VH-G19)；140-142-144-164-166-168(例如 CD3-VH-G20)；及148-150-152-164-166-168(例如 CD3-VH-G21)。

【0020】 在一相關的實施例中，本發明係提供包括一組 6 個 CDR(亦即 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)之抗體或其抗原結合片段，而該 CDR 組係包含在如表 2 和 4 所列的任何示例抗-CD3 抗體所定義的 HCVR/LCVR 胺基酸序列對內。例如，本發明係包括包含 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組之抗體或其抗原結合片段，而該胺基酸序列組係包括在由下列組成之群中選出的 HCVR/LCVR 胺基酸序列對內：SEQ ID NO: 10/162(例如 CD3-VH-G2)；18/162(例如 CD3-VH-G3)；26/162(例如 CD3-VH-G4)；34/162(例如 CD3-VH-G5)；42/162(例如 CD3-VH-G8)；50/162(例如 CD3-VH-G9)；58/162(例如 CD3-VH-G10)；66/162(例如 CD3-VH-G11)；74/162(例如 CD3-VH-G12)；82/162(例如 CD3-VH-G13)；90/162(例如 CD3-VH-G14)；98/162(例如 CD3-VH-G15)；106/162(例如 CD3-VH-G16)；114/162(例如 CD3-VH-G17)；122/162(例如 CD3-VH-G18)；130/162(例如 CD3-VH-G19)；138/162(例如 CD3-VH-G20)；及 146/162(例如 CD3-VH-G21)。

【0021】 用於鑑定 HCVR 和 LCVR 胺基酸序列中之 CDR 的方法和技術已為本項技術所熟知並可用於鑑別文中所揭示的特定 HCVR 及/或 LCVR 胺基酸序列內的 CDR。可用於鑑別 CDR 界限之示例性習用法包括，例如 Kabat 定義、Chothia 定義和 AbM 定義。一般而言，Kabat 定義係以序列變異性為基準，Chothia 定義係以結構環區域之位置為基準，而 AbM 定義為介於 Kabat 和 Chothia 法之折衷。參見，例如 Kabat, "Sequences of Proteins of

Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1991) ; Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol.* 273:927-948(1997); 及 Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272(1989)。亦可取得公開的資料庫用來鑑別抗體內的 CDR 序列。

【0022】 本發明亦提供編碼抗-CD3 抗體或其部分之核酸分子。例如，本發明係提供編碼表 3 中所列的任何 HCVR 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 3 所列的任何 HCVR 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99% 序列相同度之實質上其類似序列。

【0023】 本發明亦提供編碼表 4 中所列的任何 LCVR 胺基酸序列之核酸分子；或衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈的 LCVR。在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 5 所列的任何 LCVR 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。

【0024】 本發明亦提供編碼表 2 中所列的任何 HCDR1 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 3 所列的任何 HCDR1 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似序列。

【0025】 本發明亦提供編碼表 2 中所列的任何 HCDR2 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 3 所列的任何 HCDR2 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似序列。

【0026】 本發明亦提供編碼表 2 中所列的任何 HCDR3 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 3 所列的任何 HCDR3

核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似序列。

【0027】 本發明亦提供編碼表 4 中所列的任何 LCDR1 胺基酸序列之核酸分子；或衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈的 LCDR1。在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 5 所列的任何 LCDR1 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。

【0028】 本發明亦提供編碼表 4 中所列的任何 LCDR2 胺基酸序列之核酸分子；或衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈的 LCDR2。在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 5 所列的任何 LCDR2 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。

【0029】 本發明亦提供編碼表 4 中所列的任何 LCDR3 胺基酸序列之核酸分子；或衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈的 LCDR3。在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 5 所列的任何 LCDR3 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。

【0030】 本發明亦提供編碼 HCVR 之核酸分子，其中該 HCVR 係包括一組三個 CDR(亦即 HCDR1-HCDR2-HCDR3)，其中該 HCDR1-HCDR2-HCDR3 胺基酸序列組係如表 2 所列的任何示例性抗-CD3 抗體所定義。

【0031】 本發明亦提供編碼 LCVR 之核酸分子，其中該 LCVR 係包

括一組三個 CDR(亦即 LCDR1-LCDR2-LCDR3)，其中該 LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組係如表 4 所列的任何示例性通用輕鏈抗體所定義；或該 LCDR1-LCDR2-LCDR3 係衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈。

【0032】 本發明亦提供編碼 HCVR 和 LCVR 二者之核酸分子，其中此 HCVR 係包括一表 2 中所列的任何 HCVR 胺基酸序列之胺基酸序列，及其中此 LCVR 係包括一表 4 中所列的任何 LCVR 胺基酸序列之胺基酸序列；或該 LCVR 係衍生自抗-TAA 重鏈之同源輕鏈，或衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈。在特定的實施例中，此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 HCVR 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列，及由表 5 所列的 LCVR 核酸序列中選出之多核苷酸序列，或具有與其至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列相同度之實質上其類似的序列。在某些實施例中，此編碼 HCVR 和 LCVR 的核酸分子為全長的人類序列或衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列。

【0033】 本發明亦提供能表現包括抗-CD3 抗體之重鏈或輕鏈可變區之多肽的重組表現載體。例如，本發明係包括重組的表現載體，該載體係包括任何上文所提之核酸分子，亦即編碼表 2 或表 4 中所列的任何 HCVR、LCVR 及/或 CDR 序列之核酸分子。本發明之範圍亦包括已導入此等載體之宿主細胞，以及藉由在得以產生抗體和抗體片段之條件下培養宿主細胞，並回收所產生的抗體和抗體片段來製造抗體或其部分之方法。

【0034】 本發明係包括具有一修飾糖基化模式之抗-CD3 抗體及/或抗-TAA 抗體，以及雙特異性抗-CD3/抗-TAA 抗體。在某些實施例中，移除不欲的糖基化位置之修飾作用或在寡糖鏈上缺乏岩藻糖基團存在之抗體，

例如，用以增加抗體依賴的細胞毒殺(ADCC)功能，可能為有用的(參見 Shield *et al.*(2002) *JBC* 277:26733)。在其他的應用上，可進行半乳糖基化之修飾作用以修改補體依賴的細胞毒殺作用(CDC)。

【0035】 在一方面，本發明係提供一細胞毒性組成物，其包括 i)不能與效應細胞特異性結合，及 ii)與一目標腫瘤細胞特異性結合之雙特異性抗原結合分子，其中該特異性結合係以一活體外 FACS 結合分析或一活體外表面電漿子共振結合分析所測量。在特定的實施例中，本發明係提供一包括雙特異性抗原結合分子的細胞毒性組成物，而該雙特異性抗原結合分子對效應細胞展現未檢出的結合且係以一可測量的結合親和力與目標腫瘤細胞特異性結合，其中該結合親和力值係以一活體外 FACS 結合分析或一活體外表面電漿子共振結合分析所測量。

【0036】 在其他的實施例中，本發明係提供一包括雙特異性抗原結合分子的細胞毒性組成物，而該雙特異性抗原係包括 i)對 CD3 展現未檢出的結合之第一抗原結合片段(Fab1)，及 ii)以可測量的結合親和力與腫瘤細胞特異性結合之第二抗原結合片段(Fab2)，其中該結合親和力值係以一活體外 FACS 結合分析或一活體外表面電漿子共振結合分析所測量。在某些案例中，此結合親和力為單價結合親和力(例如以雙特異性抗體結構)。

【0037】 在另一方面本發明係提供一包括雙特異性抗原結合分子的細胞毒性組成物，該雙特異性抗原結合分子係以微弱結合親和力與效應細胞特異性結合，例如具有約或大於 100 nM 之 EC_{50} 值，及以一可觀的 EC_{50} 值，或例如低於 50 nM 之高親和力 EC_{50} 值與目標腫瘤細胞結合，其中該 EC_{50} 結合親和力值係以一活體外 FACS 結合分析所測量。在特定的實施例中，本發明係提供一包括雙特異性抗原結合分子的細胞毒性組成物，而該雙特異性抗原結合分子係以大於約 500 nM 之 EC_{50} 值與一效應細胞特異性結合，及以一可觀的 EC_{50} 值，或例如低於 50 nM 之高親和力 EC_{50} 值與目標腫瘤細

胞結合，其中該 EC_{50} 結合親和力值係以一活體外 FACS 結合分析所測量。

【0038】 在某些實例中，此雙特異性抗原結合分子係包括以大於約 40 nM，或大於約 100 nM，大於約 200 nM，大於約 300 nM，大於約 400 nM，大於約 500 nM，或大於約 1 μ M(例如，在單價結合情況下)之 EC_{50} 值與人類 CD3 結合的 Fab1。在某些實施例中，此雙特異性抗原結合分子係包括一 Fab2，其係衍生自以高親和力，例如低於約 50 nM，低於約 40 nM，低於約 20 nM，低於約 10 nM 或低於約 6 nM(例如，在單價結合情況下)之 EC_{50} 值與目標腫瘤細胞特異性結合的第二抗體。在某些案例中，Fab1 係各自以大於約 40 nM，或大於約 100 nM，大於約 200 nM，或大於約 1 μ M 之 EC_{50} 值與人類 CD3 和獼猴 CD3 特異性結合。在某些案例中，Fab1 係以微弱或未檢出的親和力與各人類 CD3 和獼猴 CD3 特異性結合。

【0039】 在某些實施例中，此目標腫瘤細胞為一人類腫瘤細胞。在某些實施例中，此 Fab1(或雙特異性抗原結合分子)，如活體外 T 細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺分析中所測，係包括具有低於約 1.3 nM 之 EC_{50} 值之 T 細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺。

【0040】 在某些應用中，此 Fab1 或雙特異性抗原結合分子，如活體外表面電漿子共振結合分析所測，係以大於約 11 nM 之 K_D 值與人類 CD3 特異性結合。在其他的情況下，此 Fab1 或雙特異性抗原結合分子，如活體外表面電漿子共振結合分析所測，係以大於約 15 nM，或大於約 30 nM，大於約 60 nM，大於約 120 nM，或大於約 300 nM 之 K_D 值與各人類 CD3 和獼猴 CD3 特異性結合。又在某些應用中，此 Fab1 或雙特異性抗原結合分子 i)如在各活體外表面電漿子共振結合分析和 FACS 結合分析所測，對人類 CD3 不具有可偵測的結合，及 ii)如活體外 T 細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺分析中所測，引發 T 細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺。

【0041】 在某些應用中，此雙特異性抗原結合分子係包括一包含

HCDR1 區之第一重鏈，而該 HCDR1 區係包括一 SEQ ID NO: 12 或 20 中所述之胺基酸序列。在某些實施例中，此第一重鏈係包括一 HCDR2 區，其係包含 SEQ ID NO: 14 或 54 中所述之胺基酸序列。在其他的實施例中，此第一重鏈係包括一 HCDR3 區，其係包含 SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 112、SEQ ID NO: 120、SEQ ID NO: 128、SEQ ID NO: 136、SEQ ID NO: 144 或 SEQ ID NO: 152 中所述之胺基酸序列。在其他的應用中，此第一重鏈係包括一 HCVR，其係包含具有 SEQ ID NO: 178-179-180 胺基酸序列之 HCDR1-HCDR2-HCDR3。在其他的實施例中，第一重鏈係包括一包含 SEQ ID NO:178 之胺基酸殘基 1-7 的 CDR1，一包含 SEQ ID NO:179 之胺基酸殘基 1-7 的 CDR2，一包含 SEQ ID NO:180 之胺基酸殘基 4-11 的 CDR3。

【0042】 在更多的實施例中，此第一重鏈係包括可變區框架區，其係具有由 FR1(SEQ ID NO: 174)、FR2(SEQ ID NO: 175)、FR3(SEQ ID NO: 176) 和 FR4(SEQ ID NO: 177)選出之胺基酸序列。

【0043】 本發明係提供包括由下列組成中選出的 Fab1 HCVR 和 LCVR 胺基酸序列對(HCVR/LCVR)之雙特異性抗原結合分子：SEQ ID NO: 10/162；18/162；26/162；34/162；42/162；50/162；58/162；66/162；74/162；82/162；90/162；98/162；106/162；114/162；122/162；130/162；138/162；146/162。

【0044】 抗體、其抗原結合片段及雙特異性體係以生殖系序列和親代抗體序列間的差異為基礎，用一逐步方式藉由置換親代胺基酸殘基所製造。本發明係提供一製造細胞毒性組成物的方法，其包括(a)鑑定一第一重鏈的胺基酸序列，其係衍生自以高親和力，例如具有低於約 40 nM 之結合親和

力 EC_{50} 值，與 CD3 特異性結合的抗體，(b)修飾第一抗體之重鏈可變區中所選的胺基酸殘基，產生一修飾的抗體，(c)將修飾的抗體與衍生自與目標腫瘤細胞抗原特異性結合之第二抗體的第二重鏈配對，產生雙特異性抗體，(d)以一結合親和力分析檢測此雙特異性抗體，且若與 CD3 之結合親和力具有大於約 40 nM，或大於 100 nM，或大於 300 nM，或大於 500 nM 之 EC_{50} 值，活未檢出的結合，則(e)製備一包括此雙特異性抗體和一醫藥上接受載劑或稀釋劑之組成物。除了修飾選出抗體之重鏈可變區，用以工程化對特異性靶向效應細胞具有微弱或無親和力之抗原結合臂之外，本發明在文中係提供用於修飾各結合臂之重鏈恆定區(例如 C_{H3} 區)以製備和純化雙特異性抗體之方法。

【0045】 一示例方法係提供一製造細胞毒性雙特異性抗體之方法，其包括：(a)鑑定與一來自多物種之效應細胞抗原相互作用之第一人類抗體或其抗原結合片段；(b)鑑定人類抗體之重鏈可變區(HCVR)的生殖系胺基酸殘基；(c)將第一人類抗體的 HCVR 之胺基酸序列與對應的生殖系 HCVR 之胺基酸序列作比較；(d)相較於生殖系 HCVR 中的相同區，鑑定在第一抗體 HCVR 之修飾區內的胺基酸，藉以讓第一抗體中的修飾區藉由取代、刪除或添加單一胺基酸殘基展現至少一胺基酸修飾；(e)產生多數個各包括至少一個 HCVR 修飾區之修飾抗體；(f)針對效應細胞抗原之單價親和力，篩選各多數個修飾抗體；(g)選擇相較於第一抗體對效應細胞抗原展現較弱結合親和力或無可偵測結合親和力的修飾抗體；及(h)將選擇的第一抗體和與腫瘤-相關抗原交互作用的第二抗體配對，產生一細胞毒性雙特異性抗體。

【0046】 在另一方面，本發明係提供一醫藥組成物，其包括一與 CD3 特異性結合之重組的人類雙特異性抗體或其片段以及一醫藥上可接受載劑。在一相關的方面，本發明之特徵為一組成物，其為抗-CD3 抗體和第二治療劑之組合物。在一實施例中，此第二治療劑為有利地與抗-CD3 抗體組合之

任何藥劑。可有利地與抗-CD3 抗體組合之示例性藥劑，包括(不限於)與結合及/或活化 CD3 訊號傳遞之其他藥劑(包括其他抗體或其抗原結合片段等)及/或不會直接與 CD3 結合但仍會活化或刺激免疫細胞活化之藥劑。涉及本發明抗-CD3 之另外的組合治療或共調配物係揭示於文中他處。

【0047】 又在另一方面，本發明係提供使用本發明之抗-CD3 抗體或抗體之抗原結合部份刺激 T 細胞活化之治療方法，其中該治療方法係包括將一治療上有效量之包括本發明雙特異性抗體或其抗原結合片段的醫藥組成物投予有此需要之患者。所治療的病症為藉由以腫瘤-相關抗原，例如癌症為目標的細胞毒性治療而加以改進、改善、抑制或防止之任何疾病或症狀。

【0048】 根據另一方面，本發明係提供與 CD3 和目標抗原，特別是腫瘤相關抗原(TAA)結合之雙特異性抗原結合分子。

【0049】 本發明亦包括本發明抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子於製造醫藥品供治療與 TAA 表現有關或由其所造成的疾病或病症之用途。本發明亦提供相較於對 CD3-表現的效應細胞具高親和力之抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子，對 CD3-表現的效應細胞具弱親和力及降低的清除率之抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子於製造醫藥品供治療與 TAA 表現有關或由其所造成的疾病或病症之用途。

【0050】 從審視接續的實施方式，其他實施例將更顯而易見。

【圖式簡單說明】

【0051】 圖 1 係顯示下列重鏈可變區(HCVR)序列之胺基酸比對：生殖系 hIgHV(SEQ ID NO:181); CD3-VH-P(SEQ ID NO:154); CD3-VH-G(SEQ ID NO:2); CD3-VH-G2(SEQ ID NO:10); CD3-VH-G3(SEQ ID NO:18); CD3-VH-G4(SEQ ID NO:26); CD3-VH-G5(SEQ ID NO: 34);

CD3-VH-G8(SEQ ID NO:42) ; CD3-VH-G9(SEQ ID NO:50) ;
CD3-VH-G10(SEQ ID NO:58) ; CD3-VH-G11(SEQ ID NO:66) ;
CD3-VH-G12(SEQ ID NO:74) ; CD3-VH-G13(SEQ ID NO:82) ;
CD3-VH-G14(SEQ ID NO:90) ; CD3-VH-G15(SEQ ID NO:98) ;
CD3-VH-G16(SEQ ID NO:106) ; CD3-VH-G17(SEQ ID NO:114) ;
CD3-VH-G18(SEQ ID NO:122) ; CD3-VH-G19(SEQ ID NO:130) ; CD3-VH-
G20(SEQ ID NO:138) ; 及 CD3-VH-G21(SEQ ID NO:146) 。各衍生的 HCVR
係與親代抗體和生殖系胺基酸殘基比較，其中長方形框係代表 CDR 中的突
變。

【0052】 圖 2A、2B 和 2C 係說明，在野生型小鼠(圖 2A)、人源化
CD3 小鼠(圖 2B)和人源化 MUC16 x CD3 小鼠(圖 2C)中單一 0.4 mg/kg 腹膜
內注射 BSMUC16/CD3-001、BSMUC16/CD3-005 和同型對照抗體後之血清
中總 IgG 的平均濃度。

【實施方式】

【0053】 在描述本發明之前，應了解，本發明不限於所述的特定方法
和實驗條件，因為此等方法和條件可改變。亦應了解，文中所用的術語僅
作為描述特定實施例之目的，且不希望受限，因為本發明之範圍將僅受限
於所附的申請專利範圍。

【0054】 除非另有說明，否則所有文中所用的技術和科學術語係具有
如本發明所屬技術之一般技術者所正常理解之相同意義。如文中所用，術
語「大約」當用於有關特定引述的數值時，係指該值可從該引述值做不大
於 1% 的變化。例如，如文中所用，「約 100」一詞包括 99 和 101 及所有介
於之間的值(例如 99.1、99.2、99.3、99.4 等)。

【0055】 雖然在施行或試驗本發明時可使用任何該等與文中所述的

方法和物質類似或相當者，但較佳的方法和物質為目前所述。

定義

【0056】 「CD3」一詞，係指表現在 T 細胞上作為多分子 T 細胞受體(TCR)之部分的抗原，且其係由下列四條受體鏈中的二條鏈所形成的同源二聚體或異源二聚體所組成：CD3- ϵ 、CD3- δ 、CD3- ζ 及 CD3- γ 。人類 CD3- ϵ (hCD3 ϵ)係包括 SEQ ID NO:169(UniProtKB/Swiss-Prot: P07766.2)中所述的胺基酸序列。人類 CD3- δ (hCD3 δ)係包括 SEQ ID NO:170(UniProtKB/Swiss-Prot: P04234.1)中所述的胺基酸序列。除非明確地指出係來自非人類物種，否則所有關於文中之蛋白、多肽和蛋白片段希望係指人類版本的各蛋白、多肽和蛋白片段。因此，除非明確地指出係來非人類物種，例如「小鼠 CD3」、「猴子 CD3」等，否則「CD3」一詞係指人類 CD3。

【0057】 詞語「與 CD3 結合之抗體」或「抗-CD3 抗體」包括特異辨識單一 CD3 亞單元(例如 ϵ 、 δ 、 γ 或 ζ)或與其連結之抗體及其抗原結合片段，以及特異辨識二個 CD3 亞單元之二聚複合物(例如， γ/ϵ 、 δ/ϵ 及 ζ/ζ CD3 二聚體)以及與其連結之的抗體及其抗原結合片段。本發明之抗體及抗原結合片段可與可溶性 CD3、結合 CD3 及/或細胞表面表現的 CD3 結合。可溶性 CD3 包括天然的 CD3 蛋白以及重組的 CD3 蛋白變體，例如，缺乏跨膜區或另外不與細胞膜結合之單體和二聚體 CD3 結構。本發明係提供以微弱或未檢出的結合親和力結合和活化人類及獼猴 CD3 之抗體。「以未檢出的結合親和力與 CD3 結合」係指與抗體或抗原結合片段與目標 CD3 之相互作用可能以已知的偵測分析，例如如文中所述之 FACS(細胞為基礎)結合分析或如文中所述及本項技術所熟知之表面電漿子共振分析為無法測量的或無法偵測的。其他的結合分析已為本項技術所熟知。抗體或抗原結合片段可藉由非常弱的蛋白-蛋白生化交互作用辨識 CD3 目標，然而，特定的 KD 或

EC50 值之測定可能無法測量，因為交互作用係超出此分析的偵測極限之外，例如無法測定任何測量值。在其他的情況，「未檢出的結合親和力」，若對應 K_D 值之抗體親和力係等於或比非特異性抗原，例如 BSA、酪蛋白及其類似物低 10 倍，則經測定為「未檢出的結合親和力」。「以微弱的結合親和力與 CD3 結合」包括其中結合親和力測量係在分析的偵測極限或些微超過，或等同對非特異性抗原之結合親和力的相互作用。

【0058】 「細胞表面-表現的 CD3」一詞，係指一或多個 CD3 蛋白，其在活體內或活體外係表現在細胞表面，使得至少一部分的 CD3 蛋白係暴露於細胞膜的胞外側且易接近抗體的抗原結合部分。「細胞表面表現的 CD3」包括包含在細胞膜中之功能性 T 細胞受體環境內的 CD3 蛋白。「細胞表面表現的 CD3」一詞包括表現作為細胞表面上的同源二聚體或異源二聚體(例如， δ/ϵ 、 γ/ϵ 及 ζ/ζ CD3 二聚體)部分的 CD3 蛋白。「細胞表面表現的 CD3」一詞亦包括自我表現，在細胞表面上無其他 CD3 鏈類型之 CD3 鏈(例如，CD3- δ 、CD3- ϵ 或 CD3- γ)。「細胞表面表現的 CD3」可包括或由表現於正常表現 CD3 蛋白之細胞表面的 CD3 蛋白所組成。另一種選擇，「細胞表面表現的 CD3」可包括或由表現於正常不會表現 CD3 蛋白在其表面上但經人工工程化表現 CD3 在其表面上之細胞表面的 CD3 蛋白所組成。

【0059】 效應細胞包括效應 T 細胞(T 淋巴細胞)，例如 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、Th1、Th2 和調節 T 細胞(Tregs)。效應細胞亦可包括天然的殺手細胞、巨噬細胞、粒細胞、漿細胞或 B 細胞(淋巴細胞)。請了解，治療可能經由 Ig 與效應細胞表面受體，例如 CD3(T 細胞表面受體)、CD28(T 細胞)、Fc γ 受體(Fc γ Rs)(NK 細胞，活化的巨噬細胞等)的交互作用，媒介過剩的細胞-媒介免疫反應或效應子功能。效應子功能，例如殺死細胞、補體活化、吞噬作用和調理作用隨後係經由這些交互作用所觸發。與效應細胞和腫瘤目標細胞結合，導致了傳播腫瘤細胞毒殺及引發對抗腫瘤或癌症之內

生性免疫功能的有價值和有效之免疫治療設計。

【0060】 「抗-CD3 抗體」一詞，包括帶有單一特異性之單價抗體，以及包括結合 CD3 之第一臂及結合第二(目標)抗原之第二臂的雙特異性抗體，其中抗-CD3 臂係包括任何如文中表 2、3、4 及/或 5 中所列的 HCVR/LCVR 或 CDR 序列。抗-CD3 雙特異性抗體之實例係描述於文中之他處。術語「抗原-結合分子」包括抗體和抗體之抗原結合片段，其包括，例如雙特異性抗體。

【0061】 術語「抗體」係包括任何包含至少一個與特定抗原(例如 CD3) 特異性結合或相互作用之互補決定區(CDR)的抗原結合分子或分子複合物。術語「抗體」係包括：包含藉由雙硫鍵相互連接的四條多肽鏈，二條重(H)鏈和二條輕(L)鏈之免疫球蛋白分子及其多聚體(例如 IgM)。各重鏈係包括一重鏈可變區(文中縮寫為 HCVR 或 V_H)及一重鏈恆定區。此重鏈恆定區係包括三個區， C_{H1} 、 C_{H2} 和 C_{H3} 。各輕鏈係包括一輕鏈可變區(文中縮寫為 LCVR 或 V_L)及一輕鏈恆定區。輕鏈恆定區係包括一個區(C_{L1})。 V_H 和 V_L 區可進一步細分為高變區，稱為互補決定區(CDR)，其間散佈著較保守性區域，稱為框架區(FR)。各 V_H 和 V_L 係由三個 CDR 和四個 FR 所組成，以下列順序由胺基端排列至羧基端：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本發明不同的實施例中，抗-CD3 抗體(或其抗原結合部分)之 FR 可與人類生殖系序列相同，或可經自然或人工修飾。胺基酸共有序列可以二或多個 CDR 之並排(side-by-side)分析為基準來定義。

【0062】 術語「抗體」亦包括全抗體分子之抗原結合片段。術語抗體之「抗原結合部分」、抗體之「抗原結合片段」等等，如文中所用，係包括任何與抗原特異性結合形成一複合物之天然生成、酵素製得、合成或基因工程化的多肽或糖蛋白。抗體之抗原結合片段可使用任何適合的標準技術，例如蛋白質水解消化作用或涉及編碼抗體可變區和(視需要)恆定區之

DNA 操作和表現的重組基因工程技術，衍生自例如全抗體分子。此 DNA 為已知的及/或可容易地從例如市面來源、DNA 資料庫(包括，例如噬菌體-抗體資料庫)取得或可經合成。此 DNA 可用化學或藉由使用分子生物技術來定序和操作，例如將一或多個可變及/或恆定區排列成適合的組態，或導入密碼子，產生半胱胺酸殘基、修飾、增添或刪除胺基酸等。

【0063】 抗原結合片段之非限定實例包括：(i)Fab 片段；(ii)F(ab')₂ 片段；(iii)Fd 片段；(iv)Fv 片段；(v)單鏈 Fv(scFv)分子；(vi)dAb 片段；和(vii)由模擬抗體高變區之胺基酸殘基所組成的最小識別單位(例如分離的互補決定區(CDR)，例如 CDR3 胜肽)或限制性 FR3-CDR3-FR4 胜肽。其他工程化分子，例如區域特異性抗體、單區抗體、區域刪除抗體、嵌合抗體、CDR-植入抗體、雙抗體、三抗體、四抗體、微抗體、奈米抗體(例如單價奈米抗體、雙價奈米抗體等)、小模組免疫醫藥(SMIP)及鯊可變 IgNAR 區，亦涵蓋在文中所用的「抗原結合片段」之詞語內。

【0064】 抗體之抗原結合片段典型地將包括至少一可變區。可變區可為任何大小或胺基酸組成之區域且一般將包括與一或多個框架序列相鄰或在其框架內之 CDR。在具有 V_H 區與 V_L 區結合之抗原結合片段中，V_H 和 V_L 區可以任何適合的排列位於彼此相對處。例如可變區可為二聚化並含有 V_H-V_H、V_H-V_L 或 V_L-V_L 二聚體。另一種選擇，抗體之抗原結合片段可含有單體 V_H 或 V_L 區。

【0065】 在特定的實施例中，抗體之抗原結合片段可含有至少一個可變區與至少一個恆定區共價連接。在本發明之抗體的抗原結合片段內可發現的可變區和恆定區之非限定、示例性組態包括：(i) V_H-C_H1；(ii) V_H-C_H2；(iii) V_H-C_H3；(iv) V_H-C_H1-C_H2；(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3；(vi) V_H-C_H2-C_H3；(vii) V_H-C_L；(viii) V_L-C_H1；(ix) V_L-C_H2；(x) V_L-C_H3；(xi) V_L-C_H1-C_H2；(xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3；(xiii) V_L-C_H2-C_H3；及(xiv) V_L-C_L。在任何可變區和恆定

區之組態中，包括上列任何的示例性組態，可變區和恆定區可直接彼此相連接或可藉由完整或部分的絞鏈或連接子區相連接。絞鏈區可由至少 2 個(例如 5、10、15、20、40、60 或更多個)胺基酸所組成，使其在單一多肽分子中於相鄰的可變及/或恆定區之間產生柔性和半柔性連結。再者，在本發明之抗體的抗原結合片段可包括以非共價彼此相互連結及/或與一或多個單體 V_H或 V_L區相連結(例如以雙硫鍵)之任何上列的可變區和恆定區組態之同源二聚體或異源二聚體(或其他多聚體)。

【0066】 如同全抗體分子，抗原結合片段可為單特異性或多特異性(例如雙特異性)。抗體之多特異性抗原結合片段典型地將包括至少二個不同的可變區，其中各可變區能特異性與個別的抗原結合或與相同抗原上不同的表位結合。任何多特異性抗體模式，包括文中所揭示的示例性雙特異性抗體模式，可使用本項技術中可取得的習用技術來改造，使其適用於本發明抗體之抗原結合片段狀況。

【0067】 本發明之抗體可經由補體-依賴的細胞毒殺作用(CDC)或抗體-依賴的細胞媒介之細胞毒殺作用(ADCC)來作用。「補體-依賴的細胞毒殺作用(CDC)」係指在補體的存在下藉由本發明之抗體解離抗原-表現細胞。「抗體-依賴的細胞媒介之細胞毒殺作用(ADCC)」係指細胞媒介的反應，其中表現 Fc 受體(FcR)之非特異性細胞毒性細胞(例如天然的殺手(NK)細胞、嗜中性粒細胞和巨噬細胞)辨識出目標細胞上的結合抗體並據此導致目標細胞的解離。CDC 和 ADCC 可使用本項技術所熟知和可取得的分析來測量。(參見，例如美國專利第 5,500,362 號和第 5,821,337 號，及 Clynes 等人(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95 : 652-656)。抗體的恆定區對於抗體固定補體和媒介細胞-依賴的細胞毒殺作用之能力很重要。因此，抗體之同型可依其是否為抗體媒介細胞毒殺作用所希望的為基準加以選擇。

【0068】 在本發明特定的實施例中，本發明之抗-CD3 抗體(單特異性

或雙特異性)為人類抗體。術語「人類抗體」，如文中所用，希望係包括具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變和恆定區的抗體。本發明之人類抗體可包括非由人類生殖系免疫球蛋白序列所編碼之胺基酸殘基(例如藉由隨機或活體外位點特異性誘變所導入之突變或活體內體細胞突變)，例如在 CDR 中及特別是 CDR3。然而，術語「人類抗體」，如文中所用，不希望包括其中衍生自另外哺乳動物物種(例如小鼠)之生殖系的 CDR 序列已嫁接在人類框架序列上之抗體。

【0069】 術語「重組的人類抗體」，希望係包括由重組方法，例如使用重組的表現載體轉染至宿主細胞(進一步詳述於下)所製備、表現、產生或分離之所有人類抗體，由重組的組合人類抗體庫(進一步詳述於下)分離出之抗體，由經轉殖人類免疫球蛋白基因之動物(例如小鼠)分離出的抗體(參見，例如 Taylor et al.(1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295)，或由任何其他涉及將人類免疫球蛋白基因序列與 DNA 序列拼接之方法所製備、表現、產生或分離之抗體。此等重組的人類抗體具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區和恆定區。然而，在特定的實施例中，此等重組的人類抗體係在活體外經誘發突變(或當使用以人類 Ig 序列基因轉殖之動物時，為活體內體細胞誘發突變)，且因此重組抗體之 V_H 和 V_L 區的胺基酸序列，當衍生自人類生殖系 V_H 和 V_L 序列或與其有關時，其可能並非天然存在於活體內人類抗體生殖系庫中之序列。

【0070】 人類抗體可以二種與絞鏈異質性有關之形式存在。第一種形式，包括約 150-160 kDa 之安定的四鏈結構之免疫球蛋白分子，其中此二聚體係藉由鏈間重鏈雙硫鍵聚集一起。第二種形式，二聚體並非經由雙硫鍵相連接且此約 75-80 kDa 之分子係由共價偶合的輕鏈和重鏈(半抗體)所組成。這些形式極難分離，即使在親和純化後。

【0071】 在各種完整的 IgG 同型中，第二種形式出現的頻率係因(但

不限於)與抗體之絞鏈區同型有關之結構差異所致。在人類 IgG4 絞鏈之絞鏈區中單一胺基酸取代可顯著地降低第二種形式出現(Angal et al.(1993) *Molecular Immunology* 30:105)至典型地使用人類 IgG1 絞鏈所觀察到的程度。本發明係涵蓋絞鏈、C_H2 或 C_H3 區中具有一或多個突變之抗體，該突變例如在製造上可能為所希望的，用以改善所欲的抗體形式之產率。

【0072】 本發明之抗體可為分離的抗體。「分離的抗體」，如文中所用，係指經鑑定及從至少一種其天然環境之組成份分離及/或回收之抗體。例如，從至少一種生物體，或從組織或細胞之組成份分離或移出之抗體，其中就本發明之目的，該存在自然界或為自然產生的抗體為一「分離的抗體」。分離的抗體亦包括重組細胞內原位抗體。分離的抗體為歷經至少一純化或分離步驟之抗體。根據特定的實施例，分離的抗體可能實質上無其他細胞物質及/或化學物。

【0073】 本發明亦包括與 CD3 結合之單-臂抗體。「單-臂抗體」一詞係指包括單一抗體重鏈和單一抗體輕鏈之抗原結合分子。本發明之單-臂抗體可包括如文中表 2 中所述之任何 HCVR/LCVR 或 CDR 胺基酸序列。

【0074】 術語「表位」係指與抗體分子可變區中稱為補位(paratope)的特定抗原結合位置相互作用之抗原決定位。單一抗原可具有一個以上的表位。因此，不同的抗體可與抗原的不同區域結合並可具有不同的生物效應。表位可為構型或線性。構型表位係由直鏈多肽鏈不同線段之空間上並列的胺基酸所產生。線性表位係由多肽鏈相鄰的胺基酸殘基所產生。在特定的情況下，表位可在抗原上包括醣類基團、磷醯基基團或磺醯基基團。

【0075】 術語「實質上一致」或「實質上相同」當係指核酸或其片段時，係表示當以適當的核苷酸插入或刪除與另一核酸(或其互補股)最佳化對齊時，以任何熟知的序列相同度演算法，例如下文所論述的 FASTA、BLAST 或 Gap 來測量，有至少約 95%，及更佳地至少約 96%、97%、98%或 99%

之核苷酸鹼基具核苷酸序列相同度。與參照核酸分子具有實質上相同性的核酸分子，在特定情況下，可編碼與參照核酸分子所編碼的多肽具有相同或實質上類似胺基酸序列之多肽。

【0076】 當應用於多肽時，術語「實質上類似」係指二個胜肽序列，當以 GAP 或 BESTFIT 程式使用內建缺位權重最佳化對齊時，享有至少 95% 序列相同度，甚佳地至少 98% 或 99% 序列相同度。較佳地，不同的殘基位置係相差在保守性胺基酸取代。「保守性胺基酸取代」為其中一胺基酸殘基係經另一帶有類似化學性質(例如電荷或疏水性)側鏈(R 基)之胺基酸殘基所取代。一般而言，保守性胺基酸取代實質上將不會改變蛋白質的功能特性。在其中彼此有二或多個保守性取代之不同胺基酸序列的案例中，可調高序列相同度之百分比或類似程度以修正此保守性取代作用之性質。調整之方法已為熟習本項技術者所熟知。參見，例如 Pearson(1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331。具有類似化學性質之側鏈的胺基酸基團實例包括(1)脂系側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；(2)脂系-羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；(3)含醯胺側鏈：天門冬醯胺酸和麩醯胺酸；(4)芳香側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；(5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；(6)酸性側鏈：天門冬胺酸和麩胺酸，及(7)含硫側鏈有半胱胺酸和甲硫胺酸。較佳的保守性胺基酸取代基群有：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天門冬胺酸及天門冬醯胺酸-麩醯胺酸。另一種選擇，保守性置換為在 Gonnet 等人(1992) *Science* 256: 1443-1445 所揭示的 PAM250 對數似然矩陣中具有正值之任何變化。「中度保守性」置換為在 PAM250 對數似然矩陣中具有非負值之任何變化。

【0077】 多肽之序列類似性，其亦指序列相同度，典型地係使用序列分析軟體來測量。蛋白分析軟體使用分配至各種取代、刪除和其他修飾作用(包括保守性胺基酸取代)之類似度量值配出類似的序列。例如，GCG 軟

體含有例如 Gap 和 Bestfit 程式，其可用於內定參數，測定密切相關的多肽間，例如來自不同生物物種之同源多肽，或野生型和其突變蛋白間之序列同源性或序列相同度。參見，例如 GCG Version 6.1。多肽序列亦可使用 FASTA，利用內定或建議參數，一種 GCG Version 6.1 內的程式，作比較。FASTA(例如 FASTA2 和 FASTA3)係提供查詢序列和搜尋序列間最佳重疊區之比對和序列相同度百分比(Pearson (2000)前文)。當本發明序列與含有較大量來自不同生物體的序列資料庫作比較時，另一較佳的演算法為使用內定參數之電腦程式 BLAST，特別是 BLASTP 或 TBLASTN。參見，例如 Altschul *et al.*(1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410 及 Altschul *et al.*(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402。

生殖系突變

【0078】 相較於從其衍生抗體之對應的生殖系序列，文中所揭示的抗體係在重鏈可變區之框架區及/或 CDR 區中包括一或多個胺基酸取代、插入及/或刪除。

【0079】 本發明亦包括由任何文中所揭示的胺基酸序列所衍生之抗體及其抗原結合片段，其中在一或多個框架及/或 CDR 區中的一或多個胺基酸係突變成從其衍生抗體之生殖系序列的對應殘基，或另外人類生殖系序列之對應殘基，或對應生殖系殘基之保守胺基酸取代(此等序列改變在文中共同稱為「生殖系突變」)且對於 CD3 抗原具有微弱或未檢出的結合。數種此等辨識 CD3 之示例性抗體係描述於文中表 2 中。

【0080】 再者，本發明之抗體在框架區及/或 CDR 區內可含有任何二或多個生殖系突變之組合，例如，其中特定的個別殘基係突變成特定生殖系序列之對應殘基，而與原始生殖系序列不同的其他殘基係維持原樣或突變成不同生殖系序列之對應殘基。一旦得到後，含有一或多個生殖系突變之抗體及抗原結合片段可檢測其一或多種所欲的性質，例如增強的結合特

異性、微弱或減低的結合親和力、強化的藥物動力學性質、降低的致免疫性等。以給予本揭示文指引之此通用方法所得到的抗體和抗原結合區係涵蓋在本發明中。

【0081】 本發明亦包括抗-CD3 抗體，其包含任何具有一或多個保守取代之文中所揭示的 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列的變體。例如，本發明包括抗-CD3 抗體，其相對於文中表 2 所述之任何 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列，係具有含例如 10 個或更少、8 個或更少、6 個或更少、4 個或更少等之保守性胺基酸取代的 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列。相較於從其衍生個別的抗原結合區之對應的生殖系序列，本發明之抗體及雙特异性抗原結合分子係在重鏈和輕鏈可變區之框架區及/或 CDR 區中包括一或多個胺基酸取代、插入及/或刪除，同時對 CD3 抗原維持或增進所欲的微弱-至-無可偵測結合。「保守性胺基酸取代」為其中一胺基酸殘基係經另一帶有類似化學性質(例如電荷或疏水性)側鏈(R 基)之胺基酸殘基所取代。一般而言，保守性胺基酸取代實質上將不會改變蛋白質的功能特性，亦即此胺基酸取代，就抗-CD3 結合分子的情況係維持或增進此所欲的微弱至無可偵測的結合親和力。具有類似化學性質之側鏈的胺基酸基團實例包括(1)脂系側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；(2)脂系-羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；(3)含醯胺側鏈：天門冬醯胺酸和麩醯胺酸；(4)芳香側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；(5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；(6)酸性側鏈：天門冬胺酸和麩胺酸，及(7)含硫側鏈有半胱胺酸和甲硫胺酸。較佳的保守性胺基酸取代基群有：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天門冬胺酸及天門冬醯胺酸-麩醯胺酸。另一種選擇，保守性置換為在 Gonnet 等人(1992) *Science* 256: 1443-1445 所揭示的 PAM250 對數似然矩陣中具有正值之任何變化。「中度保守性」置換為在 PAM250 對數似然矩陣中具有非負值之任何變

化。

【0082】 本發明亦包括包含抗原結合區之抗原結合分子，其中該抗原結合區係帶有與文中所揭示的任何 HCVR 及/或 CDR 胺基酸序列實質上相同的 HCVR 及/或 CDR 胺基酸序列，同時對 CD3 抗原維持或增進所欲的微弱親和力。術語「實質上一致」或「實質上相同」當係指胺基酸序列時，係表示當，例如以 GAP 或 BESTFIT 程式使用內建缺位權重最佳化對齊時，二個胺基酸序列享有至少約 95% 序列相同度，及甚佳地至少 98% 或 99% 之序列相同度。較佳地，不同的殘基位置係相差在保守性胺基酸取代。在其中彼此有二或多個保守性取代之不同胺基酸序列的案例中，可調高序列相同度之百分比或類似程度以修正此保守性取代作用之性質。調整之方法已為熟習本項技術者所熟知。參見，例如 Pearson(1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331。

【0083】 多肽之序列類似性，其亦稱為序列相同度，典型地係使用序列分析軟體來測量。蛋白分析軟體使用分配至各種取代、刪除和其他修飾作用(包括保守性胺基酸取代)之類似度量值配出類似的序列。例如，GCG 軟體含有例如 Gap 和 Bestfit 程式，其可以內定參數用於測定密切相關的多肽間，例如來自不同生物物種之同源多肽，或介於野生型和其突變蛋白之序列同源性或序列相同度。參見，例如 GCG Version 6.1。多肽序列亦可使用 FASTA，利用內定或建議參數，一種 GCG Version 6.1 內的程式來作比較。FASTA(例如 FASTA2 和 FASTA3)提供查詢序列和搜尋序列間最佳重疊區之比對和序列相同度百分比(Pearson (2000)前文)。當本發明序列與含有較大量來自不同物種的序列資料庫作比較時，另一較佳的演算法為使用內定參數之電腦程式 BLAST，特別是 BLASTP 或 TBLASTN。參見，例如 Altschul *et al.*(1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410 and Altschul *et al.*(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402。

【0084】 一旦得到後，含有一或多個生殖系突變之抗體和抗原結合片段係利用一或多個活體外分析檢測減低的結合親和力。雖然辨識一特定抗原之抗體典型地係就其目的藉由檢測對於抗原之高(亦即強的)結合親和力進行篩選，但本發明抗體具有微弱結合或無可偵測的結合。以此通用方法所得到之包括一或多個抗原結合區地雙特異性抗原結合分子亦涵蓋在本發明中並發現為有利的親和力-驅動之腫瘤治療。

【0085】 從文中所述的方法可了解到意外的利益，例如增進的藥物動力學和對病患低毒性。

抗體之結合親和力

【0086】 如文中所用，在抗體、免疫球蛋白、抗原結合片段或含 Fc 蛋白與預定抗原，例如細胞表面蛋白或其片段之結合中，術語「結合」典型地係指最少二種實體或分子結構之間的交互作用或結合，例如抗體-抗原交互作用。

【0087】 例如，當例如以表面電漿子共振(SPR)技術於 BIAcore 3000 儀器上使用抗原作為配體及抗體、Ig、抗體結合片段或含 Fc 蛋白作為分析物(抗配體)測量時，結合親和力典型地係相當於約 10^{-7} M 或更低之 K_D 值，例如約 10^{-8} M 或更低，例如約 10^{-9} M 或更低。以細胞為基礎的結合策略，例如螢光活化的細胞分類(FACS)結合分析亦為習用的，且 FACS 數據係與其他方法例如放射性配體競爭結合及 SPR 密切相關(Benedict, CA, *J Immunol Methods*. 1997, 201(2):223-31 ; Geuijen, CA, et al. *J Immunol Methods*. 2005, 302(1-2):68-77)。

【0088】 因此，本發明之抗體或抗原結合蛋白可與預定抗原或細胞表面分子(受體例如 CD3)結合，其係具有相當於至少低於其與非特異性抗原(例如 BSA、酪蛋白)結合親和力的 10 倍之 K_D 值。根據本發明，若對應於 K_D 值之抗體親和力係等於或低於非特異性抗原 10 倍，則可視為未檢出的結

合，然而，就產生本發明之雙特異性抗體，此一抗體可能與第二抗原結合臂配對。

【0089】 術語「 K_D 」(M)係指特定的抗體-抗原相互作用之解離平衡常數，或抗體或抗體結合片段與抗原結合之解離平衡常數。 K_D 和結合親和力之間具有逆相關性，因此較小的 K_D 值，親和力越高，亦即越強。因此，術語「較高的親和力」或「較強的親和力」係關於形成相互作用的能力較高且因此 K_D 值較小，而反之，術語「較低的親和力」或「較弱的親和力」係關於形成相互作用的能力較低且因此 K_D 值較大。在某些情況下，特定分子(例如抗體)與其相互作用的夥伴分子(例如受體 X)之較高的結合親和力(或 K_D)，相較於此分子(例如抗體)與另外的夥伴分子(例如受體 Y)之結合親和力，可用較大 K_D 值(較低或較弱親和力)除以較小 K_D (較高或較強親和力)所測定的結合比率來表示，或例如以大於5-倍或10-倍的結合親和力來表示，視情況而定。例如，「較低的親和力」係指較不強的結合交互作用。在某些實施例中，較低的親和力係相當大於約1 nM K_D ，大於約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35，或大於約40 nM K_D ，其中此 K_D 結合親和力值係以活體外表面電漿子共振結合分析或等同的生物分子交互作用感知分析所測定。在某些實施例中，此低的結合親和力係相當大於約10nM EC_{50} ，大於約15 nM EC_{50} ，20nM EC_{50} ，大於約25 nM EC_{50} ，30nM EC_{50} ，大於約35 nM EC_{50} ，或大於約40 nM EC_{50} ，其中此 EC_{50} 結合親和力值係以活體外 FACS 結合分析，或等同的細胞基礎結合分析所測量。「弱親和力」係指弱的結合交互作用。在某些實施例中，弱親和力係相當大於約100 nM K_D 或 EC_{50} ，大於約200、300，或大於約500 nM K_D 或 EC_{50} ，其中此 K_D 結合親和力值係以活體外表面電漿子共振結合分析或等同的生物分子交互作用感知分析所測定，而此 EC_{50} 結合親和力值係以活體外 FACS 結合分析所測，或等同的細胞基礎交互作用偵測分析

來真測單價結合。未檢出的結合係指二種生物分子之間，特別是單價抗體結合臂及其目標抗原之間的親和力，係在所用的分析之偵測極限以外。

【0090】 術語「 K_d 」(sec⁻¹ 或 1/s)，如文中所用，係指特定的抗體-抗原交互作用之解離速率常數，或抗體或抗體結合片段之解離速率常數。該值亦稱為 k_{off} 值。

【0091】 術語「 K_a 」(M⁻¹ x sec⁻¹ 或 1/M)，係指特定的抗體-抗原交互作用之結合速率常數，或抗體或抗體結合片段之結合速率常數。

【0092】 術語「 K_A 」(M⁻¹ 或 1/M)，如文中所用，係指特定的抗體-抗原交互作用之結合平衡常數，或抗體或抗體結合片段之結合平衡常數。此結合平衡常數係由 k_a 除以 k_d 所得來。

【0093】 術語「EC50」或「 EC_{50} 」，係指半數最大有效濃度，其包括引發基線至一特定暴露時間後最大量間之半數反應的抗體濃度。 EC_{50} 基本上係代表其中觀察到 50% 之其最大效用的抗體濃度。在特定的實施例中，此 EC_{50} 值係等於，如，例如 FACS 結合分析所測，得到表現 CD3 的細胞或腫瘤相關抗原之半數最大結合的本發明抗體濃度。因此，隨著增加的 EC_{50} 值，或半數最大有效濃度值，觀察到降低或較弱的結合使得 500 nM EC_{50} 係表示比 50 nM EC_{50} 更弱的結合親和力。

【0094】 在一實施例中，降低的結合可定義為：能與半數最大量之目標細胞結合的 EC_{50} 抗體濃度增加。

【0095】 在其他的實驗測量中，此 EC_{50} 值係代表，因 T 細胞細胞毒性活性引起半數最大目標細胞耗損之本發明抗體濃度。因此，隨著降低的 EC_{50} 值，或半數最大有效濃度值，觀察到增加的細胞毒性活性(例如 T 細胞媒介的腫瘤毒殺)。

雙特異性抗原結合分子

【0096】 本發明之抗體可為雙特異性或多特異性。多特異性抗體可對

一個效應分子，例如 CD3，以及一目標多肽之不同的表位具特異性，或可含有對一個以上的目標多肽具特異性之抗原結合區。參見，例如 Tutt et al., 1991, *J. Immunol.* 147:60-69; Kufer et al., 2004, *Trends Biotechnol.* 22:238-244。本發明之抗-CD3 抗體可與另外的功能分子，例如另外的胜肽或蛋白相連結或共表現。例如，抗體或其片段可與一或多個其他的分子實體，例如另外的抗體或抗體片段功能性連接(例如以化學偶合、基因融合、非共價連結或其他)，產生帶有第二結合特異性之雙特異性或多特異性抗體。

【0097】 文中所使用的詞語「抗-CD3 抗體」希望係包括單特異性抗-CD3 抗體以及包含一 CD3-結合臂和與目標抗原結合之第二結合臂的雙特異性抗體。因此，本發明係包括雙特異性抗體，其中免疫球蛋白之一臂係與人類 CD3 結合，而免疫球蛋白之另一臂係對一目標抗原具特異性。與 CD3 雙特異性抗體之另一臂結合的目標抗原可為表現在細胞、組織、器官、微生物或病毒上或其中，而對抗此抗原的標靶免疫反應為所欲的之任何抗原。CD3-結合臂可包括如文中表 2 所列之任何 HCVR 或 CDR 胺基酸序列。在特定的實施例中，此 CD3-結合臂係微弱地與人類 CD3 結合並引發人類 T 細胞活化。在其他的實施例中，在雙特異性或多特異性抗體的情況下，此 CD3-結合臂係微弱地與人類 CD3 結合並引發腫瘤有關的抗原表現細胞毒殺。在其他的實施例中，此 CD3-結合臂係微弱地與人類和獼猴(猴子)CD3 結合或連結，而此結合交互作用以本項技術中已知的活體外分析並未檢出。在本發明的某些實施例中，此 CD3-結合臂不會與人類和獼猴(猴子)CD3 結合或連結，而此雙特異性分子仍引起腫瘤有關的細胞毒殺。

【0098】 在其中抗體的一臂係與 CD3 結合而另一臂係與目標抗原結合之本發明雙特異性抗體的情況下，此目標抗原可為一腫瘤相關的抗原 (TAA)。特異性腫瘤-相關抗原之非限定實例包括，例如 AFP、ALK、BAGE proteins、BIRC5(survivin)、BIRC7、 β -連環蛋白(β -catenin)、bcr-abl、BRCA1、

BORIS、CA9、碳酸酐酶 IX、半胱天冬酶-8(caspase-8)、CALR、CCR5、CD19、CD20(MS4A1)、CD22、CD30、CD40、CDK4、CEA、CTLA4、cyclin-B1、CYP1B1、EGFR、EGFRvIII、ErbB2/Her2、ErbB3、ErbB4、ETV6-AML、EpCAM、EphA2、Fra-1、FOLR1、GAGE 蛋白(例如 GAGE-1、-2)、GD2、GD3、GloboH、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3)、GM3、gp100、Her2、HLA/B-raf、HLA/k-ras、HLA/MAGE-A3、hTERT、LMP2、MAGE 蛋白(例如 MAGE-1、-2、-3、-4、-6 和-12)、MART-1、間皮素(mesothelin)、ML-IAP、Muc1、Muc2、Muc3、Muc4、Muc5、Muc16(CA-125)、MUM1、NA17、NY-BR1、NY-BR62、NY-BR85、NY-ESO1、OX40、p15、p53、PAP、PAX3、PAX5、PCTA-1、PLAC1、PRLR、PRAME、PSMA(FOLH1)、RAGE 蛋白、Ras、RGS5、Rho、SART-1、SART-3、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TGF- β 、TMPRSS2、Thompson-nouvelle 抗原(Tn)、TRP-1、TRP-2、酪胺酸酶及 uroplakin-3。

【0099】 發明者們預想，本發明係包括許多具有依照本發明所製造之微弱抗-CD3 結合臂的雙特異性抗體之實例。

【0100】 根據特定的示例實施例，本發明係包括與 CD3 和 PSMA 特異性結合之雙特異性抗原結合分子。此等分子在文中可稱為，例如「抗-CD3/抗-PSMA」，或「抗-CD3xPSMA」或「CD3xPSMA」雙特異性分子等。除非有指出係來自非人類物種(例如「小鼠 PSMA」、「猴子 PSMA」等)，否則術語「PSMA」如文中所用係指人類 PSMA 蛋白。

【0101】 術語「PSMA」係指前列腺特異性膜抗原，亦稱為葉酸水解酶 1(FOLH1)(UniProtKB/Swiss-Prot. No. Q04609；SEQ ID NO: 171)。PSMA 為一種完整、無脫落的膜糖蛋白，其係高度表現在前列腺上皮細胞且為一種前列腺癌之細胞表面標記。

【0102】 根據其他示例性實施例，本發明係包括與 CD3 和 EGFRvIII

特異性結合之雙特異性抗原結合分子。此等分子在文中可稱為，例如「抗-CD3/抗-EGFRvIII」或「抗-CD3x EGFRvIII」或「CD3x EGFRvIII」雙特異性分子等。除非有指出係來自非人類物種(例如「小鼠 EGFRvIII」、「猴子 EGFRvIII」等)，否則術語「EGFRvIII」係指人類 EGFRvIII 蛋白。

【0103】 術語「EGFRvIII」係指表皮生長因子受體第 III 類變體 (EGFRvIII; SEQ ID NO: 172)，其為膠質母細胞瘤中所常發現的 EGFR 變體 (Bigner *et al.*, 1990, *Cancer Res* 50:8017-8022; Humphrey *et al.*, 1990, *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4207-4211; Yamazaki *et al.*, 1990, *Jap J Cancer Res* 81:773-779; Ekstrand *et al.*, 1992, *Proc Natl Acad Sci USA* 89:4309-4313; Wikstrand *et al.*, 1995, *Cancer Res* 55:3140-3148; 及 Frederick *et al.*, 2000, *Cancer Res* 60:1383-1387)。EGFRvIII 其特徵為 EGFR 基因的外顯子 2-7 刪除，產生一編碼區之 801 鹼基對的框內刪除，亦即刪除 6-273 胺基酸殘基(以成熟的 EGFR 之殘基編號為基準; 參見 UniProtKB/Swiss-Prot. No. P00533)，以及在融合連接處產生一新的甘胺酸(Humphrey *et al.*, 1988, *Cancer Res* 48:2231-2238; Yamazaki *et al.*, 1990, *supra*)。EGFRvIII 已顯示具有配體-依賴、微弱但組成性活化的激酶活性，以及增強的致腫瘤性(Nishikawa *et al.*, 1994, *Proc Natl Acad Sci USA* 91:7727-7731; 及 Batra *et al.*, 1995, *Cell Growth and Differentiation* 6:1251-1259)。除了膠質細胞瘤，已在乳管和乳管內乳癌(Wikstrand *et al.*, 1995, *Cancer Res* 55:3140-3148)、非小細胞肺癌(Garcia de Palazzo *et al.*, 1993, *Cancer Res* 53:3217-3220)、卵巢癌(Moscatello *et al.*, 1995, *Cancer Res* 55:5536-5539)、前列腺癌(Olapade-Olaopa *et al.*, 2000, *British J Cancer* 82:186-194)以及頭頸之鱗狀細胞癌(Tinhofer *et al.*, 2011, *Clin Cancer Res* 17(15):5197-5204)中偵測到 EGFRvIII。

【0104】 又在其他的示例性實施例中，本發明係包括與 CD3 和 MUC16 特異性結合之雙特異性抗原結合分子。此等分子在文中可稱為，例

如「抗-CD3/抗-MUC16」或「抗-CD3x MUC16」或「CD3xMUC16」雙特異性分子等。除非有指出係來自非人類物種(例如「小鼠 MUC16」、「猴子 MUC16」等)，否則術語「MUC16」係指人類 MUC16 蛋白。

【0105】 Mucin 16(MUC16；NCBI 參照序列：NP_078966.2, SEQ ID NO: 173)，另外亦稱為癌抗原 125(CA-125)，在人類中為一種由 *MUC16* 基因所編碼的黏蛋白。黏蛋白家族已知係藉由病原體與寡糖在胞外區結合來保護身體免於感染，防止病原體到達細胞表面。許多年來，MUC16/CA125 之過度表現已用作為卵巢癌之預測和診斷標記(Yin and Lloyd, 2001, *J. Biol. Chem.* 276(29), 27371-27375；O'Brien, TJ, *et al.*, 2001, *Tumour Biol.* 22(6), 348-366；Leggieri, C. *et al.*, 2014, *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 35(4), 438-441)。MUC16 已顯示，以其可與 galectin-1(一種免疫抑制蛋白)結合之重度糖基化綜排重複區，保護腫瘤細胞避開免疫系統(Seelenmeyer, C., *et al.*, 2003, *J. Cell. Sci.* 116(Pt 7): 1305-18；O'Brien, TJ, *et al.*, 2002, *Tumour Biol.* 23(3), 154-169)。天然的殺手細胞和單核細胞無法攻擊表現高量 MUC16 之腫瘤細胞。在其在正常的生理學角色中，MUC16-galactin 交互作用作為細菌和病毒感染之屏障，然而，在腫瘤細胞的情況下，MUC16 感信為免疫保護性，因而防止癌細胞之細胞溶解(Felder, M. *et al.*, 2014, *Molecular Cancer*, 13:129)。MUC16 因此為所投予之藉由活化免疫系統治療卵巢癌的免疫治療雙特異性抗體分子之所欲目標。

【0106】 又在其他的示例性實施例中，本發明係包括與 CD3 和 STEAP2 特異性結合之雙特異性抗原結合分子。此等分子在文中可稱為，例如「抗-CD3/抗-STEAP2」或「抗-CD3xSTEAP2」或「CD3xSTEAP2」雙特異性分子等。除非有指出係來自非人類物種(例如「小鼠 STEAP2」、「猴子 STEAP2」等)，否則術語「STEAP2」如文中所用係指人類 STEAP2 蛋白。前列腺 2 之六跨膜上皮抗原(STEAP2；UniProtKB/Swiss-Prot: Q8NFT2.3)為

一種 490 個胺基酸之蛋白，其係由位於人類 7q21 染色體區的 *STEAP2* 基因所編碼。

【0107】 與腫瘤相關抗原特異性結合的前述雙特異性抗原結合分子，如活體外親和結合分析所測，係包括以微弱或未檢出的結合力，例如具有大於約 100 nM、300 nM 或 500 nM 之 K_D 與 CD3 結合的抗-CD3 抗原結合分子。

【0108】 如文中所用，「抗原結合分子」一詞係指與特定抗原特異性結合之包括或由至少一個互補決定區(CDR)單獨或與一或多個另外的 CDR 及/或框架區(FR)組合所組成之蛋白、多肽或分子複合物。在特定的實施例中，抗原結合分子為一抗體或抗體之片段，而該等術語係定義於文中他處。

【0109】 如文中所用，「雙特異性抗原結合分子」一詞係指包括至少一第一抗原結合區和一第二抗原結合區之蛋白、多肽或分子複合物。與特定抗原特異性結合之雙特異性抗原結合分子內的各抗原結合區係包括至少單獨一個 CDR 或與一或多個另外的 CDR 及/或 FR 組合。在本發明內文中，第一抗原結合區係與第一抗原(例如 CD3)特異性結合，而第二抗原結合區係與第二，不同的抗原(例如 PSMA、MUC16、EGFRvIII 或 *STEAP2*)特異性結合。

【0110】 在本發明特定的示例性實施例中，此雙特異性抗原結合分子為雙特異性抗體。雙特異性抗體之各抗原結合區係包括一重鏈可變區(HCVR)和一輕鏈可變區(LCVR)。就包括第一和第二抗原結合區之雙特異性抗原結合分子(例如雙特異性抗體)之情況，第一抗原結合區的 CDR 可以字首「A1」來定名，而第二抗原結合區之 CDR 可以字首「A2」來定名。因此，第一抗原結合區之 CDR 在文中可稱為 A1-HCDR1、A1-HCDR2 及 A1-HCDR3；而第二抗原結合區之 CDR 在文中可稱為 A2-HCDR1、A2-HCDR2 及 A2-HCDR3。

【0111】 第一抗原結合區和第二抗原結合區可直接或間接彼此相連形成本發明之雙特異性抗原結合分子。另一種選擇，第一抗原結合區和第二抗原結合區可各自與個別的多聚化區連接。一多聚化區與另一個多聚化區連結係幫助二個抗原結合區之間的連結，藉此形成雙特異性抗原結合分子。如文中所用，「多聚化區」為具有與相同或類似結構或組成之第二多聚化區結合之能力的任何大分子、蛋白、多肽、胜肽或胺基酸。例如，多聚化區可為包括一免疫球蛋白 C_H3 區之多肽。多聚化組份之非限定實例為免疫球蛋白(包括一 C_H2-C_H3 區)之 Fc 部份，例如選自同型 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4，以及各同型群族中的任何異型之 IgG 的 Fc 區。

【0112】 本發明之雙特異性抗原結合分子典型地係包括二個多聚化區，例如二個為個別抗體重鏈之各個別部份的 Fc 區。第一和第二多聚化區可為相同的 IgG 同型，例如 IgG1/IgG1、IgG2/IgG2、IgG4/IgG4。另一種選擇，第一和第二多聚化區可為不同的 IgG 同型，例如 IgG1/IgG2、IgG1/IgG4、IgG2/IgG4 等。

【0113】 在特定的實施例中，多聚化區為含有至少一個半胱胺酸殘基之長度 1 至約 200 個胺基酸的 Fc 片段或胺基酸序列。在其他的實施例中，此多聚化區為一半胱胺酸殘基或含有半胱胺酸的短胜肽。其他的多聚化區係包括含有或由白胺酸拉鏈、螺旋-環模組或纏繞線圈模組所組成的胜肽或多肽。

【0114】 任何雙特異性抗體模式或技術可用來製造本發明之雙特異性抗原結合分子。例如具有第一抗原結合特異性之抗體或其片段可與一或多個其他的分子實體，例如具有第二抗原結合特異性之另外的抗體或抗體片段功能性連接(例如以化學偶合、基因融合、非共價連結或其他)，產生一特異性抗原結合分子。可用於本發明內文中之特定示例性雙特異性模式包括(不限於)，例如 scFv-為基礎或雙抗體雙特異性模式、IgG-scFv 融合物、

雙可變區(DVD)-Ig、四源雜交瘤(Quadroma)、knobs-into-holes、共同輕鏈(例如帶有 knobs-into-holes 之共同輕鏈等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)body、白胺酸拉鏈、Duobody、IgG1/IgG2、雙作用 Fab(DAF)-IgG 和 Mab² 雙特異性模式(參見，例如 Klein *et al.* 2012, mAbs 4:6, 1-11 及文中所引述的參考文獻，作為前述模式之審視)。

【0115】 相較於野生型，天然生成版本的 Fc 區，在本發明之雙特異性抗原結合分子內容中，多聚化區，例如 Fc 區可包括一或多個胺基酸變化(例如插入、刪除或取代)。例如，本發明係包括在 Fc 區中包含一或多個修飾，其造成經修飾的 Fc 區在 Fc 和 FcRn 之間具有修飾的結合交互作用(例如增強或減少)之雙特異性抗原結合分子。在一實施例中，此雙特異性抗原結合分子係包括 C_H2 或 C_H3 區中之修飾，其中該修飾增加了酸性環境中 Fc 區對 FcRn 之親和力(例如在其中 pH 範圍從約 5.5 至約 6.0 的核內體中)。此等 Fc 修飾之非限定實例包括，例如位置 250(例如 E 或 Q)；250 和 428(例如 L 或 F)；252(例如 L/Y/F/W 或 T)，254(例如 S 或 T)，和 256(例如 S/R/Q/E/D 或 T)之修飾；或位置 428 及/或 433(例如 L/R/S/P/Q 或 K)及/或 434(例如 H/F 或 Y) 之修飾；或位置 250 及/或 428 之修飾；或位置 307 或 308(例如 308F, V308F)和 434 之修飾。在一實施例中，此修飾係包括一 428L(例如 M428L)和 434S(例如 N434S)修飾；428L、259I(例如 V259I)和 308F(例如 V308F)修飾；一 433K(例如 H433K)和 a 434(例如 434Y)修飾；一 252、254 和 256(例如 252Y、254T 和 256E)修飾；一 250Q 和 428L 修飾(例如 T250Q 和 M428L)；及一 307 及/或 308 修飾(例如 308F 或 308P)。

【0116】 本發明亦包括包含第一 C_H3 區及第二 Ig C_H3 區之雙特異性抗原結合分子，其中該第一和第二 Ig C_H3 區至少有一胺基酸互不相同，且相較於無此胺基差異之雙特異性抗體，其中至少一胺基酸之差異降低了雙特異性抗體與蛋白 A 之結合。在一實施例中，第一 Ig C_H3 區係與蛋白 A 結

合而第二 Ig C_H3 區係含有降低或消除蛋白 A 結合之突變，例如 H95R 修飾 (IMGT 外顯子編號；EU 編號為 H435R)。第二 C_H3 可進一步包括 Y96F 修飾 (IMGT 編號；EU 為 Y436F)。在第二 C_H3 中可發現的另外修飾作用，就 IgG1 抗體之情況而言係包括：D16E、L18M、N44S、K52N、V57M 和 V82I (IMGT 編號；EU 編號為 D356E、L358M、N384S、K392N、V397M 和 V422I)；及就 IgG2 抗體之情況為 N44S、K52N 和 V82I (IMGT 編號；EU 編號為 N384S、K392N 和 V422I)；及就 IgG4 抗體之情況為 Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q 和 V82I (IMGT 編號；EU 編號為 Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q 和 V422I)。

【0117】 在特定的實施例中，此 Fc 區可為衍生自一或多個免疫球蛋白同型之嵌合的組合 Fc 序列。例如，嵌合的 Fc 區可包括衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 C_H2 區之部份或全部的 C_H2 序列，或衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 之部份或全部的 C_H3 序列。嵌合的 Fc 區亦可含有一嵌合的絞鏈區。例如，一嵌合的絞鏈可包括一衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 絞鏈區的「上絞鏈」序列，與一衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 絞鏈區的「下絞鏈」序列組合。可包括在文中所述的任何抗原結合分子中的嵌合 Fc 區之特定實例，從 N-端至 C-端係包括：[IgG4 C_H1]-[IgG4 上絞鏈]-[IgG2 下絞鏈]-[IgG4 CH2]-[IgG4 CH3]。可包括在文中所述的任何抗原結合分子中的嵌合 Fc 區之另外的實例，從 N-端至 C-端係包括：[IgG1 C_H1]-[IgG1 上絞鏈]-[IgG2 下絞鏈]-[IgG4 CH2]-[IgG1 CH3]。這些和其他可包括在本發明之任何抗原結合分子中的嵌合 Fc 區之實例，係描述於 2014 年 8 月 7 日公開的 PCT 國際公開案第 WO2014/121087 A1 號中，其係以全文引用的方式併入本文中。具有這些通用結構排列的嵌合 Fc 區及其變體，可能具有改變的 Fc 受體結合，其轉而影響 Fc 效應子功能。

【0118】 在特定的實施例中，本發明係提供一抗體重鏈，其中該重鏈

恆定(CH)區係包括與任一 SEQ ID NO: 182、SEQ ID NO: 183、SEQ ID NO: 184、SEQ ID NO: 185、SEQ ID NO: 186、SEQ ID NO: 187、SEQ ID NO: 188、SEQ ID NO: 189、SEQ ID NO: 190 或 SEQ ID NO: 191 至少 95%，至少 96%，至少 97%，至少 98%，至少 99%相同的胺基酸序列。在某些實施例中，此重鏈恆定(CH) 區係包括由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO: 182、SEQ ID NO: 183、SEQ ID NO: 184、SEQ ID NO: 185、SEQ ID NO: 186、SEQ ID NO: 187、SEQ ID NO: 188、SEQ ID NO: 189、SEQ ID NO: 190 和 SEQ ID NO: 191。

【0119】 在其他的實施例中，本發明係提供一抗體重鏈，其中該 Fc 區係包括與任一 SEQ ID NO: 192、SEQ ID NO: 193、SEQ ID NO: 194、SEQ ID NO: 195、SEQ ID NO: 196、SEQ ID NO: 197、SEQ ID NO: 198、SEQ ID NO: 199、SEQ ID NO: 200 或 SEQ ID NO: 201 至少 95%，至少 96%，至少 97%，至少 98%，至少 99%相同的胺基酸序列。在某些實施例中，此 Fc 區係包括由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO: 192、SEQ ID NO: 193、SEQ ID NO: 194、SEQ ID NO: 195、SEQ ID NO: 196、SEQ ID NO: 197、SEQ ID NO: 198、SEQ ID NO: 199、SEQ ID NO: 200 和 SEQ ID NO: 201。

其他 Fc 變體

【0120】 根據本發明特定的實施例，係提供包括一 Fc 區之抗-CD3 抗體及抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子，其中該 Fc 區係包括一或多個相較於中性 pH，例如在酸性 pH 時，強化或減少抗體與 FcRn 受體結合之突變。例如，本發明係包括在 Fc 區域之 C_H2 或 a C_H3 區中包含一突變之抗體，其中該突變係增加 Fc 區與 FcRn 在酸性環境之親和力(例如在 pH 範圍從約 5.5 至約 6.0 之核內體中)。當投予動物時，此等突變可使抗體的血清半衰期增加。此等 Fc 修飾之非限定實例包括，例如位置 250(例如 E 或 Q)；

250 和 428(例如 L 或 F);252(例如 L/Y/F/W 或 T)、254(例如 S 或 T)和 256(例如 S/R/Q/E/D 或 T)之修飾；或位置 428 及/或 433(例如 H/L/R/S/P/Q 或 K)及/或 434(例如 H/F 或 Y)之修飾；或位置 250 及/或 428 之修飾；或位置 307 或 308(例如 308F、V308F)和 434 之修飾。在一實施例中，此修飾係包括一 428L(例如 M428L)和 434S(例如 N434S)修飾；一 428L、259I(例如 V259I)和 308F(例如 V308F)修飾；一 433K(例如 H433K)和一 434(例如 434Y)修飾；一 252、254 和 256(例如 252Y、254T 和 256E)修飾；一 250Q 和 428L 修飾(例如 T250Q 和 M428L)；以及一 307 及/或 308 修飾(例如 308F 或 308P)。

【0121】 例如，本發明係包括包含一 Fc 區之抗-CD3 抗體及抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子，而該 Fc 區係包括一或多對或一或多組由下列組成之群中選出的突變：250Q 和 248L(例如 T250Q 和 M248L)；252Y、254T 和 256E(例如 M252Y、S254T 和 T256E)；428L 和 434S(例如 M428L 和 N434S)；以及 433K 和 434F(例如 H433K 和 N434F)。文中所揭示的抗體可變區內所有可能的前述 Fc 區突變之組合，和其他突變係涵蓋在本發明的範圍內。

抗體及雙特異性抗原結合分子之生物特性

【0122】 本發明係包括能同時與人類 CD3 和人類 TAA 結合之雙特異性抗原結合分子(例如雙特異性抗體)。根據特定的實施例，本發明之雙特異性抗原結合分子係與表現 CD3 及/或 TAA，例如 PSMA、EGFR ν III 或 MUC16 之細胞特異性交互作用。與表現 CD3 之細胞交互作用的結合臂，如以適合的活體外結合分所測量，可能具有微弱至未檢出的結合。雙特異性抗原結合分子與表現 CD3 及/或 TAA 之細胞結合的程度可藉由如文中實例 4 中所說明的螢光活化細胞分類(FACS)來評估。

【0123】 例如，本發明係包括與表現 CD3 但不會表現 TAA(例如 Jurkat)之人類 T-細胞株、靈長類 T-細胞(例如獼猴周邊血液單核細胞[PBMNC])

及/或 TAA-表現細胞特異性結合之抗體、抗原結合片段及其雙特異性抗體。本發明係包括，如使用實例 4 中所述的 FACS 結合分析或實質上類似的分析所測，以約 1.8×10^{-8} (18 nM) 至約 2.1×10^{-7} (210 nM) 或更高(亦即較弱的親和力)之 EC_{50} 值與前述 T 細胞及 T 細胞株結合的雙特異性抗原結合分子，以及包括無法偵測到 EC_{50} 之雙特異性抗體。在特定的實施例中，本發明之抗體、抗原結合片段及雙特異性抗體，如藉由 FACS 結合，例如使用文中實例 4 中所定義的分析模式或實質上類似的分析所測，係以大於約 30 nM，大於約 40 nM，大於約 45 nM，大於約 50 nM，大於約 55 nM，大於約 60 nM，大於約 65 nM，大於約 70 nM，大於約 75 nM，至少 80 nM，大於約 90 nM，大於約 100 nM，大於約 110 nM，至少 120 nM，大於約 130 nM，大於約 140 nM，大於約 150 nM，至少 160 nM，大於約 170 nM，大於約 180 nM，大於約 190 nM，大於約 200 nM，大於約 250 nM，大於約 300 nM，大於約 500 nM，大於約 1 μ M，大於約 2 μ M，或大於約 3 μ M 之 EC_{50} 或未檢出的結合親和力與 CD3 結合。

【0124】 本發明亦包括，如使用實例 4 中所述的 FACS 結合分析或實質上類似的細胞分析所測，以低於約 100 nM 之 EC_{50} 值或甚至低於結合所需濃度(亦即較強的親和力)，例如低於 5.6 nM(5.6×10^{-9})與 TAA-表現細胞和細胞株，例如 PSMA-、EGFR ν III-、STEAP2-和 MUC16-表現細胞株結合之抗體、抗原結合片段及其雙特異性抗體。本發明係包括，例如使用前述分析，以低於約 50 nM，低於約 45 nM，低於約 40 nM，低於約 35 nM，低於約 30 nM，低於約 25 nM，低於約 20 nM，低於約 15 nM，低於約 10 nM，低於約 6 nM，低於約 5 nM,或低於約 1 nM 之 EC_{50} 值與前述腫瘤細胞株結合的雙特異性抗原結合分子。

【0125】 本發明係包括以低、微弱或甚至未檢出的親和力與人類 CD3 結合之抗體、抗原結合片段及其雙特異性抗體。根據特定的實施例，如以

表面電漿子共振，例如使用文中實例 5 中所定義的分析模式所測，本發明係包括以大於約 11 nM 之 K_D 與人類 CD3(例如於 37°C)結合之抗體及抗體的抗原結合片段，包括以大於約 100 nM 或 500 nM 之 K_D 與 CD3 結合的抗體，以及包括不具有可偵測親和力之抗體。在特定的實施例中，如藉由表面電漿子共振，例如使用文中實例 5 中所定義的分析模式(例如 mAb-捕捉或抗原-捕捉模式)或實質上類似的分析所測，本發明之抗體或抗原結合片段係以大於約 15 nM，大於約 20 nM，大於約 25 nM，大於約 30 nM，大於約 35 nM，大於約 40 nM，大於約 45 nM，大於約 50 nM，大於約 55 nM，大於約 60 nM，大於約 65 nM，大於約 70 nM，大於約 75 nM，至少 80 nM，大於約 90 nM，大於約 100 nM，大於約 110 nM，至少 120 nM，大於約 130 nM，大於約 140 nM，大於約 150 nM，至少 160 nM，大於約 170 nM，大於約 180 nM，大於約 190 nM，大於約 200 nM，大於約 250 nM，大於約 300 nM，大於約 1 μ M，大於約 2 μ M，或大於約 3 μ M 之 K_D 或未檢出的親和力與 CD3 結合。

【0126】 本發明係包括以低、微弱或甚至未檢出的親和力與猴子(亦即獼猴)CD3 結合之抗體、抗原結合片段及其雙特異性抗體。根據特定的實施例，如以表面電漿子共振，例如使用文中實例 5 中所定義的分析模式所測，本發明係包括以大於約 10 nM 之 K_D 與人類 CD3(例如於 37°C)結合之抗體、抗原結合片段及其雙特異性抗體，包括以大於約 100 nM 或 500 nM 之 K_D 與 CD3 結合的抗體，以及包括不具有可偵測親和力之抗體。在特定的實施例中，如藉由表面電漿子共振，例如使用文中實例 5 中所定義的分析模式(例如 mAb-捕捉或抗原-捕捉模式)或實質上類似的分析所測，本發明之抗體或抗原結合片段係以大於約 15 nM，大於約 20 nM，大於約 25 nM，大於約 30 nM，大於約 35 nM，大於約 40 nM，大於約 45 nM，大於約 50 nM，大於約 55 nM，大於約 60 nM，大於約 65 nM，大於約 70 nM，大於約 75 nM，至少 80 nM，大於約 90 nM，大於約 100 nM，大於約 110 nM，至少 120 nM，

大於約 130 nM，大於約 140 nM，大於約 150 nM，至少 160 nM，大於約 170 nM，大於約 180 nM，大於約 190 nM，大於約 200 nM，大於約 250 nM，大於約 300 nM，大於約 1 μ M，大於約 2 μ M，或大於約 3 μ M 之 K_D 或未檢出的親和力與 CD3 結合。

【0127】 本發明係包括與人類 CD3 結合並引發 T 細胞活化之抗體、抗原結合片段及其雙特異性抗體。例如，如藉由活體外 T 細胞活化分析，例如使用文中實例 6 中所定義的分析模式[例如在抗-CD3 抗體的存在下評估總 T 細胞(CD2+)中活化的(CD69+)細胞之百分比]或評估處於活化狀態之 T 細胞的實質上類似分析所測，本發明係包括以低於約 113 pM 之 EC_{50} 值引發人類 T 細胞活化的抗-CD3 抗體。在特定的實施例中，本發明之抗體或抗原結合片段，如藉由活體外 T 細胞活化分析，例如使用文中實例 6 中所定義的分析模式或實質上類似的分析所測，係以低於約 100 pM，低於約 50 pM，低於約 20 pM，低於約 19 pM，低於約 18 pM，低於約 17 pM，低於約 16 pM，低於約 15 pM，低於約 14 pM，低於約 13 pM，低於約 12 pM，低於約 11 pM，低於約 10 pM，低於約 9 pM，低於約 8 pM，低於約 7 pM，低於約 6 pM，低於約 5 pM，低於約 4 pM，低於約 3 pM，低於約 2 pM 或低於約 1 pM 之 EC_{50} 值引發人類 T 細胞活化[例如活化的(CD69+)T 細胞百分比]。如實例 6 中所示例，儘管對 CD3 具有微弱或未檢出的結合親和力，對 CD3 具有微弱或未檢出結合之抗-CD3 抗體係以高效力(亦即 pM 範圍)引發 T 細胞活化。

【0128】 本發明亦包括與人類 CD3 結合並引發 T 細胞-媒介的腫瘤抗原表現細胞毒殺之抗體、抗原結合片段及雙特異性抗體。例如，如以活體外 T 細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺分析，例如使用文中實例 6 中所定義的分析模式[例如在抗-CD3 抗體的存在下評估腫瘤抗原表現細胞，例如 PSMA-表現、EGFRvIII-表現或 MUC16-表現細胞被人類 PBMC 毒殺之程度]或實質上類似分析所測，本發明係包括以低於約 1.3 nM 之 EC_{50} 引發 T 細胞-媒介的

腫瘤細胞毒殺的抗-CD3 抗體。在特定的實施例中，本發明之抗體或抗原結合片段，如以活體外 T 細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺分析，例如使用文中實例 6 中所定義的分析模式或實質上類似分析所測，係以低於約 1 nM，低於約 400 pM，低於約 250 pM，低於約 100 pM，低於約 50 pM，低於約 40 pM，低於約 30 pM，低於約 20 pM，低於約 10 pM，低於約 9 pM，低於約 8 pM，低於約 7 pM，低於約 6 pM，低於約 5 pM，低於約 4 pM，低於約 3 pM，低於約 2 pM 或低於約 1 pM 之 EC₅₀ 值引發 T 細胞-媒介的腫瘤細胞毒殺(例如 PBMC-媒介 OVCAR3 細胞毒殺)。

【0129】 本發明亦包括，如於 25°C 或 37°C 藉由表面電漿子共振，例如使用文中實例 5 中所定義的分析模式或實質上類似的分析所測，以低於約 10 分鐘之解離半衰期($t_{1/2}$)與 CD3 結合之抗體、抗原結合片段及其雙特異性抗體。在特定的實施例中，如於 25°C 或 37°C 藉由表面電漿子共振，例如使用文中實例 5 中所定義的分析模式(例如 mAb-捕捉或抗原-捕捉模式)或實質上類似的分析所測，係以低於約 9 分鐘，低於約 8 分鐘，低於約 7 分鐘，低於約 6 分鐘，低於約 5 分鐘，低於約 4 分鐘，低於約 3 分鐘，低於約 2 分鐘，低於約 1.9 分鐘或低於約 1.8 分鐘之 $t_{1/2}$ 或具有非常弱或未檢出結合與 CD3 結合。

【0130】 本發明之抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子可另外具有一或多項由下列組成之群中選出的特性：(a)於活體外引發 PBMC 增生；(b)在人類全血中經由引發 IFN γ 釋放及 CD25 上調活化 T-細胞；及(c)在抗-TAA-阻抗的細胞株上引發 T-細胞媒介的細胞毒性。

【0131】 本發明係包括能於患者中消除腫瘤抗原表現細胞之抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子(參見，例如實例 7)。例如，根據特定的實施例，係提供抗-CD3/抗-PSMA、抗-CD3/抗-MUC16 或抗-CD3/抗-STEAP2 雙特異性抗原結合分子，其中單一投予患者 1 μ g 或 10 μ g 或 100 μ g 的雙特

異性抗原結合分子(例如以約 0.1 mg/kg, 約 0.08 mg/kg, 約 0.06 mg/kg, 約 0.04 mg/kg, 約 0.04 mg/kg, 約 0.02 mg/kg, 約 0.01 mg/kg 或更低的劑量)造成該患者中腫瘤抗原表現細胞的數目下降(該患者中腫瘤生長受到壓抑或抑制)至可偵測量以下。在特定的實施例中, 單一投予約 0.4 mg/kg 劑量之抗-CD3/抗-PSMA 雙特異性抗原結合分子, 在投予該患者雙特異性抗原結合分子後約第 7 天, 約第 6 天, 約第 5 天, 約第 4 天, 約第 3 天, 約第 2 天, 約第 1 天, 造成該患者中腫瘤生長下降至可偵測量以下。根據特定的實施例, 單一投予約 0.01 mg/kg 劑量之本發明抗-CD3/抗-PSMA 雙特異性抗原結合分子, 造成 PSMA-表現的腫瘤細胞數目在給藥後直到至少約 7 天, 約 8 天, 約 9 天, 約 10 天, 約 11 天, 約 12 天, 約 13 天, 約 14 天, 約 15 天, 約 16 天, 約 17 天或更久, 仍維持在可偵測量以下。如文中所用, 「可偵測量以下」一詞係指在一患者中, 使用標準的測徑器測量方法, 例如文中實例 7 中所述, 直接或間接皆無偵測到皮下生長的腫瘤細胞。在特定的實施例中, 單一投予 10 µg 劑量的抗-CD3/抗-MUC16 雙特異性抗原結合分子在約第 6 天造成患者中腫瘤生長抑制, 並維持腫瘤抑制直到投予該患者雙特異性抗原結合分子後的第 26 天。在腫瘤植入後約至少 7 天接受單一投予約 10 µg 劑量的抗-CD3/抗-MUC16 雙特異性抗原結合分子之患者中, 在腫瘤植入患者後約第 26 天, 此雙特異性抗原結合分子在患者中展現抑制建立的腫瘤免於進一步生長。根據特定的實施例, 單一投予約 0.1 mg/kg 劑量的本發明抗-CD3/抗-MUC16 雙特異性抗原結合分子, 在投予此雙特異性分子後, 抑制 MUC16-表現的腫瘤細胞生長達至少約 7 天, 8 天, 9 天, 10 天, 11 天, 12 天, 13 天, 14 天, 15 天, 16 天, 17 天, 18 天, 19 天, 20 天或更久。參見, 例如實例 8。

【0132】 在特定的實施例中, 單一投予約 0.1 mg/kg 或 0.01 mg/kg 劑量的抗-CD3/抗-STEAP2 雙特異性抗原結合分子持續抑制腫瘤生長直到至

少投予該患者雙特異性抗原結合分子和腫瘤後的第 46 天。根據特定的實施例，單一投予至少約 0.1 mg/kg，約 0.08 mg/kg，約 0.06 mg/kg，約 0.05 mg/kg，約 0.04 mg/kg，約 0.03 mg/kg，約 0.02 mg/kg，約 0.01 mg/kg 或更少劑量的本發明抗-CD3/抗-STEAP2 雙特異性抗原結合分子，在投予雙特異性分子後，抑制 STEAP2-表現的腫瘤細胞生長至少約 20 天，30 天，35 天，40 天，45 天或更久。參見，例如實例 10。

【0133】 在其他的實施例中，對效應細胞具有微弱結合親和力之 CD3 靶向結合臂的抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子，在一活體外藥物動力學研究中相較於相同抗-TAA 結合臂和強 CD3 結合臂，係展現降低的藥物排除率。此等結果顯示，包括較弱結合力的 CD3 靶向臂之雙特異性分子可能具有有利的藥物暴露量(AUC_{last})及藥物排除樣貌(抗體清除)。參見，例如實例 9。

【0134】 本發明係提供抗-CD3/抗-PSMA、抗-CD3/抗-MUC16 和抗-CD3/抗-STEAP2 雙特異性抗原結合分子(亦即抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子)，其具有一或多項由下列組成之群中選出的特性：(a)在帶有人類前列腺癌異種移植植物之免疫妥協小鼠中抑制腫瘤生長；(b) 在帶有人類前列腺癌異種移植植物之免疫活性小鼠中抑制腫瘤生長；(c)在帶有人類前列腺癌異種移植植物之免疫妥協小鼠中抑制已建立之腫瘤的腫瘤生長；及(d)在帶有人類前列腺癌異種移植植物之免疫活性小鼠中降低已建立之腫瘤的腫瘤生長(參見，例如實例 7、8 和 10)。本發明亦提供包括導向效應 T 細胞(亦即 CD3)之第一重鏈以及導向目標腫瘤細胞之第二重鏈的抗-CD3/抗-PSMA、抗-CD3/抗-MUC16 和抗-CD3/抗-STEAP2 雙特異性抗體(亦即抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗體)，其中該雙特異性抗體對效應細胞具有微弱結合或未檢出的結合，且相較於對效應細胞具有強結合之雙特異性抗體，係具有腫瘤生長抑制和降低身體的抗體清除(亦即排除)。

表位定位及相關技術

【0135】 與本發明抗原結合分子結合之 CD3 上的表位可由 3 或多個 (例如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或更多個) CD3 蛋白之胺基酸的單一連續序列所組成。另一種選擇，表位可由多數個 CD3 之非連續胺基酸(或胺基酸序列)所組成。本發明之抗體可與包含在單一 CD3 鏈(例如 CD3- ϵ 、CD3- δ 或 CD3- γ)內的胺基酸相互作用，或可與二或多條不同 CD3 鏈上的胺基酸相互作用。術語「表位」，如文中所用，係指與抗體分子可變區中稱為補位(paratope)的特定抗原結合位置相互作用之抗原決定位。單一抗原可具有一個以上的表位。因此，不同的抗體可與抗原的不同區域結合並可能具有不同的生物效應。表位可為構型或線性。構型表位係由直鏈多肽鏈不同線段之空間上並列的胺基酸所產生。線性表位係由多肽鏈相鄰的胺基酸殘基所產生。在特定的情況下，表位可在抗原上包括醣類基團、磷醯基基團或磺醯基基團。

【0136】 本項技術之一般技術者已知的各種技術皆可用於測定抗體之抗原結合區是否與多肽或蛋白內的「一或多個胺基酸交互作用」。示例的技術包括，例如習用的交叉阻斷分析，例如描述於 *Antibodies*, Harlow and Lane(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)中，丙胺酸掃描突變分析、胜肽墨點分析(Reineke, 2004, *Methods Mol Biol* 248:443-463)及胜肽裂解分析。此外，可使用例如表位切除、表位萃取及抗原之化學修飾等方法(Tomer, 2000, *Protein Science* 9:487-496)。可用於鑑定多肽內與抗體之抗原結合區相互作用之胺基酸的另外方法係以質譜偵測氫/氬交換。一般而言，氫/氬交換方法係包括以氬標定感興趣蛋白，接著讓抗體與氬標定的蛋白結合。接著，將蛋白/抗體複合物轉置於水中，讓除了受抗體保護的殘基(其仍為氬標定)以外的所有殘基發生氫-氬交換。解離抗體後，將目標蛋白以蛋白酶裂解並以質譜分析，藉此找出氬標定殘基，其係相當於與抗體交互作用

之特定胺基酸。參見，例如 Ehring(1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259；Engen and Smith(2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A。抗原/抗體複合物之 X-光晶體學亦可用於表位定位之目的。

【0137】 本發明進一步係包括與任何文中所述之特定示例性抗體相同之表位結合的抗-PSMA 抗體(例如，包括如文中表 6 所述之任何胺基序的抗體)。同樣的，本發明亦包括與任何文中所述之特定示例性抗體(例如，包括如文中表 6 所述之任何胺基序的抗體)競爭和 PSMA 結合之抗-PSMA 抗體。揭示於美國申請案第 15/223,434 號之抗-PSMA 係以引用的方式併入本申請案中。

【0138】 本發明亦包括雙特異性抗原結合分子，其係包括與人類 CD3 及/或獼猴 CD3 以低或可偵測結合親和力特異性結合之第一抗原結合區，以及與人類腫瘤相關抗原(TAA)特異性結合之第二抗原結合區，其中該第一抗原結合區係與任何文中所述之特定示例性 CD3-抗原結合區相同的 CD3 表位結合。

【0139】 同樣地，本發明亦包括雙特異性抗原結合分子，其係包括與人類 CD3 及/或獼猴 CD3 以低或可偵測結合親和力特異性結合之第一抗原結合區，以及與人類腫瘤相關抗原(TAA)特異性結合之第二抗原結合區，其中該第一抗原結合區係與任何文中所述之特定示例性 CD3-抗原結合區競爭和 CD3 結合。

【0140】 藉由使用本項技術中已知的習用方法，可容易地測定特定的抗原結合分子(例如抗體)或其抗原結合區是否與本發明之參照抗原結合分子相同的表位結合或是與其競爭結合。例如，測定試驗抗體是否與如同本發明參照的雙特異性抗原結合分子之 CD3(或 TAA)上的相同表位結合，首先係讓參照的雙特異性分子與 CD3 蛋白(或 TAA 蛋白)結合。接著，評估試驗抗體與 CD3 分子結合之能力。若試驗抗體在與參照的雙特異性抗原結合

分子飽和結合後，能與 CD3(或 TAA)結合，則其可結論出，該試驗抗體係與不同於參照的雙特異性抗原結合分子的 CD3(或 TAA)表位結合。另一方面，若試驗抗體在與參照的雙特異性抗原結合分子飽和結合後，不能與 CD3(或 TAA)分子結合，則試驗抗體可能與和本發明之參照的雙特異性抗原結合分子結合的表位相同之 CD3(或 TAA)表位結合。然後可進行另外例行的實驗(例如胜肽突變及結合分析)，以確定所觀察到無試驗抗體結合事實上是否係由於與和參照的雙特異性抗原結合分子相同的表位結合所致，或是否係因立體阻斷(或另外的現象)造成無觀察到結合。若此參照抗體係如文中所示例不具有可測量的結合，則此參照抗體可突變回生殖系序列，以便就比較表位相互作用，或與如文中所述之試驗抗體比較其結合性質之目的，測定與 CD3 的結合。此類實驗可使用 ELISA、RIA、Biacore、流式細胞儀或本項技術中可取得的任何其他量性或質性抗體-結合分析來進行。依照本發明特定的實施例，如競爭性結合分析中所測，若例如一 1-、5-、10-、20-或 100-倍過量的抗原結合蛋白抑制另一抗體之結合至少 50%，但較佳地 75%、90%或甚至 99%，則二種抗原結合蛋白係與相同(或重疊)的表位結合(參見，例如 Junghans et al., *Cancer Res.* 1990:50:1495-1502)。另一種選擇，若基本上降低或消除一抗原結合蛋白之結合的抗原中所有的胺基酸突變，係降低或消除另一種抗原結合蛋白之結合，則二種抗原結合蛋白被認為係與相同的表位結合。若僅一亞群的胺基酸突變降低或消除一抗原結合蛋白之結合或消除另一種抗原結合蛋白之結合，則二種抗原結合蛋白被認為具有「重疊的表位」。

【0141】 為了測定一抗體或其抗原結合區是否與參照的抗原結合分子競爭結合，係以二個方向進行上述結合方法：第一個方向：讓參照的抗原結合分子在飽和的條件下與 CD3 蛋白(或 TAA 蛋白)結合，接著評估試驗抗體與 CD3(或 TAA)分子之結合。第二個方向：讓試驗抗體在飽和的條件

下與 CD3(或 TAA)分子結合，接著評估參照的抗原結合分子與 CD3(或 TAA)分子之結合。若在二個方向中，僅有第一(飽和)抗原結合分子能與 CD3(或 TAA)分子結合，則結論出試驗抗體和參照的抗原結合分子係競爭與 CD3(或 TAA)結合。本項技術之一般技術者應了解，與參照的抗原結合分子競爭結合之抗體可能不一定係與參照抗體相同之表位結合，但可能藉由與重疊或相鄰的表位結合，在立體上阻斷參照抗體之結合。若此參照抗體係如文中所示例不具有可測量的結合，則此參照抗體可突變回生殖系序列，以便就比較表位相互作用，或與如文中所述之試驗抗體比較其結合性質或阻斷交互作用之目的，測定與 CD3 的結合。

製備抗原結合區及建構雙特異性分子

【0142】 對特定抗原具特異性之抗原結合區可藉由任何本項技術中已知的抗體生產技術來製備。一旦獲得後，對二種不同抗原(例如 CD3 和 TAA)具特異性之二種不同的抗原結合區可以相對彼此適合的排列使用習用方法，產生本發明之雙特異性抗原結合分子。(可用於建構本發明雙特異性抗原結合分子之示例的雙特異性抗體模式之論述係提供於文中他處)。在特定的實施例中，本發明之多特異性抗原結合分子的一或多個個別組份(例如重鏈和輕鏈)係衍生自嵌合、人源化或全人類抗體。製造此等抗體之方法已為本項技術所熟知。例如，可使用 VELOCIMMUNE™技術製備一或多條本發明雙特異性抗原結合分子之重鏈及/或輕鏈。使用 VELOCIMMUNE™技術(或任何其他人類抗體生產技術)，起初先分離對特定抗原(例如 CD3 或 TAA)具高親和力之具有人類可變區和小鼠恆定區的嵌合抗體。將抗體定性並就所欲的性質來選擇，包括親和力、選擇性、表位等。以所欲的人類恆定區置換小鼠恆定區產生可併入本發明雙特異性抗原結合分子中之全人類重鏈及/或輕鏈。

【0143】 基因工程動物可用於製造人類雙特異性抗原結合分子。例如，

可使用不能重排和表現內生性小鼠免疫球蛋白輕鏈可變序列之基因改造小鼠，其中小鼠僅表現一或二個由人類免疫球蛋白序列操作上在內生性小鼠卡帕(κ)基因座連接小鼠卡帕(κ)輕鏈恆定基因所編碼的人類輕鏈可變區。此基因改造小鼠可用於製造包括連結相同輕鏈之二種不同重鏈的全人類雙特異性抗原結合分子，該輕鏈係包括衍生自二種不同人類輕鏈可變區基因片段其中一種之可變區。(就該工程化小鼠詳細論述及其於製造雙特異性抗原結合分子之用途，請參見，例如 US 2011/0195454)。本發明之抗體可包括與一共同輕鏈結合的免疫球蛋白重鏈。此共同輕鏈可衍生自抗-TAA 重鏈的同源輕鏈，或衍生自一已知或公共區輕鏈可變區，而該輕鏈可變區係衍生自一具有雜交或與各種非同源重鏈配對能力之輕鏈，亦即通用或共同輕鏈。本發明抗體可包括與單一重排輕鏈結合的免疫球蛋白重鏈。在某些實施例中，此輕鏈一可變區係衍生自人類 V κ 1-39 基因段或 V κ 3-20 基因段。在其他的實施例中，此輕鏈係包括一可變區，其係衍生自經人類 J κ 5 或人類 J κ 1 基因段重排之人類 V κ 1-39 基因段，或經人類 J κ 1 基因段重排的 V κ 3-20 基因段，或經人類 J κ 1 重排之 V κ 1-39 基因段。

生物等效性

【0144】 本發明係涵蓋具有與文中所揭示的示例分子不同但保留與 CD3 及/或 TAA 結合能力之胺基酸序列的抗原結合分子。此等變體分子，當與親代序列相比較時，可包括一或多個胺基酸之添加、刪除或取代，但具有與所述的雙特異性抗原結合分子實質上相當之生物活性。

【0145】 本發明係包括與文中所述的任何示例性抗原結合分子為生物等效之抗原結合分子。二種抗原結合蛋白或抗體，若例如其為醫藥同等物或醫藥替代品，當於類似的實驗條件下以單一劑量或多劑量之相同的莫耳劑量投予時，其吸收速率和程度並無顯示顯著的差異，則係視為生物等效的。某些抗原結合蛋白若其吸收程度相當但是吸收速率不同應可視為等

效物或醫藥替代品，且仍可視為生物等效，因為此等吸收速率上的差異為故意的並反映在標示上，對於達到例如長期使用之有效體藥濃度並非必要的，且就特定藥物產品的研究上被視為無醫療上的顯著性。

【0146】 在一實施例中，二種抗原結合蛋白若在其安全性、純度及效力上不具有臨床上有意義的差異，則為生物等效的。

【0147】 在一實施例中，若相較於無此變更之持續治療，病患可在參照產品和生物產品間作一或多次變更而無預期的有害效應之風險增加(包括臨床上致免疫性之明顯改變或效用減低)，則二種抗原結合蛋白為生物等效的。

【0148】 在一實施例中，若二種抗原結合蛋白係藉由共同的機制或作用機制作用於症狀或所用症狀，而達到此等機制已知的程度，則二者係為生物等效的。

【0149】 生物等效性可藉由活體內和活體外方法來驗證。生物等效性測量包括，例如(a)人類或其他哺乳動物之活體內試驗，其中係測量血液、血漿、血清或其他生物體液中隨時間變化之抗體或其代謝物濃度；(b)與人類活體內生物可利用性數據有相互關係及可合理預測此數據之活體外試驗；(c)人類或其他哺乳動物之活體內試驗，其中係測量隨時間變化之抗體(或其目標)的適當急性藥理效用；及(d)建立抗原結合蛋白之安全性、效力或生物可利用性或生物等效性之良好對照的臨床試驗。

【0150】 文中所述之示例性雙特異性抗原結合分子的生物等效變體可藉由，例如製造各種殘基或序列之取代，或刪除生物活性不需要的末端或內部殘基或序列來建構。例如，生物活性不需要的半胱胺酸殘基可刪除或以其他的胺基酸置換，以防止因變性而形成不必要或不正確的分子內雙硫橋。在其他內容中，生物等效的抗原結合蛋白可包括文中所述之示例性雙特異性抗原結合分子的變體，其係包含修飾分子之糖基化特性的胺基酸

改變，例如消除或移除糖基化之突變。

物種選擇性和物種交叉反應

【0151】 根據本發明特定的實施例，係提供對人類 CD3 展現微弱或無相互作用，以及對來自其他物種的 CD3，例如獼猴 CD3 展現微弱或無相互作用之抗原結合分子。亦提供與人類 TAA 結合但不與其他物種 TAA 結合之抗原結合分子。本發明亦包括與人類 CD3 及來自一或多種非人類物種之 CD3 結合的抗原結合分子；及/或與人類 TAA 及來自一或多種非人類物種之 TAA 結合的抗原結合分子。

【0152】 根據本發明特定的示例性實施例，係提供與人類 CD3 及/或人類 TAA 結合，以及可或不可與(視情況而定)一或多種小鼠、大鼠、天竺鼠、倉鼠、沙鼠、豬、貓、狗、兔、山羊、綿羊、牛、馬、駱駝、獼猴、絨猴、恆河猴或黑猩猩 CD3 及/或 TAA 結合之抗原結合分子。例如，在本發明特定的示例性實施例中，係提供包括與人類 CD3 和獼猴 CD3 微弱結合之第一抗原結合區及與人類人類 PSMA、MUC16、EGFRvIII 或 STEAP2 特異性結合之第二抗原結合區的雙特異性抗原結合分子。

免疫接合物

【0153】 本發明涵蓋與療效成份，例如細胞毒素、化療藥物、免疫抑制劑或放射性同位素接合之抗原結合分子(免疫接合物)。細胞毒性劑包括任何對細胞有害之試劑。用於形成免疫接合物之適合的細胞毒性劑及化療劑實例已為本項技術所知(參見，例如 WO 05/103081)。

治療調配物及給藥

【0154】 本發明係提供包括本發明之抗原結合分子的醫藥組成物。本發明之醫藥組成物係與適合的載劑、賦形劑和其他提供改善轉移、遞送、耐受性及類似性質之藥劑所調配。許多適合的調配物可參見所有醫藥化學家已知的處方集：賓州伊斯頓馬克出版公司之 Remington's Pharmaceutical

Sciences。這些調配物包括，例如散劑、糊膏、軟膏、軟凍、蠟、油、脂質、含脂質(陽離子或陰離子)之囊泡(例如 LIPOFECTIN™, Life Technologies, Carlsbad, CA)、DNA 接合物、無水吸收糊膏、水包油和油包水乳劑、乳劑碳蠟(各種分子量之聚乙二醇)、半固體凝膠及含碳蠟(carbowax)之半固體混合物。亦參見 Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

【0155】 投予病患之抗原結合分子劑量可依照病患的年齡和體型大小、標的疾病、症狀、給藥路徑及其類似因素而不同。較佳的劑量典型地係根據體重或體表面積來計算。當本發明之雙特異性抗原結合分子係用於成人病患之治療目的時，有利的一般可以靜脈給予約 0.01 至約 20 毫克/kg 體重，更佳地約 0.02 至約 7，約 0.03 至約 5，或約 0.05 至約 3 毫克/kg 體重之單一劑量的本發明雙特異性抗原結合分子。依照症狀之嚴重度，治療之頻率和作用期可調整。給予雙特異性抗原結合分子之有效劑量和時程可依經驗來決定；例如可以定期評估來監看病患進步，並據此調整劑量。再者，物種間劑量之衡量可使用本項技術熟知的方法來進行(例如 Mordenti *et al.*, 1991, *Pharmaceut. Res.* 8:1351)。

【0156】 各種的遞送系統已為所知並可用於投予本發明之醫藥組成物，例如包膠之微脂體、微粒、微膠囊、能表現突變病毒之重組細胞、受體媒介的內吞作用(參見，例如 Wu et al., 1987, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432)。導入方法包括(但不限於)皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜外和口服路徑。組成物可以任何方便的路徑，例如以輸注或團注、以經由上皮或黏膜層(例如口腔黏膜、直腸和腸黏膜等)吸收來給藥，並可與其他生物活性劑共同給藥。給藥可為全身性或局部的。

【0157】 本發明之醫藥組成物可以標準針或注射器由皮下或靜脈內來遞送。此外，就皮下遞送而言，筆型遞送裝置可容易地用於遞送本發明

之醫藥組成物。此筆型遞送裝置可為重複使用型或拋棄型。可重複使用的筆型遞送裝置一般係利用含有醫藥組成物之可更換補充匣。一旦匣內的所有醫藥組成物投予後而補充匣變空，此空匣可容易丟棄並更換新的含醫藥組成物之補充匣。然後此筆型遞送裝置便可再使用。在拋棄型筆型遞送裝置中無可置換的補充匣。取而代之的，拋棄型筆型遞送裝置係預先填充醫藥組成物收藏在裝置內的儲槽中。一旦醫藥組成物的儲槽變空，整個裝置便可丟棄。

【0158】 許多可重複使用的筆型和自動注射器遞送裝置已應用於皮下遞送本發明之醫藥組成物。實例包括(但不限於)AUTOPEN™(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC™筆(Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™筆、HUMALOG™筆、HUMALIN 70/30™筆(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN™ I, II 和 III(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™筆(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™和 OPTICLIK™(sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)，僅提出一些。用於皮下遞送本發明醫藥組成物之拋棄型筆型遞送裝置之實例包括(但不限於)SOLOSTAR™筆(sanofi-aventis)、FLEXPEN™(Novo Nordisk)和 KWIKPEN™(Eli Lilly)、SURECLICK™自動注射器(Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET™(Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN(Dey, L.P.)和 HUMIRA™筆(Abbott Labs, Abbott Park IL)，僅提出一些。

【0159】 在特定的情況下，醫藥組成物可以控制釋放系統來遞送。在一實施例中，可使用幫浦(參見 Langer, 前文；Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201)。在另外的實施例中，可使用聚合物質；參見 Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise(eds.), 1974, CRC Pres.,

Boca Raton, Florida。又在另外的實施例中，控制釋放系統可放置在靠近組成物的目標處，因此僅需要全身劑量之一部分(參見，例如 Goodson, 1984, in *Medical Applications of Controlled Release*, supra, vol. 2, pp. 115-138)。其他的控制釋放系統係論述於 Langer, 1990, *Science* 249:1527-1533 之評論中。

【0160】 可注射的製備物可包括用於靜脈內、皮下、皮內及肌肉內注射、點滴輸注等之劑型。這些可注射製備物可由公開已知的方法來製備。例如，可注射製備物可，例如藉由將上述抗體或其鹽溶解、懸浮或乳化於注射上習用的無菌水性媒劑或油性媒劑中來製備。注射用之水性媒劑有，例如生理食鹽水、含葡萄糖和其他佐劑之等張溶液等，其可與適合的增溶劑例如醇(例如乙醇)、多醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非離子介面活性劑[例如聚山梨醇酯 80、HCO-50(氫化蓖麻油之聚環氧乙烷(50 莫耳)加合物)]等組合使用。油性媒劑，可使用芝麻油、大豆油等，其可與增溶劑例如苯甲酸苯甲基酯、苯甲醇等組合使用。由此所製備的注射液較佳地係填充於適當的安瓶中。

【0161】 有利地，上述之口服或非經腸用途之醫藥組成物係製備成適合活性成份劑量之單位劑型。此等單位劑量之劑型包括，例如錠劑、片劑、膠囊、注射劑(安瓶)、栓劑等。所含的前述抗體之量一般每單位劑量之劑型為約 5 至約 500 毫克；特別是注射形式，較佳的前述抗體係含有約 5 至約 100 毫而其他劑型為約 10 至約 250 毫克。

抗原結合分子之治療用途

【0162】 本發明係包括於一有此需要的患者中投予一包括與 CD3 微弱結合或與 CD3 無可偵測結合並與腫瘤相關抗體結合之抗-腫瘤抗體或其抗原結合片段或雙特異性抗原結合分子的治療組合物之方法。此治療組成物可包括任何文中所揭示之抗體或雙特異性抗原結合分子以及醫藥上可接受之載劑或稀釋劑。如文中所用，「有此需要之患者」一詞係指具有一或

多種癌症之癥候或適應症之人類或非人類動物(例如表現腫瘤或患有任何下文所指的癌症之患者),或另外可從抑制或降低腫瘤活性或去除腫瘤細胞(例如 PSMA++前列腺癌細胞)而得利者。

【0163】 本發明之抗體及雙特異性抗原結合分子(及包括彼等之治療組成物)可用於,其中包括,治療其中刺激、活化及/或以免疫反應為目標應為有利的疾病或病症。特言之,本發明之雙特異性抗原結合分子可用於治療、防止及/或改善任何與表現 TAA,例如 PSMA 表現或活性之細胞或 PSMA+細胞增生有關或由其所媒介之疾病或病症。達成本發明治療方法之作用機制係包括在效應細胞的存在下殺死表現腫瘤相關抗原之細胞,例如,藉由 CDC、細胞凋亡、ADCC、吞噬作用或藉由二或多種這些機制的組合或類似的細胞毒性機制。可使用本發明之雙特異性抗原結合分子抑制或毒殺之表現腫瘤相關抗原例如 PSMA、MUC16、STEAP2 或 EGFRvIII 之細胞,係包括,例如前列腺癌細胞。

【0164】 本發明之抗原結合分子可用於治療,例如發生於腦及腦膜、頭和頸、口咽、肺及支氣管樹、胃腸道、男性和女性生殖道、肌肉、骨骼、皮膚和附屬件、結締組織、脾、免疫系統、造血細胞和骨髓、肝及泌尿道、腎、膀胱及/或特定的感官器官例如眼睛之原生及/或轉移腫瘤。在特定的實施例中,本發明之雙特異性抗原結合分子可用於治療一或多種(但不限於)下列癌症:胰臟癌、頭頸癌、前列腺癌、惡性膠質瘤、骨肉瘤、大腸直腸癌、胃癌(例如帶有 MET 增幅之胃癌)、惡性間皮瘤、多發性骨髓瘤、卵巢癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、滑液肉瘤、甲狀腺癌、乳癌、膠質母細胞瘤、乳癌(例如乳管和乳管內乳癌)、鱗狀細胞癌、食道癌、透明細胞腎細胞癌、嫌色性腎細胞癌、(腎)嗜酸粒細胞瘤、(腎)移行細胞癌、泌尿上皮癌、(膀胱)腺癌,或(膀胱)小細胞癌。根據本發明特定的實施例,此雙特異性抗體可用於治療患有難處理或難治型癌症之病患,例如去勢療法阻抗之前列

腺癌。根據本發明之示例性實施例，係提供包括將一如文中所揭示之抗-CD3/抗-PSMA 雙特異性抗原結合分子投予患有去勢療法抵抗之前列腺癌病患的方法。本項技術中已知的分析/診斷方法，例如腫瘤掃描可用於確認一患者是否具有去勢療法抵抗之腫瘤。

【0165】 本發明亦包括於一患者中治療殘餘癌之方法。如文中所用，術語「殘餘癌」係指以抗癌療法，例如第一線或標準療法治療後，在一患者中存在或持續留有一或多個癌細胞。

【0166】 根據特定方面，本發明係提供治療與 TAA 表現有關的癌症(例如與 PSMA 表現或 STEAP2 表現有關的前列腺癌、與 EGFRvIII 表現有關的膠質母細胞瘤，或與 MUC16 表現有關的卵巢癌)之方法，其包括在一患者經測定患有癌症後，將一或多種文中他處所述的雙特異性抗原結合分子投予該患者。例如，本發明係包括治療前列腺癌之方法，其包括在一病患已接受先前的治療後 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、1 週、2 週、3 週或 4 週、2 個月、4 個月、6 個月、8 個月、1 年或更久，將抗-CD3/抗-TAA 雙特異性抗原結合分子投予該病患。

組合治療及調配物

【0167】 本發明係提供包括將包含文中所述之任何示例性抗體和雙特異性抗原結合分子之醫藥組成物與一或多種另外的治療劑組合給藥之方法。可與本發明之抗原結合分子組合或組合給藥之示例性另外的治療劑包括，例如抗-計畫性死亡 1 抗體(例如美國專利申請案公開案號第 US2015/0203579A1 號中所述之抗-PD1 抗體)、抗-計畫性死亡 1 配體(例如美國專利申請案公開案號第 US2015/0203580A1 號中所述之抗-PD1 抗體)抗-EGFR 拮抗劑(例如抗-EGFR 抗體[例如，西妥昔單抗(cetuximab)或帕尼單抗(panitumumab)]或 EGFR 之小分子抑制劑[例如，吉非替尼(gefitinib)或厄洛替尼(erlotinib)])，另外的 EGFR 家族成員之拮抗劑，例如 Her2/ErbB2、ErbB3

或 ErbB4(例如抗-ErbB2、抗-ErbB3 或抗-ErbB4 抗體或 ErbB2、ErbB3 或 ErbB4 活性之小分子抑制劑)，EGFRvIII 之拮抗劑(例如與 EGFRvIII 特異性結合之抗體)，cMET 拮抗劑(例如抗-cMET 抗體)，IGF1R 拮抗劑(例如抗-IGF1R 抗體)，B-raf 抑制劑(例如威羅菲尼(vemurafenib)、索拉非尼(sorafenib)、GDC-0879、PLX-4720)，PDGFR- α 抑制劑(例如抗-PDGFR- α 抗體)，PDGFR- β 抑制劑(例如抗-PDGFR- β 抗體)，VEGF 拮抗劑(例如 VEGF-Trap，參見例如 US 7,087,411(文中亦稱為「VEGF-抑制融合蛋白」)、抗-VEGF 抗體(例如貝伐單抗(bevacizumab))、VEGF 受體之小分子激酶抑制劑(例如舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)或帕唑帕尼(pazopanib))、DLL4 拮抗劑(例如揭示於 US 2009/0142354 中之抗-DLL4 抗體)、Ang2 拮抗劑(例如揭示於 US 2011/0027286 中之抗-Ang2 抗體，例如 H1H685P)、FOLH1 拮抗劑(例如抗-FOLH1 抗體)、PRLR 拮抗劑(例如抗-PRLR 抗體)、STEAP1 或 STEAP2 拮抗劑(例如抗-STEAP1 抗體或抗-STEAP2 抗體)、TMPRSS2 拮抗劑(例如抗-TMPRSS2 抗體)、MSLN 拮抗劑(例如抗-MSLN 抗體)、CA9 拮抗劑(例如抗-CA9 抗體)、uroplakin 拮抗劑(例如抗-uroplakin 抗體)等。可有利地與本發明之抗原結合分子組合之其他試劑包括細胞激素抑制劑，其包括小分子細胞激素抑制劑以及予細胞激素，例如 IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-13、IL-17、IL-18 或其個別受體結合之抗體。本發明之醫藥組成物(例如包括如文中所揭示的抗-CD3/抗-PSMA 雙特異性抗原結合分子之醫藥組成物)亦可作為包括一或多個治療組合之療法的部份來給藥，而該治療組合係選自「ICE」：異磷醯胺(ifosfamide)(例如 Ifex®)、卡鉑(carboplatin)(例如 Paraplatin®)、依托泊苷(etoposide)(例如 Etopophos®、Toposar®、VePesid®、VP-16)；「DHAP」：地塞米松(dexamethasone)(例如 Decadron®)、阿糖胞苷(cytarabine)(例如 Cytosar-U®、阿糖胞苷(cytosine arabinoside)、ara-C)、順鉑(cisplatin)(例如 Platinol®-AQ)；及「ESHAP」：

依託泊昔(例如 Etopophos®、Toposar®、VePesid®、VP-16)、甲潑尼龍(methylprednisolone)(例如 Medrol®)、高劑量阿糖胞苷、順鉑(例如 Platinol®-AQ)。

【0168】 本發明亦包括包含文中所提及之任何抗原結合分子與一或多種下列抑制劑之治療組合：VEGF、Ang2、DLL4、EGFR、ErbB2、ErbB3、ErbB4、EGFRvIII、cMet、IGF1R、B-raf、PDGFR- α 、PDGFR- β 、FOLH1(PSMA)、PRLR、STEAP1、STEAP2、TMPRSS2、MSLN、CA9、uroplakin 或任何前述的細胞激素，其中該抑制劑為一適體(aptamer)、反義分子、核糖酵素、siRNA、肽體、奈米抗體或抗體片段(例如 Fab 片段；F(ab')₂ 片段；Fd 片段；Fv 片段；scFv；dAb 片段；或其他工程化分子，例如二抗體、三抗體、四抗體、微抗體和最小識別單元)。本發明之抗原結合分子亦可與抗病毒劑、抗生素、鎮痛劑、皮質類固醇及/或 NSAID 組合給藥及/或共調配。本發明之抗原結合分子亦可作為同時包括放射線治療及/或習用化療之治療療法的一部分來給藥。

【0169】 另外的治療活性組份可在投予本發明抗原結合分子之前、同時或之後不久給藥(就本揭示文之目的，此等給藥療法係被視為本發明之抗原結合分子與另外的治療活性組份「組合」給藥)。

【0170】 本發明係包括其中本發明之抗原結合分子係與一或多種如文中他處所述之另外的治療活性組份共調配之醫藥組成物。

給藥療法

【0171】 根據本發明特定的實施例，可於一定義的時程將多劑量的抗原結合分子(例如抗-TAA 雙特異性抗原結合分子)投予一患者。根據本發明此方面之方法係包括先後將多劑量之本發明抗原結合分子投予一患者。如文中所用，「先後給藥」係指各劑量之抗原結合分子係於不同的時間點投予該患者，例如以預計的間隔隔開之不同日(例如小時、日、週或月)。本發

明係包括，包含將一單一起始劑量之抗原結合分子先後投予病患，接著一或多個第二劑量之抗原結合分子及視需要接著一或多個第三劑量之抗原結合分子之方法。

【0172】 術語「起始劑量」、「第二劑量」和「第三劑量」係指投予本發明抗原結合分子之暫時順序。因此，「起始劑量」為治療療法開始時所投予之劑量(亦稱為「基線」劑量)；「第二劑量」為在起始劑量之後所投予之劑量；而「第三劑量」為在第二劑量之後所投予之劑量。起始、第二和第三劑量皆可含有相同量之抗原結合分子，但就給藥的頻率而言，一般可彼此不同。在特定的實施例中，然而，包含在起始、第二及/或第三劑量中之抗原結合分子之量，在治療期間可互不相同(例如，若適當，經上調或下調)。在特定的實施例中，係在治療療法開始時投予二或多個(例如 2、3、4 或 5 個)劑量作為「承載劑量」，接著以較低頻率為基礎，投予後續劑量(例如「維持劑量」)。

【0173】 在本發明一示例性的實施例中，各第二及/或第三劑量係在緊接前面劑量之後的 1 至 26 週(例如 1、1½、2、2½、3、3½、4、4½、5、5½、6、6½、7、7½、8、8½、9、9½、10、10½、11、11½、12、12½、13、13½、14、14½、15、15½、16、16½、17、17½、18、18½、19、19½、20、20½、21、21½、22、22½、23、23½、24、24½、25、25½、26、26½週或更久)給藥。「緊接前面劑量」一詞，如文中所用，係指在一多重給藥之順序中，抗原結合分子之劑量，在每個相鄰接的劑量給藥之前係以無插入劑量之順序給藥。

【0174】 根據本發明此方面之方法可包括將任何數目之第二及/或第三劑量之抗原結合分子(例如抗-TAA 雙特異性抗原結合分子)，投予一病患。例如，在特定的實施例中，僅將一單一的第二劑量投予該病患。在其他實施例中，係將二或多個(例如 2、3、4、5、6、7、8 或更多)第二劑量投予該

病患。同樣地，在特定的實施例中，僅將一單一的第三劑量投予該病患。在其他實施例中，係將二或多個(例如 2、3、4、5、6、7、8 或更多)第三劑量投予該病患。

【0175】 在涉及多重第二劑量之實施例中，各第二劑量可與其他第二劑量相同的頻率來給藥。例如，各第二劑量可在緊接前面劑量後 1 至 2 週，投予該病患。同樣地，在涉及多重第三劑量之實施例中，各第三劑量可與其他第三劑量相同的頻率來給藥。例如，各第三劑量可在緊接前面劑量後 2 至 4 週，投予該病患。另一種選擇，投予病患之第二及/或第三劑量的頻率，在治療法期間可不同。在治療期間，給藥頻率亦可依照個別病患之需求在臨床檢查後由醫師做調整。

實例

【0176】 提出下列實例以提供本項技術之一般技術者如何製造及使用本發明方法和組合物之完整揭示和說明，但不希望限制發明者所認為之發明範圍。雖已盡力確保所用的相關數字(例如量、溫度等)之正確性，但仍應考量某些實驗誤差和偏差。除非另有指出，否則份數係為重量之份數，分子量為平均分子量，溫度係以攝氏度數表示，而壓力係為或接近大氣壓。

實例 1：產生抗-CD3 抗體

【0177】 下列製程係以鑑定特異性辨識 CD3(T 細胞共受體)作為抗原之抗體為目標。

【0178】 藉由讓基因改造小鼠產生免疫力衍生一抗-CD3 抗體池。簡言之，將經基因改造而表現逆向嵌合(人類可變區，小鼠恆定區)和免疫球蛋白重鏈結合單一重排輕鏈(例如 V κ 1-39/J 或 V κ 3-20/J)之小鼠以 CD3 抗原產生免疫力，並產生包括多樣人類 VH 重排用以表現多樣指令之高親和力抗原-特異性抗體的 B 細胞。在主體申請書中所述的特定示例性抗體係經重組製造並表現相同的 V κ 1-39JK5 輕鏈序列(SEQ ID NO: 162 所述之 LCVR)，

而其他重組製造的抗體係表現重鏈臂之一(例如腫瘤目標臂)的同源輕鏈。

【0179】 將產生的抗體以一活體外結合分析就對人類和獼猴 CD3 抗原之親和力進行檢測，及例如一 CD3 抗體：鑑定出命名 CD3-VH-P(SEQ ID NO: 154 中所示之 HCVR)，其中發現，如分別 Jurkat 細胞和獼猴 T 細胞之 FACS 滴定所測，係以介於 1 至 40 nM 親和力(+++)之 EC_{50} 與人類和獼猴 CD3 二者結合。參見，例如下文實例 4 中所概述的 FACS 結合實驗。

【0180】 隨後鑑定出 CD3-VH-P 之生殖系胺酸殘基及將命名為「CD3-VH-G」之抗體進行工程化而僅含有生殖區之框架。以生殖系序列和 CD3-VH-P 序列間的差異為基礎，以逐步的方式藉由熟知的分子生物選殖技術置換胺基酸殘基，將其他的抗體衍生物進行工程化。各抗體衍生物係給予一「CD3-VH-G」編號命名。參見表 1 和圖 1。

【0181】 製備雙特異性抗體，其包括衍生自具有如表 1 所示之命名和說明之工程化抗-CD3 抗體的第一結合臂，以及衍生自抗-TAA 抗體的第二結合臂，並對帶有 CD3 的細胞之單價親和力以一 FACS 分析進行檢測(如實例 4 中所述)。這些雙特異性抗體之單價結合親和力結果係如表 1 中右邊二欄所示。在特定的實施例中，具有 TAA-結合臂和 CD3-結合臂的雙特異性抗體分別命名為「CD3-VH-G」、「CD3-VH-G5」和「CD3-VH-G20」，結合的 Jurkat 細胞 EC_{50} 分別為 2.7E-08、未檢出的結合及 5.5E-07。

表 1:以生殖系序列和各工程化抗體之對應 FACS 結合親和力為基準之 CDR 突變

抗體 CD3-VH 名稱	相較於 CD3-VH-G*抗體之突變說明	JURKAT	獼猴 T 細胞
CD3-VH-G	僅生殖系(GL)框架區(FRs)；CD3-VHP CDR	(+++)	(+++)
CD3-VH-G2	全部的 GL(FR 和 CDR)	(-)	(-)
CD3-VH-G3	全部的 GL(FR 和 CDR)	(-)	(-)

	加回 A33S.		
	全部的 GL(FR 和 CDR)		
CD3-VH-G4	加回 Y105K	(-)	(-)
	全部的 GL(FR 和 CDR)		
CD3-VH-G5	加回 A33S 和 Y105K.	(-)	(-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G8	加回 K58I	(+++)	(+)
	生殖系框架		
CD3-VH-G9	加回 Y99D	(+)	(-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G10	加回 H108Y	(+)	(-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G11	加回 L111M	(+++)	(+)
	生殖系框架.		
CD3-VH-G12	加回 K58I, Y99D	(++)	(+/-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G13	加回 K58I, H108Y	(++)	(+)
	生殖系框架		
CD3-VH-G14	加回 K58I、L111M	(+++)	(++)
	生殖系框架		
CD3-VH-G15	加回 Y99D、H108Y	(+)	(-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G16	加回 Y99D, L111M	(++)	(+/-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G17	加回 H108Y、L111M	(+/-)	(+/-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G18	加回 K58I、Y99D、H108Y	(+/-)	(-)

	生殖系框架		
CD3-VH-G19	加回 K58I、Y99D、L111M	(+/-)	(-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G20	加回 K58I、H108Y、L111M	(+/-)	(+/-)
	生殖系框架		
CD3-VH-G21	加回 Y99D、H108Y、L111M	(+/-)	(-)

*以 7221G(CD3-VH-G)成熟蛋白為基礎之序列編號

【0182】 如 FACS 分析中所見，當 CD3-VH-G 和某些其他工程化抗體保留其結合親和力時，數種抗-CD3 抗體在活體外係以微弱(+/-)至未檢出(-)的親和力與人類或獼 CD3 結合。隨後對包括依照本實例方法所產生的示例抗-CD3 之雙特異性抗體調查用以闡明細胞毒性和藥物動力學(pK)性質之結合親和力、結合動力學和其他生物性質，並詳述於下文所列之實例中。

實例 2:重鏈和輕鏈可變區(CDR 之胺基酸和核酸序列)

【0183】 測定各抗體重鏈序列的胺基酸和核酸序列。各抗體，為生殖系序列 IGHV3-9*01/D5-12*01/J6*02(SEQ ID NO: 181)之衍生物，係指定「G」編號名稱作為一致的命名。表 2 係列出本發明工程化的抗-CD3 抗體之重鏈可變區和 CDR 的胺基酸序列辨識碼。對應的核酸序列辨識碼係列於表 3 中。建構各重組抗體的輕鏈可變區和 CDR 之胺基酸和核酸序列辨識碼亦分別確認於下表 4 和 5 中。

表 2：重鏈胺基酸序列辨識碼

抗體 CD3-VH 名稱	SEQ ID NO :			
	HCVR	CDR1	CDR2	CDR3
CD3-VH-G	2	4	6	8
CD3-VH-G2	10	12	14	16

CD3-VH-G3	18	20	22	24
CD3-VH-G4	26	28	30	32
CD3-VH-G5	34	36	38	40
CD3-VH-G8	42	44	46	48
CD3-VH-G9	50	52	54	56
CD3-VH-G10	58	60	62	64
CD3-VH-G11	66	68	70	72
CD3-VH-G12	74	76	78	80
CD3-VH-G13	82	84	86	88
CD3-VH-G14	90	92	94	96
CD3-VH-G15	98	100	102	104
CD3-VH-G16	106	108	110	112
CD3-VH-G17	114	116	118	120
CD3-VH-G18	122	124	126	128
CD3-VH-G19	130	132	134	136
CD3-VH-G20	138	140	142	144
CD3-VH-G21	146	148	150	152
CD3-VH-P	154	156	158	160

表 3：重鏈核酸序列辨識碼

抗體 CD3-VH 名稱	SEQ ID NO :			
	HCVR	CDR1	CDR2	CDR3
CD3-VH-G	1	3	5	7
CD3-VH-G2	9	11	13	15
CD3-VH-G3	17	19	21	23
CD3-VH-G4	25	27	29	31
CD3-VH-G5	33	35	37	39

CD3-VH-G8	41	43	45	47
CD3-VH-G9	49	51	53	55
CD3-VH-G10	57	59	61	63
CD3-VH-G11	65	67	69	71
CD3-VH-G12	73	75	77	79
CD3-VH-G13	81	83	85	87
CD3-VH-G14	89	91	93	95
CD3-VH-G15	97	99	101	103
CD3-VH-G16	105	107	109	111
CD3-VH-G17	113	115	117	119
CD3-VH-G18	121	123	125	127
CD3-VH-G19	129	131	133	135
CD3-VH-G20	137	139	141	143
CD3-VH-G21	145	147	149	151
CD3-VH-P	153	155	157	159

表 4：輕鏈胺基酸序列辨識碼

抗體 ULC 名稱	SEQ ID NO :			
	LCVR	CDR1	CDR2	CDR3
Vκ1-39JK5	162	164	166	168

表 5：輕鏈核酸序列辨識碼

抗體 ULC 名稱	SEQ ID NO :			
	LCVR	CDR1	CDR2	CDR3
Vκ1-39JK5	161	163	165	167

【0184】 對照 1 抗體定名為「CD3-L2K」係以已知的抗-CD3 抗體(亦即如 WO2004/106380 中所述之抗-CD3 抗體「L2K」)所建構。

【0185】 同型對照抗體，就下文之實例而言，為符合與不相關抗原，亦即 FeID1 抗原相互作用之抗體的同型(修飾的 IgG4)。

實例 3：產生與 CD3 和腫瘤相關抗原(TAA)結合之 ULC 雙特異性抗體

【0186】 使用標準分子生物法，利用一來自文中所述的抗-CD3 抗體之重鏈、一來自抗-TAA 抗體之重鏈及一共同輕鏈或通用輕鏈(ULC)，建構包括抗-CD3-特異性結合區和抗-TAA-特異性結合區，例如 PSMA、EGFRvIII、MUC16 或 STEAP2 之雙特異性抗體。用於建構本發明雙特異性抗體之抗-TAA 抗體係藉由讓基因改造小鼠產生免疫所得來。

【0187】 依照此實例所製造的各種雙特異性抗體之抗原結合區組份部分的彙整係列於下表 6、7 和 8 中。所有的雙特異性抗體係經製造而具有一 2014 年 8 月 28 日公開的美國專利申請公開案第 US20140243504A1 號中所述之修飾(嵌合的)IgG4 Fc 區。示例的 EGFRvIIIxCD3 雙特異性抗體可使用美國專利申請公開案第 US20150259423 號中(其係以全文引用的方式併入)所論述之任何 EGFRvIII 抗體的任何重鏈和輕鏈可變區(或 CDR)，與文中所論述的任何抗-CD3 抗體之可變區或 CDR 組合來製備。

表 6：建構 PSMAxCD3 雙特異性抗體

雙特異性抗體辨識碼	抗-PSMA 抗原結合區	抗-CD3 抗原結合區	共同輕鏈可變 區
	重鏈可變區	重鏈可變區	
BSPSMA/CD3-003	PSMA-VH-B	CD3-VH-G	Vκ1-39JK5
BSPSMA/CD3-200		CD3-VH-G2	
BSPSMA/CD3-300		CD3-VH-G3	
BSPSMA/CD3-400		CD3-VH-G4	

BSPSMA/CD3-004	CD3-VH-G5
BSPSMA/CD3-800	CD3-VH-G8
BSPSMA/CD3-900	CD3-VH-G9
BSPSMA/CD3-1000	CD3-VH-G10
BSPSMA/CD3-1100	CD3-VH-G11
BSPSMA/CD3-1200	CD3-VH-G12
BSPSMA/CD3-1300	CD3-VH-G13
BSPSMA/CD3-1400	CD3-VH-G14
BSPSMA/CD3-1500	CD3-VH-G15
BSPSMA/CD3-1600	CD3-VH-G16
BSPSMA/CD3-1700	CD3-VH-G17
BSPSMA/CD3-1800	CD3-VH-G18
BSPSMA/CD3-1900	CD3-VH-G19
BSPSMA/CD3-005	CD3-VH-G20
BSPSMA/CD3-2100	CD3-VH-G21

表 7：建構 EGFR ν III xCD3 雙特異性抗體

雙特異性抗體辨識碼	抗-EGFR ν III 抗原結合區	抗-CD3 抗原結合區	共同輕鏈可變區
	重鏈可變區	重鏈可變區	
BSV3/CD3-001	EGFR ν III-VH-A	CD3-VH-G	EGFR ν III-VL-A
BSV3/CD3-002		CD3-VH-G5	
BSV3/CD3-003		CD3-VH-G9	
BSV3/CD3-004		CD3-VH-G10	

表 8：建構 MUC16xCD3 雙特異性抗體

雙特異性抗體辨識碼	抗-MUC16 抗原結合區	抗-CD3 抗原結合區	共同輕鏈可變區
	重鏈可變區	重鏈可變區	
BSMUC16/CD3-001	MUC16-VH-A	CD3-VH-G	MUC16-VL-A
BSMUC16/CD3-002		CD3-VH-G5	
BSMUC16/CD3-003		CD3-VH-G9	
BSMUC16/CD3-004		CD3-VH-G10	
BSMUC16/CD3-005		CD3-VH-G20	

表 9：建構 STEAP2xCD3 雙特異性抗體

雙特異性抗體辨識碼	抗-STEAP2 抗原結合區	抗-CD3 抗原結合區	共同輕鏈可變區
	重鏈可變區	重鏈可變區	
BSSTEAP2/CD3-001	STEAP2-VH-A	CD3-VH-G	STEAP2-VL-A
BSSTEAP2/CD3-002		CD3-VH-G5	
BSSTEAP2/CD3-003		CD3-VH-G20	

【0188】 將各示例的雙特異性抗體以各種下文所述的生物分析進行檢測。

實例 4：如 FACS 分析所測之示例的雙特異性抗體之結合親和力

【0189】 在此實例中，係經由 FACS 測定 CD3xTAA 雙特異性抗體與人類和獼猴 CD3-表現細胞株結合之能力。另外，亦確認這些雙特異性抗體與目標特異性(TAA-特異性)細胞株結合的能力。如上所述，本發明各種雙特異性抗體係利用單一 TAA-特異性結合臂(PSMA、EGFRvIII、MUC16 或 STEAP2；參見實例 3 表 6、7 和 8)與一組抗-CD3 結合臂(參見上文實例 1 和 2)和共同輕鏈配對。如實例 5 中所示，經由表面電漿子共振，CD3xTAA

雙特異性抗體係對人類可溶性異源二聚體 hCD3 ϵ / δ .mFc 蛋白展現一定範圍的親和力。

【0190】 簡言之，將 2×10^5 個細胞/孔之人類 CD3-表現 Jurkat、獼猴 T 或 TAA-特異性表現細胞以連續稀釋的雙特異性抗體於 4°C 培養 30 min。培養後，清洗細胞並將一山羊 F(ab')₂ 抗-人類 Fc γ PE 標定的二級抗體(Jackson Immunolabs)加到細胞中再歷經 30 min。之後，清洗細胞，再懸浮於冷的 PBS + 1% BSA 中並經由流式細胞儀於 BD FACS Canto II 上分析。

【0191】 就 FACS 分析，係藉由前散射高度對前散射面積針對單一事件選擇把關細胞，接著側散射和前散射。使用 PRISM™ 軟體(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA)測定細胞結合滴定之 EC₅₀。使用 4-參數非線性迴歸分析計算數值。

表 10A：CD3 和 PSMA-特異性細胞株上的 FACS 結合

雙特異性抗體辨識碼	抗-CD3-結合臂	Jurkat	獼猴 T-細胞	B16F10.9/PSMA
		EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]
BSPSMA/CD3-003	CD3-VH-G	1.65E-08	1.42E-08	2.26E-09
BSPSMA/CD3-200	CD3-VH-G2	NB	NB	1.88E-09
BSPSMA/CD3-300	CD3-VH-G3	NB	NB	1.90E-09
BSPSMA/CD3-400	CD3-VH-G4	NB	NB	1.72E-09
BSPSMA/CD3-004	CD3-VH-G5	非常弱	NB	1.31E-09
BSPSMA/CD3-800	CD3-VH-G8	1.93E-08	1.96E-08	1.31E-09
BSPSMA/CD3-900	CD3-VH-G9	2.74E-07	NB	1.43E-09
BSPSMA/CD3-1000	CD3-VH-G10	2.77E-07	NB	1.19E-09
BSPSMA/CD3-1100	CD3-VH-G11	1.83E-08	8.90E-07	1.03E-09
BSPSMA/CD3-1200	CD3-VH-G12	4.72E-08	NB	1.16E-09
BSPSMA/CD3-1300	CD3-VH-G13	1.02E-07	2.17E-06	1.25E-09

BSPSMA/CD3-1400	CD3-VH-G14	3.19E-08	1.70E-07	1.30E-09
BSPSMA/CD3-1500	CD3-VH-G15	9.30E-08	NB	1.21E-09
BSPSMA/CD3-1600	CD3-VH-G16	5.68E-08	NB	1.03E-09
BSPSMA/CD3-1700	CD3-VH-G17	2.00E-07	3.35E-06	1.34E-09
BSPSMA/CD3-1800	CD3-VH-G18	1.26E-07	NB	2.16E-09
BSPSMA/CD3-1900	CD3-VH-G19	6.07E-08	NB	1.35E-09
BSPSMA/CD3-005	CD3-VH-G20	2.10E-07	6.14E-06	2.09E-09
BSPSMA/CD3-2100	CD3-VH-G21	1.06E-07	NB	1.14E-09

表 10B： CD3 和 EGFRvIII-特異性細胞株上的 FACS 結合

雙特異性抗體辨識碼	抗-CD3 結合臂	Jurkat	獼猴 T-細胞	U87/EGFRvIII
		EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]
BSV3/CD3-001	CD3-VH-G	1.46E-09	NT	2.40E-09
BSV3/CD3-002	CD3-VH-G5	非常弱	NT	5.60E-09

表 10C： CD3 和 MUC16-特異性細胞株上的 FACS 結合

雙特異性抗體辨識碼	抗-CD3 結合臂	Jurkat	獼猴 T-細胞	OVCAR3 (MUC16+)
		EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]
BSMUC16/CD3-001	CD3-VH-G	3.21E-09	NT	1.20E-09
BSMUC16/CD3-002	CD3-VH-G5	非常弱	NT	2.69E-09

【0192】 如表 10A 中所示，各 CD3xPSMA 雙特異性抗體之 CD3 結合臂對人類 CD3 表現 Jurkat 細胞展現一定範圍的細胞結合親和力(15 至 300 nM EC₅₀ 範圍)。重要地，經由表面電漿子共振，對人類 CD3 異源二聚體蛋

白顯現微弱-至-無結合的 CD3 臂(參見下文表 11)亦與 Jurkat 細胞上(亦即 CD3-VH-G2、CD3-VH-G3、CD3-VH-G5)微弱至未檢出的結合相關聯。未檢出的結合，在 FACS 分析或等同的分析中係指抗體與其目標抗原間的親和力係超出分析之偵測極限以外(例如 $> 1 \mu\text{M}$)。數種 CD3-結合臂亦對獼猴 T 細胞顯現交叉反應性。所有檢測的雙特異性抗體在個別的 PSMA、EGFRvIII 和 MUC16-表現細胞株上展現類似的細胞結合，其確認了與個別 CD3 臂的雙特異性配對不會影響或減少 TAA-特異性結合(在所有檢測的實例中，TAA-特異性結合係低於或等於 5.6 nM (高親和力))。

【0193】 對人類 CD3 展現微弱-至-無結合以及對獼猴 CD3 展現微弱-至-無結合的抗體，依照本發明，就親和力驅動的雙特異性配對被視為有利的，並進一步以活體外和活體內分析檢測細胞毒性。

實例 5：以表面電漿子共振結合分析所測之示例抗體的結合親和力

【0194】 藉由表面電漿子共振於 37°C 使用抗原-捕捉模式(表 11)或抗體捕捉模式(數據未顯示)測定抗-TAA x 抗-CD3 雙特異性抗體對可溶性二聚體 hCD3 ϵ/δ .mFc 蛋白(hCD3 ϵ =UniProtKB/Swiss-Prot : P07766.2 ; SEQ_ID NO : 169 ; hCD3 δ UniProtKB/Swiss-Prot : P04234.1, SEQ ID NO : 170)之結合親和力和動力學常數。在此實例中，係利用 BSPSMA/CD3 雙特異性抗體作為這些配對，其係代表更廣泛用於 CD3 結合臂之抗體組的用途。測量係於 Sierra Sensors MASS-1 儀器上進行。

【0195】 在抗原捕捉模式中，係以山羊抗-小鼠 IgG2a 多株抗體(Southern Biotech)將 MASS-1 高密度胺感測器表面衍生化。捕捉可溶性二聚體 CD3 蛋白並將個別抗體注射至捕捉的抗原上。

【0196】 藉由使用 MASS-1 AnalyserR2 曲線擬合軟體處理並將數據與 1 : 1 結合模型擬合，測定動力學結合(k_a)和解離(k_d)速率常數。從動力學速率常數計算結合解離平衡常數(K_D)和解離半衰期($t_{1/2}$)為： $K_D(\text{M}) = k_d/k_a$ ；

及 $t_{1/2}(\text{min}) = (\ln 2 / (60 * k_d))$ 。

表 11：抗-CD3 雙特異性抗體對可溶性人類 CD3 之親和力

雙特異性抗體 辨識碼	37°C 結合/抗原捕捉模式				
	對應的抗 -CD3 抗原結 合 HCVR 辨識 碼	$k_a(\text{Ms}^{-1})$	$k_d(\text{s}^{-1})$	$K_D(\text{M})$	$T_{1/2}(\text{min})$
BSPSMA/CD3-003	CD3-VH-G	1.32E+05	7.62E-04	5.78E-09	15.2
BSPSMA/CD3-200	CD3-VH-G2	NB	NB	NB	NB
BSPSMA/CD3-300	CD3-VH-G3	NB	NB	NB	NB
BSPSMA/CD3-400	CD3-VH-G4	NB	NB	NB	NB
BSPSMA/CD3-004	CD3-VH-G5	NB	NB	NB	NB
BSPSMA/CD3-800	CD3-VH-G8	5.95E+04	1.15E-03	1.94E-08	10.0
BSPSMA/CD3-900	CD3-VH-G9	4.38E+04	4.95E-03	1.13E-07	2.3
BSPSMA/CD3-1000	CD3-VH-G10	3.44E+04	6.37E-03	1.85E-07	1.8
BSPSMA/CD3-1100	CD3-VH-G11	9.21E+04	1.02E-03	1.11E-08	11.3
BSPSMA/CD3-1200	CD3-VH-G12	3.85E+04	2.47E-03	6.42E-08	4.7
BSPSMA/CD3-1300	CD3-VH-G13	2.03E+04	2.48E-03	1.22E-07	4.7
BSPSMA/CD3-1400	CD3-VH-G14	6.21E+04	3.31E-03	5.33E-08	3.5
BSPSMA/CD3-1500	CD3-VH-G15	7.36E+04	6.11E-03	8.29E-08	1.9
BSPSMA/CD3-1600	CD3-VH-G16	6.43E+04	2.43E-03	3.78E-08	4.7
BSPSMA/CD3-1700	CD3-VH-G17	4.70E+04	3.07E-03	6.52E-08	3.8
BSPSMA/CD3-1800	CD3-VH-G18	NB	NB	NB	NB
BSPSMA/CD3-1900	CD3-VH-G19	4.43E+04	5.09E-03	1.15E-07	2.3
BSPSMA/CD3-005	CD3-VH-G20	1.73E+04	5.77E-03	3.34E-07	2.0
BSPSMA/CD3-2100	CD3-VH-G21	3.02E+04	2.34E-03	7.75E-08	4.9
Control 1	CD3-L2K	3.68E+05	2.66E-03	7.22E-09	4.3

NB：無偵測到結合

【0197】 如表 11 中所示，在表面電漿子共振結合分析中，所有衍生的抗-CD3x 抗-PSMA 雙特異性抗體對可溶性 CD3 維持非常微弱的結合，具有大於 11 nM 至高 334 nM 之 K_D 值，其係比衍生自生殖系框架 CD3-VH-G 之雙特異性抗-CD3 臂更弱的值。

【0198】 數種雙特異性抗體展現大於 50 nM K_D 值，且某些係大於 100 nM ($>1 \times 10^{-7}$) K_D 值 (亦即 BSPSMA/CD3-900、BSPSMA/CD3-1000、BSPSMA/CD3-1900)，大於 300 nM ($>3 \times 10^{-7}$) K_D 值 (亦即 BSPSMA/CD3-005) 及甚至超出分析的偵測極限 (>500 nM； $>5 \times 10^{-7}$)，亦即對可溶性人類 CD3 顯示未檢出的結合 (亦即 BSPSMA/CD3-200、BSPSMA/CD3-300、BSPSMA/CD3-400、BSPSMA/CD3-004 和 BSPSMA/CD3-1800)。

實例 6：如活體所測量，本發明之雙特異性抗體展現 T 細胞活化和腫瘤-特異性細胞毒性

【0199】 在此實例中，係在 CD3-為基礎的雙特異性抗體存在下經由流式細胞儀監測 PSMA、EGFRvIII 或 MUC16-表現的 TAA 目標細胞之特異性毒殺。如先前的報告，此等雙特異性抗體係對 CD3 蛋白和 CD3-表現細胞株展現一定範圍的親和力 (亦即微弱、中度和強力結合)。以相同的雙特異性抗體組就引發初始 T 人類細胞將毒殺再導向目標表現細胞的能力進行檢測。

【0200】 簡言之，將 PSMA-表現 (C4-2、22Rv1 和 TRAMPC2_PSMA)、EGFRvIII-表現 (U87/EGFRvIII) 或 MUC16-表現 (OVCAR3) 的細胞株以 $1 \mu\text{M}$ 的螢光追蹤染劑 Violet Cell Tracker 標定。標定後，於 37°C 植入細胞至隔夜。分開地，將人類 PBMC 以 1×10^6 個細胞/mL 植入補充的 RPMI 培養基並於 37°C 培養至隔夜以便藉由排除黏附的巨噬細胞、樹突細胞和一些單核細胞

來增豐淋巴細胞。隔天，將目標細胞與黏附細胞排除的初始 PBMC(效應子/目標細胞 4:1 比率)和連續稀釋的相關雙特異性抗體或同型對照(濃度範圍：66.7nM 至 0.25pM)於 37°C 共培養 48 小時。使用無酵素的細胞解離緩液從細胞培養盤移出細胞並以 FACS 分析。

【0201】 就 FACS 分析，係將細胞以死/活 far red 細胞追蹤劑 (Invitrogen)染色。就在 FACS 分析前將 5×10^5 計數微珠加到各孔槽。各樣本係收集 1×10^4 微珠。就毒殺特異性之評估，細胞係以活的 Violet 標定群族為門控。記錄活群族之百分比並用於計算正常化存活。

【0202】 T 細胞活化係藉由將細胞以直接接合 CD2 和 CD69 的抗體培養，並藉由提出總 T 細胞(CD2+)中活化的(CD69+)T 細胞百分比來評估。

【0203】 如表 12A-12C 之結果所示，觀察到抗-PSMA、EGFRvIII 或 MUC16xCD3 雙特異性抗體消除了 TAA-表現細胞。大部分檢測的雙特異性抗體以皮莫耳範圍的 EC_{50} 活化人類 T 細胞並導向消除目標細胞。另外，所觀察到的目標細胞解離(消除)係與 CD2+ T 細胞上的 CD69 細胞上調有關，具有皮莫耳(pM) EC_{50} 。

【0204】 重要地，此實例的結果驗證了數種利用 CD3 結合臂之雙特異性抗體其對 CD3 蛋白或 CD3-表現細胞(亦即 CD3-VH-G5)展現微弱-至-未檢出的結合，但仍保留活化 T 細胞的能力及展現強力的腫瘤抗原表現細胞之細胞毒性。

表 12A：選出的 PSMAxCD3 雙特異性抗體之細胞毒性和 T-細胞活化特性

雙特異性抗體辨識碼	抗-CD3 結合臂	C4-2 細胞消除 EC_{50} [M]	22RV1 細胞消除 EC_{50} [M]	TrampC2.PS MA 細胞消除 EC_{50} [M]	T 細胞活化 EC_{50} [M]
BSPSMA/CD3-003	CD3-VH-G	1.03E-11	NT	6.43E-12	1.23E-12
BSPSMA/	CD3-VH-	NT	無活性	NT	無活性

CD3-200	G2				
BSPSMA/ CD3-300	CD3-VH- G3	NT	非常弱	NT	1.85E-11
BSPSMA/ CD3-400	CD3-VH- G4	NT	非常弱	NT	非常弱
BSPSMA/ CD3-004	CD3-VH- G5	2.15E-11	6.31E-12	1.15E-11	1.34E-11
BSPSMA/ CD3-800	CD3-VH- G8	NT	NT	9.27E-12	1.76E-12
BSPSMA/ CD3-900	CD3-VH- G9	NT	NT	3.50E-12	1.12E-12
BSPSMA/ CD3-1000	CD3-VH- G10	NT	NT	5.97E-12	1.28E-12
BSPSMA/ CD3-1100	CD3-VH- G11	NT	NT	3.86E-12	1.11E-12
BSPSMA/ CD3-1300	CD3-VH- G13	8.74E-12	NT	NT	2.31E-12
BSPSMA/ CD3-1700	CD3-VH- G17	7.37E-12	2.07E-12	NT	3.89E-12
BSPSMA/ CD3-005	CD3-VH- G20	1.39E-11	8.32E-12	NT	6.11E-12

NT= 無檢測

表 12B：選出的 EGFRvIIIxCD3 雙特異性抗體之細胞毒性和 T-細胞活化特性

雙特異性抗體辨 識碼	抗-CD3 結合臂	U87_EGFRvIII 細胞消除 EC ₅₀ [M]	T 細胞活化 EC ₅₀ [M]
---------------	-----------	--	--------------------------------

BSV3/CD3-001	CD3-VH-G	3.64E-10	3.33E-11
BSV3/CD3-002	CD3-VH-G5	1.30E-09	1.13E-10

表 12C：選出的 MUC16xCD3 雙特異性抗體之細胞毒性和 T-細胞活化特性

雙特異性抗體辨識碼	抗-CD3 結合臂	OVCAR3 細胞消除 EC ₅₀ [M]	T 細胞活化 EC ₅₀ [M]
BSV3/CD3-001	CD3-VH-G	2.24E-11	5.88E-12
BSV3/CD3-002	CD3-VH-G5	3.06E-11	1.01E-11

實例 7：抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體展現強力的活體內抗-腫瘤功效

【0205】 為了測定經鑑定對人類和獼猴 CD3 具有微弱或未檢出結合親和力之示例抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體的功效，係於帶有人類前列腺癌異種移植之免疫妥協小鼠中進行研究。亦於經基因改造表現人類 PSMA 之帶有小鼠前列腺癌異種移植的免疫活性小鼠中進行另外的研究。

抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體在人類腫異種移植模型中之功效

【0206】 為了評估抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體在活體內人類腫瘤異種移植研究中的功效，係將 NOD *scid* γ (NSG)小鼠(Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine)與人類周邊血液單核細胞(PBMC)以及內生性表現 PSMA 之 22Rv1 或 C4-2 人類前列腫瘤細胞共移植。

【0207】 簡言之，將 4×10^6 個 22Rv1 或 5×10^6 C4-2 細胞(MD Anderson, TX)以皮下(s.c.)與 1×10^6 個人類 PBMC(ReachBio, LLC., Seattle, WA)以 50 : 50 之基質膠基質膜(matrigel matrix)(BD Biosciences)混合物共植入至雄性 NSG 小鼠的右腹。在 C4-2 研究中，係於腫瘤移植後第 0、4 和 7 天以腹腔注射(i.p.)0.1 mg/kg BSPSMA/CD3-003 或 BSPSMA/CD3-005 治療。

【0208】 在另外的異種基因模型中，抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體

係於植入人類造血 CD34+幹細胞之小鼠中進行檢測。簡言之，將新生的 SIRP α BALB/c-Rag2- IL2 γ -(BRG)幼鼠植入上 hCD34+胎肝細胞。3-6 個月後，將 hCD34-植入的 SIRP α BRG 小鼠以 C4-2 細胞(基底膠中 5×10^6 皮下)移植。8 天後以 10 μ g 的 BSPSMA/CD3-004 或同型對照抗體治療，接著在整個研究係以 2x/週給劑。

【0209】 在所有的研究中，係使用游標尺 2x/週測量腫瘤大小並計算腫瘤體積為體積=(長 x 寬²)/2。

【0210】 如表 13 之結果所示，以上述異種基因模型所檢測的雙特異性抗體在抑制腫生長上，相較於以同形對照治療者，全部皆為有效的。

表 13：藉由投予抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體於異種基因小鼠模型，抑制腫瘤生長

異種基因模型：抑制腫瘤生長				
腫瘤模型/ 小鼠品系	N #小鼠/ 治療組	雙特異性抗體辨識 碼	劑量	最終腫瘤體積 (mm ³) 平均 \pm SD
C4-2/ NSG	5	BSPSMA/CD3-003	0.1 mg/kg	0 \pm 0
	5	BSPSMA/CD3-005	在第 0、4 &	0 \pm 0
	5	同型對照	7 天	960 \pm 660
C4-2/ 植入 hCD34+ HSC 之 SIRP α Balb/c-Rag2- IL2 γ - BRG	5	BSPSMA/CD3-004		70 \pm 60
	5	同型對照	1.0 μ g/小鼠 2x/週	260 \pm 180

抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體在免疫活性腫瘤模型中的功效

【0211】 另外，係於免疫活性模型中評估抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體之抗-腫瘤活性(2014年11月24日申請的美國臨時申請案第62/083,653號)。將三條 CD3 鏈($\delta\gamma\epsilon$)人源化之小鼠亦對 PSMA 人源化並植入以人類 PSMA 轉染之變體鼠科前列腺癌細胞株 TRAMP-C2。

【0212】 在研究開始前，先產生致腫瘤細胞株變體 TRAMP-C2_hPSMAv#1。簡言之，將 7.5×10^6 個 TRAMP-C2_hPSMA 細胞以皮下植入 CD3 和 PSMA 人源化之雄性小鼠右腹。割下腫瘤並切成 3 mm 片段及隨後植入新的雄性人源化小鼠右腹。然後收取由植入的腫瘤片段所引發的腫瘤並研碎成單一細胞懸浮液。然後在 G418 選擇下於活體外培養這些細胞(TRAMP-C2_hPSMAv#1)。然後將 4×10^6 個此變體細胞株植入雄性 PSMA/CD3 人源化小鼠的右腹進行雙特異性抗體功效研究。

【0213】 從腫瘤移植當日開始，以 100 μg 或 10 μg 的抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體 BSPSMA/CD3-004 或同型對照，2x/週治療植入 TRAMP-C2_hPSMAv#1 之人源化 PSMA/CD3 小鼠。亦檢驗注射 4h 後之血清細胞激素量，以及脾 T 細胞量。研究在第 27 天終止。

【0214】 如表 14 中的結果所示，所檢測的抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體分子 BSPSMA/CD3-004，就整個治療組在明顯延遲腫瘤生長上顯示功效。在投予 BSPSMA/CD3-004 後觀察到最小的細胞激素釋放，可能係由於抗-CD3 之微弱的結合。在無排除脾中 T 細胞下，二種檢測抗體顯示抗腫瘤功效。

表 14：抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體在免疫活性同基因模型中之功效

腫瘤模型/小鼠品系	雙特異性抗體辨識碼	劑量 (μg/小鼠) 2x/週*	N #小鼠/治療組	第 27 天腫瘤體積(mm ³) (平均± SD)	平均血清細胞激素濃度(pg/mL)					脾 T-細胞量%, (平均±SD) [#]	
					IFNγ	TNFα	IL-2	IL-12p70	IL-6	CD4+	CD8+
TRAMP-C2/ PSMA ^{Hum} /hum	BSPSMA/	100	4	50 ± 60	30	60	60	40	370	8.0±	12.0±
	CD3-004	10	5	380 ± 650	10	50	50	10	330	8.0±	14.0±
CD3 ^{Hum}	同型 對照	100	5	1740 ± 560	4	30	30	10	230	5.0±	8.0±
										3.0	4.0
										1.0	2.0

*小鼠係由腫瘤植入當天開始以抗體或同型對照 2x/週給劑

[#]測量活的 mCD45+細胞中脾之 CD4+或 CD8+細胞的百分比

【0215】 總言之，本發明之抗-PSMA/抗-CD3 雙特異性抗體，僅管對 CD3 抗原具有低至未檢出的結合，其在二個免疫妥協腫瘤模型中展現強力的抗-腫瘤功效。

實例 8：抗-MUC16/抗-CD3 雙特異性抗體展現活體內強力的抗-腫瘤功效

【0216】 為了測定經鑑定對人類和獼猴 CD3 具有微弱或未檢出結合親和力之示例抗-MUC16/抗-CD3 雙特異性抗體的功效，係於帶有人類前列腺癌異種移植物之免疫妥協小鼠中進行研究。亦於立即治療和治療性給劑治療二種模型中檢測選出的雙特異性抗體之功效。

抗-MUC16/抗-CD3 雙特異性抗體在人類腫瘤異種移植模型中之功效

【0217】 為了評估抗-MUC16/抗-CD3 雙特異性抗體在人類腫瘤異種移植研究中的功效，係將 NOD *scid* γ (NSG)小鼠(Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine)先以人類周邊血液單核細胞(PBMC；ReachBio LLC., Seattle, WA)移植，及然後將來自人類卵巢癌細胞株 OVCAR-3(American Type Tissue Culture, Manassas, VA)之特定腹水細胞以螢光素酶(OVCAR-3/Luc)轉導。OVCAR-3 細胞係內生性表現 MUC-16。

【0218】 簡言之，將 NSG 小鼠以腹膜內注射(i.p.) 5.0×10^6 個人類 PBMC。8 天後，將 1.5×10^6 個先前於活體內傳代的 OVCAR-3/Luc 細胞株之腹水細胞以 i.p.投予至植入 PBMC 之 SG 小鼠。在立即治療組中，小鼠係在 OVCAR-3/Luc 細胞移植當天以 10 ug/小鼠劑量之 MUC16/CD3 雙特異性抗體 BSMUC16/CD3-001 或 BSMUC16/CD3-005 或同型對照由 i.p 治療(N=5 隻小鼠/治療組)。在治療性給劑模型中，小鼠係在腫瘤移植後 7 天以 10 ug/小鼠劑量之 MUC16/CD3 雙特異性抗體或對照抗體由 i.p 治療(N=5 隻小鼠/治療組)。

【0219】 在所有的研究中，係經由生物冷光造影(BLI)來監測腫瘤生長。將小鼠以 i.p.注射懸浮於 PBS(150 mg/kg)中的螢光素酶基質 D-螢光素並

在 10 min.後於異氟烷(isoflurane)麻醉下進行造影。BLI 係使用 Xenogen IVIS 系統(Perkin Elmer, Hopkinton, MA)來進行，及使用 Living Image 軟體(Xenogen/Perkin Elmer)來提取 BLI 訊號。在各細胞群周圍劃出感興趣區域並記錄光子強度為光子(p)/秒(s)/cm²/球面度(sr)。就立即治療組，數據係顯示腫瘤移植後 26 天的 BLI 量(表 15)。就治療性治療組，數據係顯示介於第 6 天(治療 1 天後)和研究終了(腫瘤移植後 26 天；表 16)之間的 BLI 倍數變化。

【0220】 如結果所示，在立即給劑模型中，當於第 26 天測量 BLI 時，BSMUC16/CD3-001 和 BSMUC16/CD3-005 二者在抑制腫瘤生長上，相較於同型對照，係顯示類似的功效。二種抗-MUC16/抗-CD3 雙特異性抗體當於腫瘤移植後 7 天給藥時，相較於對照組，亦抑制了已建立腫瘤的生長。總言之，本發明之雙特異抗-MUC16/抗-CD3 抗體在數種模型中展現強力的抗-腫瘤功效。

表 15: 在免疫妥協異種移植模型中抗-MUC16/抗-CD3 雙特異性抗體之功效：
立即給藥

腫瘤模型/小鼠品系/ 劑量	雙特異性抗體辨識碼	N	平均生物冷光亮度(光子/秒/cm ² /球面度)第 26 天 (平均 ± SD)
OVCAR-3/Luc/NSG/ 10ug/小鼠	BSMUC16/CD3-001	5	1.4x10 ³ ± 3.5x10 ²
	BSMUC16/CD3-005	5	1.5x10 ³ ± 9.7x10 ²
	同型對照	5	2.0x10 ⁷ ± 1.0x10 ⁶

表 16: 在免疫妥協異種移植模型中抗-MUC16/抗-CD3 雙特異性抗體之功效：
治療性治療

腫瘤模型/小鼠品系/劑量	雙特異性抗體辨識碼	N	相對於第 6 天，在第 26 天之平均生物冷光亮度(光子/秒/cm ² /球面度) [p/s/cm ² /sr] 的倍數變化 (平均±SD)
OVCAR-3/Luc/ NSG/ 10ug/小鼠	BSMUC16/CD3-001	5	2.0 ± 5.0
	BSMUC16/CD3-005	5	0.01 ± 0.02
	同型對照	5	21.0 ± 8.0

實例 9：抗-MUC16 x CD3 雙特異性抗體之藥物動力學評估

【0221】 抗-MUC16 x CD3 雙特異性抗體 BSMUC16/CD3-001 和 BSMUC16/CD3-005 以及同型對照之藥物動力學評估係在人源化 MUC16 x CD3 小鼠(人類 MUC16 和 CD3 表現同型接合之小鼠 MUC16^{hu/hu} x CD3^{hu/hu})、CD3 人源化小鼠(人類 CD3 表現之同型接合小鼠 CD3^{hu/hu})及品系相配(75% C57BL, 25%129Sv)野生型(WT)小鼠中進行。各組隊每種試驗抗體和每種小鼠品系係含有 4-5 隻小鼠。所有的小鼠係接受單一腹膜內(i.p.) 0.4 mg/kg 劑量。於給劑後 3 和 6 小時，1、3、7、14 和 28 天收集血液樣本。將血液處理成血清並冷凍於-80°C 直到分析。

【0222】 循環的抗體濃度係藉由總人類 IgG 抗體分析使用 GyroLab xPlore™(Gyros, Uppsala, Sweden)來測定。簡言之，將一生物素化的山羊抗-人類 IgG 多株抗體(Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA)捕捉至 Gyrolab Bioaffy 200 CD(Gyros)上塗覆鏈黴親和素(streptavidin)的微珠，用以捕捉存在血清中的人類 IgG。在親和管柱捕捉後，以 Alexa-647 標定的山羊抗-人類 IgG(Jackson ImmunoResearch)偵測樣本中結合的人類 IgG 抗體。得以偵測結合的 IgG 之管柱上的螢光訊號及反應單位(RU)，係藉由此儀器讀取。以內插法從使用 Gyrolab Evaluator 軟體使用 5-參數邏輯曲線擬合之標

準曲線，測定樣本濃度。

【0223】 PK 參數係藉由非模室分析(NCA)使用 Phoenix[®]WinNonlin[®]軟體 Version 6.3(Certara, L.P., Princeton, NJ)和血管外給劑模型來測定。使用各抗體之個別的平均濃度值，所有的 PK 參數，包括觀察到的血清中最大濃度(C_{max})、觀察到的預估半衰期($t_{1/2}$)和濃度對時間曲線下的面積至最後一次可測量濃度(AUC_{last})係使用線性梯型法則以線性內插和均勻加權所測定。

【0224】 在 WT 小鼠中 i.p.投予抗體後，BSMUC16/CD3-001、BSMUC16/CD3-005 和同型對照之總 IgG 濃度-時間樣貌皆為類似的，其特徵首先為簡短藥物分布，接著貫穿剩餘研究的單一藥物消除。將最大血清濃度(C_{max})和三種抗體之理論的藥物暴露(AUC_{last})作比較(相互在 1.3 倍內)。在 CD3^{hu/hu} 小鼠中 i.p.投予抗體後，BSMUC16/CD3-001、BSMUC16/CD3-005 和同型對照具有相當的 C_{max} 濃度(分別為 4.6、3.6 和 4.1 $\mu\text{g/mL}$)。BSMUC16/CD3-005 和同型對照展現類似的藥物清除曲線，而 BSMUC16/CD3-001 係展現比二者更陡峭的藥物清除，其顯示人類 CD3 目標結合驅動了清除。BSMUC16/CD3-001 的最終抗體濃度為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ ，其比同型對照所測定的最終抗體濃度(0.85 $\mu\text{g/mL}$)低約 28-倍及比 BSMUC16/CD3-005 (0.66 $\mu\text{g/mL}$)血清濃度低 22-倍。

【0225】 在 MUC16^{hu/hu} x CD3^{hu/hu} 雙-人源化小鼠中，Muc16xCD3 雙特異性和同型對照抗體具有相當的 C_{max} 濃度(C_{max} 範圍：4.5-6.9 $\mu\text{g/mL}$)。二種雙特異性抗體展現比同型對照更陡峭的藥物清除，其顯示了目標-媒介的效應。BSMUC16/CD3-001 和 BSMUC16/CD3-005 的最終抗體濃度比同型對照所測定的最終抗體濃度(0.86 $\mu\text{g/mL}$)分別低約 29-倍和 2.9-倍。

【0226】 總抗-MUC16 x CD3 雙特異性抗體和同型對照抗體濃度之數據的概要係彙整於表 17 中。平均 PK 參數係描述於表 18A 和 18B 中。平均總抗體濃度與時間係如圖 2A、2B 和 2C 所示。總之，MUC16xCD3 雙特

異性抗體在 WT 小鼠中展現類似的 C_{max} 和藥物清除曲線，但 BSMUC16/CD3-001 在 CD3 單人源化小鼠和 MUC16/CD3 雙人源化小鼠中展現比 BSMUC16/CD3-005 和同型對照更陡峭的清除率。因為在此 PK 研究中所投予的雙特異性抗體係包括相同的抗-MUC16 結合臂，所以結果顯示 CD3 靶向臂之結合強度可能在藥物暴露量(AUC_{last})和藥物清除率上佔有一席之地。BSMUC16/CD3-001 或 BSMUC16/CD3-005 皆不會與小鼠 MUC16 或小鼠 CD3 結合。

表 17：於 WT 小鼠、人源化 CD3 小鼠和人源化 MUC16 x CD3 小鼠中單一 0.4 mg/kg 腹膜內注射 BSMUC16/CD3-001、BSMUC16/CD3-005 和同型對照抗體後，血清中總 IgG 的平均濃度

抗體	時間 (d)	小鼠血清中總 mAb 濃度					
		WT		CD3 ^{hu/hu}		MUC16 ^{hu/hu} x CD3 ^{hu/hu}	
		平均 ($\mu\text{g/mL}$)	+/- SD	平均 ($\mu\text{g/mL}$)	+/- SD	平均 ($\mu\text{g/mL}$)	+/- SD
BSMUC16/CD3-001	0.13	5.39	0.34	4.30	0.29	6.77	1.52
	0.25	5.80	0.36	4.26	1.07	6.63	1.06
	1.00	4.13	0.43	2.87	0.71	4.89	0.53
	3.00	3.19	0.53	1.44	0.27	2.50	0.22
	7.00	2.61	0.73	0.72	0.13	1.20	0.22
	14.00	1.44	0.69	0.18	0.05	0.28	0.08
	21.00	0.93	ND	0.07	0.02	0.06	0.05
	28.00	0.60	ND	0.04	0.01	0.03	0.02
BSMUC16/CD3-005	0.13	4.23	0.62	3.35	1.15	4.35	0.24
	0.25	4.53	0.55	3.40	0.96	4.45	0.49

	1.00	3.47	0.32	2.72	0.42	3.00	0.61
	3.00	2.51	0.13	1.95	0.37	1.98	0.41
	7.00	2.02	0.24	2.31	0.67	1.58	0.36
	14.00	1.19	0.17	1.01	0.23	0.78	0.26
	21.00	1.19	0.29	1.19	0.11	0.66	0.29
	28.00	0.71	0.20	0.66	0.28	0.30	0.22
Isotype Control	0.13	5.07	1.16	5.43	1.30	6.56	0.70
	0.25	5.91	1.10	5.67	1.91	6.48	0.90
	1.00	2.64	0.24	2.98	1.14	2.82	0.30
	3.00	2.05	0.06	2.29	0.83	1.57	0.37
	7.00	1.80	0.25	2.14	0.85	1.96	0.37
	14.00	1.22	0.28	1.48	0.66	1.34	0.37
	21.00	1.20	0.58	1.43	0.72	1.24	0.44
	28.00	0.73	0.24	0.85	0.29	0.86	0.41

時間：(h, 當指出時)=單一劑量注射後以小時表示的時間；D=研究天數；SD = 標準偏差；ND = 未測定，由於藥物清除抗-藥物滴定排除的小鼠

表 18A：藥物動力學參數之概要：CD3^{hu/hu} 人源化小鼠

參數	單位	WT 小鼠			CD3 ^{hu/hu} 小鼠		
		同型 對照	BSMUC1 6/CD3-00 1	BSMUC 16/CD3- 005	同型 對照	BSMUC1 6/CD3-00 1	BSMU C16/C D3-005
C _{max}	µg/mL	5 ± 3	6 ± 0.4	5 ± 0.5	4.1 ± 3	4.6 ± 0.8	3.5 ± 1
T _{1/2}	d	11 ± 4	7 ± 3	12 ± 2	14 ± 0.5	3.9 ± 0.6	11 ± 5
AUC _{last}	d·µg/mL	35 ± 18	40 ± 11	45 ± 5	49 ± 20	16 ± 3	36 ± 13

C_{max}=高峰濃度；AUC = 濃度-時間曲線下的面積；AUC_{last} = 從時間 0 至最後

正濃度時間所計算的 AUC； $T_{1/2}$ =觀察到的預估半衰期；d=天

表 18B：藥物動力學參數之概要：MUC16^{hu/hu} x CD3^{hu/hu} 雙人源化小鼠

參數	單位	WT 小鼠			MUC16 ^{hu/hu} x CD3 ^{hu/hu} 小鼠		
		同型 對照	BSMUC 16/CD3- 001	BSMUC 16/CD3- 005	同型 對照	BSMUC1 6/CD3-00 1	BSMUC 16/CD3- 005
C_{max}	µg/mL	5 ± 3	6 ± 0.4	5 ± 0.5	6.7 ± 0.7	6.9 ± 1	4.5 ± 4
$T_{1/2}$	d	11 ± 4	7 ± 3	12 ± 2	12.9 ± 4	3.3 ± 0.8	8.2 ± 4
AUC_{last}	d.µg/mL	35 ± 18	40 ± 11	45 ± 5	46 ± 10	27 ± 3	34 ± 11

C_{max} = 高峰濃度；AUC = 濃度-時間曲線下的面積； AUC_{last} = 從時間 0 至最後正濃度時間所計算的 AUC； $T_{1/2}$ = 觀察到的預估半衰期；d=天

實例 10：抗-STEAP2/抗-CD3 雙特異性抗體展現活體內強力抗-腫瘤功效

【0227】 為了測定經鑑定對人類和獼猴 CD3 具有微弱或未檢出結合親和力之示例抗-STEAP2/抗-CD3 雙特異性抗體的功效，係於帶有人類前列腺癌異種移植物之免疫妥協小鼠中進行研究。

【0228】 為了評估抗-STEAP2/抗-CD3 雙特異性抗體在活體內人類腫瘤異種移植研究中的功效，係將 NOD *scid* γ (NSG) 小鼠(Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine)以人類周邊血液單核細胞(PBMC; ReachBio LLC., Seattle, WA)以及內生性表現 STEAP2 之人類前列腺癌 C4-2 細胞(MD Anderson Cancer Center, Houston TX)共移植。

【0229】 簡言之，將 5×10^6 C4-2 細胞以皮下(s.c.)與 1.25×10^6 個人類 PBMC 以 50 : 50 之基質膠基質膜(matrigel matrix)(BD Biosciences, San Jose, CA)混合物共植入至雄性 NSG 小鼠的右腹。在植入當天(立即治療模型)，以

腹膜內注射(i.p.)0.1 或 0.01 mg/kg 劑量的抗-STEAP2/抗-CD3 雙特異性 BSSTEAP2/CD3-001、BSSTEAP2/CD3-002 或 BSSTEAP2/CD3-003，或同型對照治療(N=5 隻小鼠/組)。

【0230】 使用游標尺 2x/週測量腫瘤大小並計算腫瘤體積為體積=(長 x 寬²)/2。在研究終了，移植腫瘤後 46 天時，數據係以腫瘤大小(mm³)表示(表 19)。

【0231】 如表 19 中之結果所示，相較於同型對照，當於研究終了測量腫瘤大小時，BSSTEAP2/CD3-001、BSSTEAP2/CD3-002 和 BSSTEAP2/CD3-003 顯著地抑制腫瘤生長。重要地，抗-STEAP2/抗-CD3 雙特異性抗體在抑制 C4-2 腫瘤生長上為有效的，即使在最低劑量 0.1 mg/kg 時。

表 19：在免疫妥協異種移植模型中抗-STEAP2/抗-CD3 雙特異性抗體的功效：立即給劑

腫瘤模型/ 小鼠品系	雙特異性抗體辨識碼	劑量(mg/kg)	N	腫瘤移植 46 天後 之腫瘤大小 (mm ³) (平均 ± SD)
C4-2 / NSG	BSSTEAP2/CD3-001	0.1	5	18.0 ± 14.0
		0.01	5	23.0 ± 22.0
	BSSTEAP2/CD3-002	0.1	5	15.0 ± 12.0
		0.01	5	17.0 ± 8.0
	BSSTEAP2/CD3-003	0.1	5	19.0 ± 12.0
		0.01	5	25.0 ± 21.0
	對照的雙特異性抗體	0.1	5	1020.0 ± 922.0

【0232】 本發明並不受限於文中所述的特定實施例之範圍。實際上，

除了該等文中所述之外，由前述說明及伴隨的圖示，各種本發明之修改對熟習本項技術者將變得顯而易見。此等修改係希望落在所附的申請專利範圍內。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

序列表

<110> 再生元醫藥公司
 Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> 最優化抗CD3雙特异性抗體及其用途
 OPTIMIZED ANTI-CD3 BISPECIFIC ANTIBODIES AND USES THEREOF

<150> US 62/222,605
 <151> 2015-09-23

<160> 201

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 1
 gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
 agttgcgcag ciagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
 ccttgtaaag gattggaatg ggttagcggg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180
 gccgacagcg tgaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
 cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaatacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta tcattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 2
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 2

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
 100 105 110

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

<210> 3
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 3
 gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
 1 5

<210> 5
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 5
 atatcatgga actcaggaag caag

24

<210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 6

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
1 5

<210> 7
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 7
gcaaaatagc gcagtggtta tggcaagttt tatcattatg gactggacgt g 51

<210> 8
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 8

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Val

<210> 9
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 9
gaagtacgt tggtagaatc tggaggagga ctctgtcaac caggacgacg attgctggtg 60
agttgtgctg ctagtggatt cacattcgac gactatgcta tgcattgggt aagacaggct 120
ccaggaaaag gactcgaatg ggtgtcagga ataagtigga actccggaag cattgggtac 180
gcagattcag tcaaagggcg atccaccata tcccagata acgctaagaa ctcactttac 240
cttcaaatga actctcttcg agcagaggac actgcacttt attattgctc taaggacggc 300
tccggttatg gatattttta ttattatgga atggacgtat ggggacaagg cactactgtt 360
accgttagtt cc 372

<210> 10
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 10

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

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

<210> 11
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 11
 ggattcacat tcgacgacta tgct

24

<210> 12
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 12

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 13

ataagttgga actccggaag catt

24

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 14

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 15

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 15

gctaaggacg gctccggtta tggatatttt tattattatg gaatggacgt a

51

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 16

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 17
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 17
 gaagtacaac tggtcgaatc tggaggaggt cttgttcaac ctggtcgac acttcgcctt 60
 tcttgtgccg cttctggttt cactttcgac gattatagca tgcattgggt acgacaggct 120
 cccggaaaag ggctggaatg ggtgtcagga attagtigga actcaggaag tattggatac 180
 gctgattcag tcaaaggacg cttcacaatc tcaagggaca acgctaaaaa ctcactttat 240
 ttgcaaatga actctctccg cgctgaagat accgctctct attattgcbc caaagatggg 300
 tctggttacg gttattttta ctactatgga atggacgttt ggggccaagg aacaactgtc 360
 acagtatcat cc 372

<210> 18
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

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

<210> 19
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 19
ggtttcacatt tcgacgatta tagc 24

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 21
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 21
attagttgga actcaggaag tatt 24

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 22

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 23
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 23

gccaagatg ggtctgggta cggttaittt tactactatg gaatggacgt t 51

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 24

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 25

<211> 372

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 25

gaagtccaac ttgtggaaag tggcggagga ttggtccaac caggacgttc attgaggctt 60

tcatgcgcag cttccggatt tacatttgac gattacgcaa tgcactgggt tagacaggca 120

ccaggaaaag gactggagtg ggtgagcggg atttcatgga acagcggcag tatecggttat 180

gcagactcag ttaaaggaag attcaccatc agtagagaca acgcaaaaaa ttccctttat 240

ctccaaatga actctcttag ggccgaagat acagcattgt actactgcgc aaaagacgga 300

tcaggttacg gaaaatttta ctactatggt atggatgtat ggggtcaggg aaccacagta 360

actgtatcaa gc 372

<210> 26

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 26

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

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

<210> 27
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 27
 ggattacat ttgacgatta cgca

24

<210> 28
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 28

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 29
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 29
atttcatgga acagcggcag tatc 24

<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 30

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 31
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 31
gcaaaagacg gatcaggtta cggaaaattt tactactatg gtatggatgt a 51

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 32

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 33
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 33
gaagtgaac tcgttgaaag cggaggagga ctggtccagc ccggcagatc ttcagattg 60

tcttgcgctg catccgatt tacatttgac gactattcaa tgcaactgggt acggcaagcc 120

ccaggtaaag gactcgaatg ggtaagcggc atatcttggg actcaggcag tattggctac 180
 gcagattcag taaaaggaag attcactatt tcaagggata atgctaagaa cagtctctac 240
 ttgcaaatga atagcttgcg cgcagaagat acagcacttt attattgtgc aaaagatgga 300
 agcggttatg ggaaatttta ttattatggt atggaigtat ggggtcaagg tacaacagtt 360
 actgtgtcaa gt 372

<210> 34
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 34

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

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

<210> 35
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 35
ggatttacat ttgacgacta ttca 24

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 36
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 37
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 37
atatcttgga actcaggcag tatt 24

<210> 38
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 38
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 39
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 39
gcaaaagatg gaagcggta tgggaaattt tattattatg gtatggatgt a 51

<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 40

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 41

<211> 372

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 41
gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
cctggtaaag gattggaatg ggtagcggg atatcatgga actcaggaag catcggatac 180
gccgacagcg tgaaggccg attacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaatacggc 300
agtggttatg gcaagtttta tcattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
acagtgagta gc 372

<210> 42

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 42

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
100 105 110

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

<210> 43
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 43
gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 44

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 45
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 45
atatcatgga actcaggaag catc

24

<210> 46
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 46

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 47

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 47

gcaaaatcgc gcagtggtta tggcaagttt tatcattatg gactggacgt g 51

<210> 48

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 48

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Val

<210> 49

<211> 372

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 49

gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60

agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcatgggt gaggcaagct 120

cctggtaaag gattggaatg ggttagcggg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180

gccgacagcg tgaaggccg attacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240

cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcbc aaaagacggc 300

agtggttatg gcaagtttta tcattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360

acagtgagta gc 372

<210> 50

<211> 124

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 50

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
100 105 110

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

<210> 51
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 51
gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 52

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 53
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 53
atatcatgga actcaggaag caag 24

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 54

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
1 5

<210> 55
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 55
gcaaaagacg gcagtggtta tggcaagttt tatcattatg gactggacgt g 51

<210> 56
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 56

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Val

<210> 57
<211> 372

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 57
gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
cctggtaaag gattggaatg ggtttagcggg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180
gccgacagcg tgaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaatacggc 300
agtggttatg gcaagtttta ttattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
acagtgagta gc 372

<210> 58
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 58

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

<210> 59
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 59
gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 60
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 61
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 61
atatcatgga actcaggaag caag

24

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 62
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
1 5

<210> 63
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 63
gcaaaatagc gcagtggtta tggcaagttt tattattatg gactggacgt g 51

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 64

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Val

<210> 65
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 65
gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
agttgocag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcatgggt gaggcaagct 120
cctggtaaag gattggaatg ggtagcggg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180
gccgacagcg taaaaggccg attacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgocg aaaatagcg 300
agtggttatg gcaagtttta tcattatgga atggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
acagtgagta gc 372

<210> 66
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 66

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

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

<210> 67
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 67
 gggtttaccat tcgacgatta cagc

24

<210> 68
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 68

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
 1 5

<210> 69
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 69
 atatcatgga actcaggaag caag

24

<210> 70
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 70

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
 1 5

<210> 71
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 71
 gcaaaatacg gcagtgggta tggcaagttt tatcattatg gaatggacgt g 51

<210> 72
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 72

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Met Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 73
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 73
 gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
 agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcatgggt gaggcaagct 120
 ccttgtaaag gattggaatg ggtagcggg atatcatgga actcaggaag catcggatac 180
 gccgacagcg tgaaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240

cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaagacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta tcattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 74
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 74

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
 100 105 110

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

<210> 75
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 75

gggtttacat tcgacgatta cagc 24

<210> 76
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 76

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
 1 5

<210> 77
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 77
 atatcatgga actcaggaag catc

24

<210> 78
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 78

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
 1 5

<210> 79
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 79
 gcaaaagacg gcagtggtta tggcaagttt tatcattatg gactggacgt g

51

<210> 80
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 80

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 81
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 81
 gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
 agttgocgac ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
 cctggtaaag gattggaatg ggttagcggg atatcatgga actcaggaag catcggatac 180
 gccgacagcg tgaaaggccg attacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
 cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaatacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta ttattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 82
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 82

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

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

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

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

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

<210> 87
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 87
 gcaaaatagc gcagtgggta tggcaagttt tattattatg gactggacgt g 51

<210> 88
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 88

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 89
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 89
 gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
 agttgcgag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
 cctggtaaag gattggaatg ggttagcggg atatcatgga actcaggaag catcggatac 180
 gccgacagcg tgaaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
 cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaatacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta tcattatgga atggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 90
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 90

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Met Asp
100 105 110

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

<210> 91

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 91

gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 92

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 93
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 93
 atatcatgga actcaggaag catc

24

<210> 94
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 94

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
 1 5

<210> 95
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 95
 gcaaaatagc gcagtggtta tggcaagttt tatcattatg gaatggacgt g

51

<210> 96
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 96

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Met Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 97
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 97
 gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
 agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
 cctggtaaag gattggaatg ggtagcggg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180
 gccgacagcg tgaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
 cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaagacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta ttattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 98
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 98

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
 100 105 110

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

<210> 99
 <211> 24

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 99
gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 100

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 101
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 101
atatcatgga actcaggaag caag

24

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 102

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
1 5

<210> 103
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 103
gcaaaagacg gcagtggtta tggcaagttt tattattatg gactggacgt g

51

<210> 104
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 104

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 105
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 105
 gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
 agttgcgag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
 cctggtaaag gattggaatg ggttagcggg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180
 gccgacagcg tgaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
 cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaagacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta tcattatgga atggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 106
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 106

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Met Asp
100 105 110

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

<210> 107
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 107
gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 108
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 108

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 109
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 109
atatcatgga actcaggaag caag

24

<210> 110
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 110

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
1 5

<210> 111
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 111
gcaaaagacg gcagtggtaa tggcaagttt tatcattatg gaatggacgt g 51

<210> 112
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 112

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 113
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 113
gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
cctggtaaag gattggaatg ggtagcggg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180
gccgacagcg tgaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcbc aaaatacggc 300
agtggttatg gcaagtitta ttattatgga atggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360

acagtgagta gc

372

<210> 114
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 114

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

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

<210> 115
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 115

gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 116
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 116

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
 1 5

<210> 117

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 117

atatcatgga actcaggaag caag

24

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 118

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
 1 5

<210> 119

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 119

gcaaaatagc gcagtggta tggcaagttt tattattatg gaatggacgt g

51

<210> 120

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 120

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 121
 <211> 372
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 121
 gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
 agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
 cctggtaaag gattggaatg ggttagcggg atatcatgga actcaggaag catcggatac 180
 gccgacagcg tgaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
 cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcbc aaaagacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta ttattatgga ctggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 122
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 122

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
 100 105 110

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

<210> 123
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 123
 gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 124
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 124

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
 1 5

<210> 125
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 125
 atatcatgga actcaggaag catc

24

<210> 126
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 126

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
 1 5

<210> 127
 <211> 51

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 127
gcaaaaagacg gcagtggtta tggcaagttt tattattatg gacigggacgt g 51

<210> 128
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 128

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Val

<210> 129
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 129
gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60

agttgcgcag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120

ccitggtaaag gattggaatg ggtagcggg atatcatgga actcaggaag catcggatac 180

gccgacagcg tgaaggccg attacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240

cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcbc aaaagacggc 300

agtggttatg gcaagtttta tcattatgga atggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360

acagtgagta gc 372

<210> 130
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 130

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Met Asp
100 105 110

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

<210> 131
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 131
gggtttacat tcgacgatta cagc

24

<210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 132

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 133
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 133
atatcatgga actcaggaag catc 24

<210> 134
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 134
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 135
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 135
gcaaaagacg gcagtggtta tggcaagttt tatcattatg gaatggacgt g 51

<210> 136
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 136
Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 137
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 137
gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60

agttgcgag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcattgggt gaggcaagct 120
 cctggtaaag gattggaatg ggtttagcggg atatcatgga actcaggaag catcggatac 180
 gccgacagcg tgaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaa ctctctctac 240
 cttcaaatag actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaatacggc 300
 agtggttatg gcaagtttta ttattatgga atggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
 acagtgagta gc 372

<210> 138
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 138

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110

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

<210> 139
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 139

gggtttacat tgcacgatta cagc

24

<210> 140

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 140

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 141

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 141

atatcatgga actcaggaag catc

24

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 142

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 143

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 143

gcaaaatagc gcagtggtta tggcaagttt tattattatg gaatggacgt g

51

<210> 144

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 144

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 145
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 145

gaagtacagc ttgtagaatc cggcggagga ctggtacaac ctggaagaag tcttagactg 60
agttgcgag ctagtgggtt tacattcgac gattacagca tgcaattgggt gaggcaagct 120
cctggtaaag gattggaatg ggtttagcggg atatcatgga actcaggaag caagggatac 180
gccgacagcg tgaaaggccg atttacaata tctagggaca acgcaaaaaa ctctctctac 240
cttcaaatga actctcttag ggcagaagac acagcattgt attattgcgc aaaagacggc 300
agtggttatg gcaagtttta ttattatgga atggacgtgt ggggacaagg gacaacagtg 360
acagtgagta gc 372

<210> 146
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 146

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

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

<210> 147
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 147
gggittacat tgcagcatta cagc

24

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 149
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 149
atatcatgga actcaggaag caag

24

<210> 150
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 150

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
1 5

<210> 151

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 151

gcaaaagacg gcagtggtta tggcaagttt tattattatg gaatggacgt g 51

<210> 152

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 152

Ala Lys Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 153

<211> 372

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 153

gaagtgcagc tggtggagtc tgggggagc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tcctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattattcca tgcactgggt ccggcaagct 120

ccaggggaagg gcctggagtg ggictcaggt attagttaga atagtggtag caaagactat 180

gcggaactctg tgaagggccg atcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaagac acggccttgt attactgtgc aaaatatgga 300

agtggctacg ggaagttcta ccaactacggt ttggactgtc tgggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 154
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 154

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
 100 105 110

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

<210> 155
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 155

ggattcacct ttgatgatta ttcc

24

<210> 156
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 156

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ser
1 5

<210> 157

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 157

attagttgga atagtggtag caaa

24

<210> 158

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 158

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Lys
1 5

<210> 159

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 159

gcaaaatag gaagtggtta cgggaagttc taccactacg gttggacgt c

51

<210> 160

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 160

Ala Lys Tyr Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr His Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Val

<210> 161
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 161
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 162
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 162

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

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

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

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

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

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

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 163
 <211> 18

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 163
cagagcatta gcagctat

18

<210> 164
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 164

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 165
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 165
gctgcatcc

9

<210> 166
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 166

Ala Ala Ser
1

<210> 167
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 167
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 168
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 168

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 169
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 169

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
 1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
 20 25 30

Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr
 35 40 45

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
 50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
 65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
 85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
 100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
 115 120 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
 130 135 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
 145 150 155 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
165 170 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195 200 205

<210> 170
<211> 171
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 170

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
20 25 30

Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
35 40 45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
50 55 60

Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
65 70 75 80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys
85 90 95

Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
100 105 110

Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
115 120 125

Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
130 135 140

Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145 150 155 160

Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
165 170

<210> 171
<211> 750
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 171

Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
1 5 10 15

Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
20 25 30

Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu
35 40 45

Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu
50 55 60

Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile
65 70 75 80

Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
85 90 95

Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His
100 105 110

Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
115 120 125

Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
130 135 140

Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
145 150 155 160

Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
165 170 175

Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
180 185 190

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

Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
 435 440 445
 Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val
 450 455 460
 Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu
 465 470 475 480
 Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
 485 490 495
 Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
 500 505 510
 Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
 515 520 525
 Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
 530 535 540
 Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
 545 550 555 560
 Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
 565 570 575
 Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val
 580 585 590
 Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
 595 600 605
 Asp Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr
 610 615 620
 Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
 625 630 635 640
 Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser
 645 650 655
 Asn Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
 660 665 670
 Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
 675 680 685

His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
690 695 700

Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp
705 710 715 720

Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala
725 730 735

Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
740 745 750

<210> 172
<211> 943
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 172

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Gly Asn Tyr
20 25 30

Val Val Thr Asp His Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser
35 40 45

Tyr Glu Met Glu Glu Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly
50 55 60

Pro Cys Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp
65 70 75 80

Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr
85 90 95

Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp
100 105 110

Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu
115 120 125

Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro
130 135 140

Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg
145 150 155 160

Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu
165 170 175

Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly
180 185 190

Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile
195 200 205

Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile
210 215 220

Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His
225 230 235 240

Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys
245 250 255

Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys
260 265 270

Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys
275 280 285

Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys
290 295 300

Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp
305 310 315 320

Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn
325 330 335

Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu
340 345 350

Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly
355 360 365

Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val
370 375 380

Gly Ala Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe
385 390 395 400

Met Arg Arg Arg His Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu
405 410 415

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

Asn Gln Ala Leu Leu Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile
435 440 445

Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp
450 455 460

Ile Pro Glu Gly Glu Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu
465 470 475 480

Arg Glu Ala Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala
485 490 495

Tyr Val Met Ala Ser Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly
500 505 510

Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe
515 520 525

Gly Cys Leu Leu Asp Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser
530 535 540

Gln Tyr Leu Leu Asn Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr
545 550 555 560

Leu Glu Asp Arg Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val
565 570 575

Leu Val Lys Thr Pro Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala
580 585 590

Lys Leu Leu Gly Ala Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys
595 600 605

Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr
610 615 620

Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu
625 630 635 640

Met Thr Phe Gly Ser Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile
645 650 655

Ser Ser Ile Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys
660 665 670

Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala
675 680 685

Asp Ser Arg Pro Lys Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met
690 695 700

Ala Arg Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met
705 710 715 720

His Leu Pro Ser Pro Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp
725 730 735

Glu Glu Asp Met Asp Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro
740 745 750

Gln Gln Gly Phe Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu
755 760 765

Ser Ser Leu Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp
770 775 780

Arg Asn Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln
785 790 795 800

Arg Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp
805 810 815

Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro Lys
820 825 830

Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln Pro Leu
835 840 845

Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro His Ser Thr
850 855 860

Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln Pro Thr Cys Val
865 870 875 880

Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala Gln Lys Gly Ser His
885 890 895

Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln Gln Asp Phe Phe Pro Lys
900 905 910

Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala
915 920 925

Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
930 935 940

<210> 173
<211> 14507
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 173

Met Leu Lys Pro Ser Gly Leu Pro Gly Ser Ser Ser Pro Thr Arg Ser
1 5 10 15

Leu Met Thr Gly Ser Arg Ser Thr Lys Ala Thr Pro Glu Met Asp Ser
20 25 30

Gly Leu Thr Gly Ala Thr Leu Ser Pro Lys Thr Ser Thr Gly Ala Ile
35 40 45

Val Val Thr Glu His Thr Leu Pro Phe Thr Ser Pro Asp Lys Thr Leu
50 55 60

Ala Ser Pro Thr Ser Ser Val Val Gly Arg Thr Thr Gln Ser Leu Gly
65 70 75 80

Val Met Ser Ser Ala Leu Pro Glu Ser Thr Ser Arg Gly Met Thr His
85 90 95

Ser Glu Gln Arg Thr Ser Pro Ser Leu Ser Pro Gln Val Asn Gly Thr
100 105 110

Pro Ser Arg Asn Tyr Pro Ala Thr Ser Met Val Ser Gly Leu Ser Ser
115 120 125

Pro Arg Thr Arg Thr Ser Ser Thr Glu Gly Asn Phe Thr Lys Glu Ala
130 135 140

Ser Thr Tyr Thr Leu Thr Val Glu Thr Thr Ser Gly Pro Val Thr Glu
145 150 155 160

Lys Tyr Thr Val Pro Thr Glu Thr Ser Thr Thr Glu Gly Asp Ser Thr
165 170 175

Glu Thr Pro Trp Asp Thr Arg Tyr Ile Pro Val Lys Ile Thr Ser Pro
180 185 190

Met Lys Thr Phe Ala Asp Ser Thr Ala Ser Lys Glu Asn Ala Pro Val
195 200 205

Ser Met Thr Pro Ala Glu Thr Thr Val Thr Asp Ser His Thr Pro Gly
210 215 220

Arg Thr Asn Pro Ser Phe Gly Thr Leu Tyr Ser Ser Phe Leu Asp Leu
225 230 235 240

Ser Pro Lys Gly Thr Pro Asn Ser Arg Gly Glu Thr Ser Leu Glu Leu
245 250 255

Ile Leu Ser Thr Thr Gly Tyr Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Gly Ser
260 265 270

Ala Gly His Ser Arg Ile Ser Thr Ser Ala Pro Leu Ser Ser Ser Ala
275 280 285

Ser Val Leu Asp Asn Lys Ile Ser Glu Thr Ser Ile Phe Ser Gly Gln
290 295 300

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

Thr Met Pro Asn Ser Ala Ile Pro Phe Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala
325 330 335

Glu Thr Ser Ala Glu Arg Val Arg Ser Thr Ile Ser Ser Leu Gly Thr
340 345 350

Pro Ser Ile Ser Thr Lys Gln Thr Ala Glu Thr Ile Leu Thr Phe His
355 360 365

Ala Phe Ala Glu Thr Met Asp Ile Pro Ser Thr His Ile Ala Lys Thr
370 375 380

Leu Ala Ser Glu Trp Leu Gly Ser Pro Gly Thr Leu Gly Gly Thr Ser
385 390 395 400

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

Thr Leu Ala Thr Asn Gly Val Pro Val Ser Val Ser Pro Ala Val Ser
645 650 655

Lys Thr Ala Ala Gly Ser Ser Pro Pro Gly Gly Thr Lys Pro Ser Tyr
660 665 670

Thr Met Val Ser Ser Val Ile Pro Glu Thr Ser Ser Leu Gln Ser Ser
675 680 685

Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ser Leu Gly Leu Thr Pro Leu Asn Thr Arg
690 695 700

His Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Asp Ser Ala Gly His Thr Lys Ile
705 710 715 720

Ser Thr Ser Ile Pro Leu Leu Ser Ser Ala Ser Val Leu Glu Asp Lys
725 730 735

Val Ser Ala Thr Ser Thr Phe Ser His His Lys Ala Thr Ser Ser Ile
740 745 750

Thr Thr Gly Thr Pro Glu Ile Ser Thr Lys Thr Lys Pro Ser Ser Ala
755 760 765

Val Leu Ser Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala Ala Thr Ser Pro Glu Arg
770 775 780

Val Arg Asn Ala Thr Ser Pro Leu Thr His Pro Ser Pro Ser Gly Glu
785 790 795 800

Glu Thr Ala Gly Ser Val Leu Thr Leu Ser Thr Ser Ala Glu Thr Thr
805 810 815

Asp Ser Pro Asn Ile His Pro Thr Gly Thr Leu Thr Ser Glu Ser Ser
820 825 830

Glu Ser Pro Ser Thr Leu Ser Leu Pro Ser Val Ser Gly Val Lys Thr
835 840 845

Thr Phe Ser Ser Ser Thr Pro Ser Thr His Leu Phe Thr Ser Gly Glu
850 855 860

Glu Thr Glu Glu Thr Ser Asn Pro Ser Val Ser Gln Pro Glu Thr Ser
865 870 875 880

Val Ser Arg Val Arg Thr Thr Leu Ala Ser Thr Ser Val Pro Thr Pro
885 890 895

Val Phe Pro Thr Met Asp Thr Trp Pro Thr Arg Ser Ala Gln Phe Ser
 900 905 910

Ser Ser His Leu Val Ser Glu Leu Arg Ala Thr Ser Ser Thr Ser Val
 915 920 925

Thr Asn Ser Thr Gly Ser Ala Leu Pro Lys Ile Ser His Leu Thr Gly
 930 935 940

Thr Ala Thr Met Ser Gln Thr Asn Arg Asp Thr Phe Asn Asp Ser Ala
 945 950 955 960

Ala Pro Gln Ser Thr Thr Trp Pro Glu Thr Ser Pro Arg Phe Lys Thr
 965 970 975

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

Ser Ala Thr Val Met Val Ser Lys Phe Thr Ser Pro Ala Thr Ser Ser
 995 1000 1005

Met Glu Ala Thr Ser Ile Arg Glu Pro Ser Thr Thr Ile Leu Thr
 1010 1015 1020

Thr Glu Thr Thr Asn Gly Pro Gly Ser Met Ala Val Ala Ser Thr
 1025 1030 1035

Asn Ile Pro Ile Gly Lys Gly Tyr Ile Thr Glu Gly Arg Leu Asp
 1040 1045 1050

Thr Ser His Leu Pro Ile Gly Thr Thr Ala Ser Ser Glu Thr Ser
 1055 1060 1065

Met Asp Phe Thr Met Ala Lys Glu Ser Val Ser Met Ser Val Ser
 1070 1075 1080

Pro Ser Gln Ser Met Asp Ala Ala Gly Ser Ser Thr Pro Gly Arg
 1085 1090 1095

Thr Ser Gln Phe Val Asp Thr Phe Ser Asp Asp Val Tyr His Leu
 1100 1105 1110

Thr Ser Arg Glu Ile Thr Ile Pro Arg Asp Gly Thr Ser Ser Ala
 1115 1120 1125

Leu Thr Pro Gln Met Thr Ala Thr His Pro Pro Ser Pro Asp Pro
 1130 1135 1140
 Gly Ser Ala Arg Ser Thr Trp Leu Gly Ile Leu Ser Ser Ser Pro
 1145 1150 1155
 Ser Ser Pro Thr Pro Lys Val Thr Met Ser Ser Thr Phe Ser Thr
 1160 1165 1170
 Gln Arg Val Thr Thr Ser Met Ile Met Asp Thr Val Glu Thr Ser
 1175 1180 1185
 Arg Trp Asn Met Pro Asn Leu Pro Ser Thr Thr Ser Leu Thr Pro
 1190 1195 1200
 Ser Asn Ile Pro Thr Ser Gly Ala Ile Gly Lys Ser Thr Leu Val
 1205 1210 1215
 Pro Leu Asp Thr Pro Ser Pro Ala Thr Ser Leu Glu Ala Ser Glu
 1220 1225 1230
 Gly Gly Leu Pro Thr Leu Ser Thr Tyr Pro Glu Ser Thr Asn Thr
 1235 1240 1245
 Pro Ser Ile His Leu Gly Ala His Ala Ser Ser Glu Ser Pro Ser
 1250 1255 1260
 Thr Ile Lys Leu Thr Met Ala Ser Val Val Lys Pro Gly Ser Tyr
 1265 1270 1275
 Thr Pro Leu Thr Phe Pro Ser Ile Glu Thr His Ile His Val Ser
 1280 1285 1290
 Thr Ala Arg Met Ala Tyr Ser Ser Gly Ser Ser Pro Glu Met Thr
 1295 1300 1305
 Ala Pro Gly Glu Thr Asn Thr Gly Ser Thr Trp Asp Pro Thr Thr
 1310 1315 1320
 Tyr Ile Thr Thr Thr Asp Pro Lys Asp Thr Ser Ser Ala Gln Val
 1325 1330 1335
 Ser Thr Pro His Ser Val Arg Thr Leu Arg Thr Thr Glu Asn His
 1340 1345 1350
 Pro Lys Thr Glu Ser Ala Thr Pro Ala Ala Tyr Ser Gly Ser Pro
 1355 1360 1365

Lys Ile Ser Ser Ser Pro Asn Leu Thr Ser Pro Ala Thr Lys Ala
 1370 1375 1380
 Trp Thr Ile Thr Asp Thr Thr Glu His Ser Thr Gln Leu His Tyr
 1385 1390 1395
 Thr Lys Leu Ala Glu Lys Ser Ser Gly Phe Glu Thr Gln Ser Ala
 1400 1405 1410
 Pro Gly Pro Val Ser Val Val Ile Pro Thr Ser Pro Thr Ile Gly
 1415 1420 1425
 Ser Ser Thr Leu Glu Leu Thr Ser Asp Val Pro Gly Glu Pro Leu
 1430 1435 1440
 Val Leu Ala Pro Ser Glu Gln Thr Thr Ile Thr Leu Pro Met Ala
 1445 1450 1455
 Thr Trp Leu Ser Thr Ser Leu Thr Glu Glu Met Ala Ser Thr Asp
 1460 1465 1470
 Leu Asp Ile Ser Ser Pro Ser Ser Pro Met Ser Thr Phe Ala Ile
 1475 1480 1485
 Phe Pro Pro Met Ser Thr Pro Ser His Glu Leu Ser Lys Ser Glu
 1490 1495 1500
 Ala Asp Thr Ser Ala Ile Arg Asn Thr Asp Ser Thr Thr Leu Asp
 1505 1510 1515
 Gln His Leu Gly Ile Arg Ser Leu Gly Arg Thr Gly Asp Leu Thr
 1520 1525 1530
 Thr Val Pro Ile Thr Pro Leu Thr Thr Thr Trp Thr Ser Val Ile
 1535 1540 1545
 Glu His Ser Thr Gln Ala Gln Asp Thr Leu Ser Ala Thr Met Ser
 1550 1555 1560
 Pro Thr His Val Thr Gln Ser Leu Lys Asp Gln Thr Ser Ile Pro
 1565 1570 1575
 Ala Ser Ala Ser Pro Ser His Leu Thr Glu Val Tyr Pro Glu Leu
 1580 1585 1590

Gly Thr Gln Gly Arg Ser Ser Ser Glu Ala Thr Thr Phe Trp Lys
 1595 1600 1605
 Pro Ser Thr Asp Thr Leu Ser Arg Glu Ile Glu Thr Gly Pro Thr
 1610 1615 1620
 Asn Ile Gln Ser Thr Pro Pro Met Asp Asn Thr Thr Thr Gly Ser
 1625 1630 1635
 Ser Ser Ser Gly Val Thr Leu Gly Ile Ala His Leu Pro Ile Gly
 1640 1645 1650
 Thr Ser Ser Pro Ala Glu Thr Ser Thr Asn Met Ala Leu Glu Arg
 1655 1660 1665
 Arg Ser Ser Thr Ala Thr Val Ser Met Ala Gly Thr Met Gly Leu
 1670 1675 1680
 Leu Val Thr Ser Ala Pro Gly Arg Ser Ile Ser Gln Ser Leu Gly
 1685 1690 1695
 Arg Val Ser Ser Val Leu Ser Glu Ser Thr Thr Glu Gly Val Thr
 1700 1705 1710
 Asp Ser Ser Lys Gly Ser Ser Pro Arg Leu Asn Thr Gln Gly Asn
 1715 1720 1725
 Thr Ala Leu Ser Ser Ser Leu Glu Pro Ser Tyr Ala Glu Gly Ser
 1730 1735 1740
 Gln Met Ser Thr Ser Ile Pro Leu Thr Ser Ser Pro Thr Thr Pro
 1745 1750 1755
 Asp Val Glu Phe Ile Gly Gly Ser Thr Phe Trp Thr Lys Glu Val
 1760 1765 1770
 Thr Thr Val Met Thr Ser Asp Ile Ser Lys Ser Ser Ala Arg Thr
 1775 1780 1785
 Glu Ser Ser Ser Ala Thr Leu Met Ser Thr Ala Leu Gly Ser Thr
 1790 1795 1800
 Glu Asn Thr Gly Lys Glu Lys Leu Arg Thr Ala Ser Met Asp Leu
 1805 1810 1815
 Pro Ser Pro Thr Pro Ser Met Glu Val Thr Pro Trp Ile Ser Leu
 1820 1825 1830

Thr Leu Ser Asn Ala Pro Asn Thr Thr Asp Ser Leu Asp Leu Ser
 1835 1840 1845
 His Gly Val His Thr Ser Ser Ala Gly Thr Leu Ala Thr Asp Arg
 1850 1855 1860
 Ser Leu Asn Thr Gly Val Thr Arg Ala Ser Arg Leu Glu Asn Gly
 1865 1870 1875
 Ser Asp Thr Ser Ser Lys Ser Leu Ser Met Gly Asn Ser Thr His
 1880 1885 1890
 Thr Ser Met Thr Tyr Thr Glu Lys Ser Glu Val Ser Ser Ser Ile
 1895 1900 1905
 His Pro Arg Pro Glu Thr Ser Ala Pro Gly Ala Glu Thr Thr Leu
 1910 1915 1920
 Thr Ser Thr Pro Gly Asn Arg Ala Ile Ser Leu Thr Leu Pro Phe
 1925 1930 1935
 Ser Ser Ile Pro Val Glu Glu Val Ile Ser Thr Gly Ile Thr Ser
 1940 1945 1950
 Gly Pro Asp Ile Asn Ser Ala Pro Met Thr His Ser Pro Ile Thr
 1955 1960 1965
 Pro Pro Thr Ile Val Trp Thr Ser Thr Gly Thr Ile Glu Gln Ser
 1970 1975 1980
 Thr Gln Pro Leu His Ala Val Ser Ser Glu Lys Val Ser Val Gln
 1985 1990 1995
 Thr Gln Ser Thr Pro Tyr Val Asn Ser Val Ala Val Ser Ala Ser
 2000 2005 2010
 Pro Thr His Glu Asn Ser Val Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ser Ser
 2015 2020 2025
 Pro Tyr Ser Ser Ala Ser Leu Glu Ser Leu Asp Ser Thr Ile Ser
 2030 2035 2040
 Arg Arg Asn Ala Ile Thr Ser Trp Leu Trp Asp Leu Thr Thr Ser
 2045 2050 2055

Leu Pro Thr Thr Thr Trp Pro Ser Thr Ser Leu Ser Glu Ala Leu
 2060 2065 2070
 Ser Ser Gly His Ser Gly Val Ser Asn Pro Ser Ser Thr Thr Thr
 2075 2080 2085
 Glu Phe Pro Leu Phe Ser Ala Ala Ser Thr Ser Ala Ala Lys Gln
 2090 2095 2100
 Arg Asn Pro Glu Thr Glu Thr His Gly Pro Gln Asn Thr Ala Ala
 2105 2110 2115
 Ser Thr Leu Asn Thr Asp Ala Ser Ser Val Thr Gly Leu Ser Glu
 2120 2125 2130
 Thr Pro Val Gly Ala Ser Ile Ser Ser Glu Val Pro Leu Pro Met
 2135 2140 2145
 Ala Ile Thr Ser Arg Ser Asp Val Ser Gly Leu Thr Ser Glu Ser
 2150 2155 2160
 Thr Ala Asn Pro Ser Leu Gly Thr Ala Ser Ser Ala Gly Thr Lys
 2165 2170 2175
 Leu Thr Arg Thr Ile Ser Leu Pro Thr Ser Glu Ser Leu Val Ser
 2180 2185 2190
 Phe Arg Met Asn Lys Asp Pro Trp Thr Val Ser Ile Pro Leu Gly
 2195 2200 2205
 Ser His Pro Thr Thr Asn Thr Glu Thr Ser Ile Pro Val Asn Ser
 2210 2215 2220
 Ala Gly Pro Pro Gly Leu Ser Thr Val Ala Ser Asp Val Ile Asp
 2225 2230 2235
 Thr Pro Ser Asp Gly Ala Glu Ser Ile Pro Thr Val Ser Phe Ser
 2240 2245 2250
 Pro Ser Pro Asp Thr Glu Val Thr Thr Ile Ser His Phe Pro Glu
 2255 2260 2265
 Lys Thr Thr His Ser Phe Arg Thr Ile Ser Ser Leu Thr His Glu
 2270 2275 2280
 Leu Thr Ser Arg Val Thr Pro Ile Pro Gly Asp Trp Met Ser Ser
 2285 2290 2295

Ala Met Ser Thr Lys Pro Thr Gly Ala Ser Pro Ser Ile Thr Leu
2300 2305 2310

Gly Glu Arg Arg Thr Ile Thr Ser Ala Ala Pro Thr Thr Ser Pro
2315 2320 2325

Ile Val Leu Thr Ala Ser Phe Thr Glu Thr Ser Thr Val Ser Leu
2330 2335 2340

Asp Asn Glu Thr Thr Val Lys Thr Ser Asp Ile Leu Asp Ala Arg
2345 2350 2355

Lys Thr Asn Glu Leu Pro Ser Asp Ser Ser Ser Ser Ser Asp Leu
2360 2365 2370

Ile Asn Thr Ser Ile Ala Ser Ser Thr Met Asp Val Thr Lys Thr
2375 2380 2385

Ala Ser Ile Ser Pro Thr Ser Ile Ser Gly Met Thr Ala Ser Ser
2390 2395 2400

Ser Pro Ser Leu Phe Ser Ser Asp Arg Pro Gln Val Pro Thr Ser
2405 2410 2415

Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Asn
2420 2425 2430

Thr Tyr Ser Leu Asp Gly Gly Ser Asn Val Gly Gly Thr Pro Ser
2435 2440 2445

Thr Leu Pro Pro Phe Thr Ile Thr His Pro Val Glu Thr Ser Ser
2450 2455 2460

Ala Leu Leu Ala Trp Ser Arg Pro Val Arg Thr Phe Ser Thr Met
2465 2470 2475

Val Ser Thr Asp Thr Ala Ser Gly Glu Asn Pro Thr Ser Ser Asn
2480 2485 2490

Ser Val Val Thr Ser Val Pro Ala Pro Gly Thr Trp Thr Ser Val
2495 2500 2505

Gly Ser Thr Thr Asp Leu Pro Ala Met Gly Phe Leu Lys Thr Ser
2510 2515 2520

Pro Ala Gly Glu Ala His Ser Leu Leu Ala Ser Thr Ile Glu Pro
 2525 2530 2535

Ala Thr Ala Phe Thr Pro His Leu Ser Ala Ala Val Val Thr Gly
 2540 2545 2550

Ser Ser Ala Thr Ser Glu Ala Ser Leu Leu Thr Thr Ser Glu Ser
 2555 2560 2565

Lys Ala Ile His Ser Ser Pro Gln Thr Pro Thr Thr Pro Thr Ser
 2570 2575 2580

Gly Ala Asn Trp Glu Thr Ser Ala Thr Pro Glu Ser Leu Leu Val
 2585 2590 2595

Val Thr Glu Thr Ser Asp Thr Thr Leu Thr Ser Lys Ile Leu Val
 2600 2605 2610

Thr Asp Thr Ile Leu Phe Ser Thr Val Ser Thr Pro Pro Ser Lys
 2615 2620 2625

Phe Pro Ser Thr Gly Thr Leu Ser Gly Ala Ser Phe Pro Thr Leu
 2630 2635 2640

Leu Pro Asp Thr Pro Ala Ile Pro Leu Thr Ala Thr Glu Pro Thr
 2645 2650 2655

Ser Ser Leu Ala Thr Ser Phe Asp Ser Thr Pro Leu Val Thr Ile
 2660 2665 2670

Ala Ser Asp Ser Leu Gly Thr Val Pro Glu Thr Thr Leu Thr Met
 2675 2680 2685

Ser Glu Thr Ser Asn Gly Asp Ala Leu Val Leu Lys Thr Val Ser
 2690 2695 2700

Asn Pro Asp Arg Ser Ile Pro Gly Ile Thr Ile Gln Gly Val Thr
 2705 2710 2715

Glu Ser Pro Leu His Pro Ser Ser Thr Ser Pro Ser Lys Ile Val
 2720 2725 2730

Ala Pro Arg Asn Thr Thr Tyr Glu Gly Ser Ile Thr Val Ala Leu
 2735 2740 2745

Ser Thr Leu Pro Ala Gly Thr Thr Gly Ser Leu Val Phe Ser Gln
 2750 2755 2760

Ser Ser Glu Asn Ser Glu Thr Thr Ala Leu Val Asp Ser Ser Ala
 2765 2770 2775
 Gly Leu Glu Arg Ala Ser Val Met Pro Leu Thr Thr Gly Ser Gln
 2780 2785 2790
 Gly Met Ala Ser Ser Gly Gly Ile Arg Ser Gly Ser Thr His Ser
 2795 2800 2805
 Thr Gly Thr Lys Thr Phe Ser Ser Leu Pro Leu Thr Met Asn Pro
 2810 2815 2820
 Gly Glu Val Thr Ala Met Ser Glu Ile Thr Thr Asn Arg Leu Thr
 2825 2830 2835
 Ala Thr Gln Ser Thr Ala Pro Lys Gly Ile Pro Val Lys Pro Thr
 2840 2845 2850
 Ser Ala Glu Ser Gly Leu Leu Thr Pro Val Ser Ala Ser Ser Ser
 2855 2860 2865
 Pro Ser Lys Ala Phe Ala Ser Leu Thr Thr Ala Pro Pro Thr Trp
 2870 2875 2880
 Gly Ile Pro Gln Ser Thr Leu Thr Phe Glu Phe Ser Glu Val Pro
 2885 2890 2895
 Ser Leu Asp Thr Lys Ser Ala Ser Leu Pro Thr Pro Gly Gln Ser
 2900 2905 2910
 Leu Asn Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ala Ser Thr Ala Ser Ser Ser
 2915 2920 2925
 Leu Ser Lys Ser Pro Glu Lys Asn Pro Arg Ala Arg Met Met Thr
 2930 2935 2940
 Ser Thr Lys Ala Ile Ser Ala Ser Ser Phe Gln Ser Thr Gly Phe
 2945 2950 2955
 Thr Glu Thr Pro Glu Gly Ser Ala Ser Pro Ser Met Ala Gly His
 2960 2965 2970
 Glu Pro Arg Val Pro Thr Ser Gly Thr Gly Asp Pro Arg Tyr Ala
 2975 2980 2985

Ser Glu Ser Met Ser Tyr Pro Asp Pro Ser Lys Ala Ser Ser Ala
 2990 2995 3000
 Met Thr Ser Thr Ser Leu Ala Ser Lys Leu Thr Thr Leu Phe Ser
 3005 3010 3015
 Thr Gly Gln Ala Ala Arg Ser Gly Ser Ser Ser Ser Pro Ile Ser
 3020 3025 3030
 Leu Ser Thr Glu Lys Glu Thr Ser Phe Leu Ser Pro Thr Ala Ser
 3035 3040 3045
 Thr Ser Arg Lys Thr Ser Leu Phe Leu Gly Pro Ser Met Ala Arg
 3050 3055 3060
 Gln Pro Asn Ile Leu Val His Leu Gln Thr Ser Ala Leu Thr Leu
 3065 3070 3075
 Ser Pro Thr Ser Thr Leu Asn Met Ser Gln Glu Glu Pro Pro Glu
 3080 3085 3090
 Leu Thr Ser Ser Gln Thr Ile Ala Glu Glu Glu Gly Thr Thr Ala
 3095 3100 3105
 Glu Thr Gln Thr Leu Thr Phe Thr Pro Ser Glu Thr Pro Thr Ser
 3110 3115 3120
 Leu Leu Pro Val Ser Ser Pro Thr Glu Pro Thr Ala Arg Arg Lys
 3125 3130 3135
 Ser Ser Pro Glu Thr Trp Ala Ser Ser Ile Ser Val Pro Ala Lys
 3140 3145 3150
 Thr Ser Leu Val Glu Thr Thr Asp Gly Thr Leu Val Thr Thr Ile
 3155 3160 3165
 Lys Met Ser Ser Gln Ala Ala Gln Gly Asn Ser Thr Trp Pro Ala
 3170 3175 3180
 Pro Ala Glu Glu Thr Gly Ser Ser Pro Ala Gly Thr Ser Pro Gly
 3185 3190 3195
 Ser Pro Glu Met Ser Thr Thr Leu Lys Ile Met Ser Ser Lys Glu
 3200 3205 3210
 Pro Ser Ile Ser Pro Glu Ile Arg Ser Thr Val Arg Asn Ser Pro
 3215 3220 3225

Trp Lys Thr Pro Glu Thr Thr Val Pro Met Glu Thr Thr Val Glu
 3230 3235 3240
 Pro Val Thr Leu Gln Ser Thr Ala Leu Gly Ser Gly Ser Thr Ser
 3245 3250 3255
 Ile Ser His Leu Pro Thr Gly Thr Thr Ser Pro Thr Lys Ser Pro
 3260 3265 3270
 Thr Glu Asn Met Leu Ala Thr Glu Arg Val Ser Leu Ser Pro Ser
 3275 3280 3285
 Pro Pro Glu Ala Trp Thr Asn Leu Tyr Ser Gly Thr Pro Gly Gly
 3290 3295 3300
 Thr Arg Gln Ser Leu Ala Thr Met Ser Ser Val Ser Leu Glu Ser
 3305 3310 3315
 Pro Thr Ala Arg Ser Ile Thr Gly Thr Gly Gln Gln Ser Ser Pro
 3320 3325 3330
 Glu Leu Val Ser Lys Thr Thr Gly Met Glu Phe Ser Met Trp His
 3335 3340 3345
 Gly Ser Thr Gly Gly Thr Thr Gly Asp Thr His Val Ser Leu Ser
 3350 3355 3360
 Thr Ser Ser Asn Ile Leu Glu Asp Pro Val Thr Ser Pro Asn Ser
 3365 3370 3375
 Val Ser Ser Leu Thr Asp Lys Ser Lys His Lys Thr Glu Thr Trp
 3380 3385 3390
 Val Ser Thr Thr Ala Ile Pro Ser Thr Val Leu Asn Asn Lys Ile
 3395 3400 3405
 Met Ala Ala Glu Gln Gln Thr Ser Arg Ser Val Asp Glu Ala Tyr
 3410 3415 3420
 Ser Ser Thr Ser Ser Trp Ser Asp Gln Thr Ser Gly Ser Asp Ile
 3425 3430 3435
 Thr Leu Gly Ala Ser Pro Asp Val Thr Asn Thr Leu Tyr Ile Thr
 3440 3445 3450

Ser Thr Ala Gln Thr Thr Ser Leu Val Ser Leu Pro Ser Gly Asp
 3455 3460 3465
 Gln Gly Ile Thr Ser Leu Thr Asn Pro Ser Gly Gly Lys Thr Ser
 3470 3475 3480
 Ser Ala Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Ile Gly Leu Glu Thr Leu
 3485 3490 3495
 Arg Ala Asn Val Ser Ala Val Lys Ser Asp Ile Ala Pro Thr Ala
 3500 3505 3510
 Gly His Leu Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ala Glu Val Ser Ile Leu
 3515 3520 3525
 Asp Val Thr Thr Ala Pro Thr Pro Gly Ile Ser Thr Thr Ile Thr
 3530 3535 3540
 Thr Met Gly Thr Asn Ser Ile Ser Thr Thr Thr Pro Asn Pro Glu
 3545 3550 3555
 Val Gly Met Ser Thr Met Asp Ser Thr Pro Ala Thr Glu Arg Arg
 3560 3565 3570
 Thr Thr Ser Thr Glu His Pro Ser Thr Trp Ser Ser Thr Ala Ala
 3575 3580 3585
 Ser Asp Ser Trp Thr Val Thr Asp Met Thr Ser Asn Leu Lys Val
 3590 3595 3600
 Ala Arg Ser Pro Gly Thr Ile Ser Thr Met His Thr Thr Ser Phe
 3605 3610 3615
 Leu Ala Ser Ser Thr Glu Leu Asp Ser Met Ser Thr Pro His Gly
 3620 3625 3630
 Arg Ile Thr Val Ile Gly Thr Ser Leu Val Thr Pro Ser Ser Asp
 3635 3640 3645
 Ala Ser Ala Val Lys Thr Glu Thr Ser Thr Ser Glu Arg Thr Leu
 3650 3655 3660
 Ser Pro Ser Asp Thr Thr Ala Ser Thr Pro Ile Ser Thr Phe Ser
 3665 3670 3675
 Arg Val Gln Arg Met Ser Ile Ser Val Pro Asp Ile Leu Ser Thr
 3680 3685 3690

Ser Trp Thr Pro Ser Ser Thr Glu Ala Glu Asp Val Pro Val Ser
 3695 3700 3705

Met Val Ser Thr Asp His Ala Ser Thr Lys Thr Asp Pro Asn Thr
 3710 3715 3720

Pro Leu Ser Thr Phe Leu Phe Asp Ser Leu Ser Thr Leu Asp Trp
 3725 3730 3735

Asp Thr Gly Arg Ser Leu Ser Ser Ala Thr Ala Thr Thr Ser Ala
 3740 3745 3750

Pro Gln Gly Ala Thr Thr Pro Gln Glu Leu Thr Leu Glu Thr Met
 3755 3760 3765

Ile Ser Pro Ala Thr Ser Gln Leu Pro Phe Ser Ile Gly His Ile
 3770 3775 3780

Thr Ser Ala Val Thr Pro Ala Ala Met Ala Arg Ser Ser Gly Val
 3785 3790 3795

Thr Phe Ser Arg Pro Asp Pro Thr Ser Lys Lys Ala Glu Gln Thr
 3800 3805 3810

Ser Thr Gln Leu Pro Thr Thr Thr Ser Ala His Pro Gly Gln Val
 3815 3820 3825

Pro Arg Ser Ala Ala Thr Thr Leu Asp Val Ile Pro His Thr Ala
 3830 3835 3840

Lys Thr Pro Asp Ala Thr Phe Gln Arg Gln Gly Gln Thr Ala Leu
 3845 3850 3855

Thr Thr Glu Ala Arg Ala Thr Ser Asp Ser Trp Asn Glu Lys Glu
 3860 3865 3870

Lys Ser Thr Pro Ser Ala Pro Trp Ile Thr Glu Met Met Asn Ser
 3875 3880 3885

Val Ser Glu Asp Thr Ile Lys Glu Val Thr Ser Ser Ser Ser Val
 3890 3895 3900

Leu Arg Thr Leu Asn Thr Leu Asp Ile Asn Leu Glu Ser Gly Thr
 3905 3910 3915

Thr Ser Ser Pro Ser Trp Lys Ser Ser Pro Tyr Glu Arg Ile Ala
 3920 3925 3930
 Pro Ser Glu Ser Thr Thr Asp Lys Glu Ala Ile His Pro Ser Thr
 3935 3940 3945
 Asn Thr Val Glu Thr Thr Gly Trp Val Thr Ser Ser Glu His Ala
 3950 3955 3960
 Ser His Ser Thr Ile Pro Ala His Ser Ala Ser Ser Lys Leu Thr
 3965 3970 3975
 Ser Pro Val Val Thr Thr Ser Thr Arg Glu Gln Ala Ile Val Ser
 3980 3985 3990
 Met Ser Thr Thr Thr Trp Pro Glu Ser Thr Arg Ala Arg Thr Glu
 3995 4000 4005
 Pro Asn Ser Phe Leu Thr Ile Glu Leu Arg Asp Val Ser Pro Tyr
 4010 4015 4020
 Met Asp Thr Ser Ser Thr Thr Gln Thr Ser Ile Ile Ser Ser Pro
 4025 4030 4035
 Gly Ser Thr Ala Ile Thr Lys Gly Pro Arg Thr Glu Ile Thr Ser
 4040 4045 4050
 Ser Lys Arg Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Gln Ser Met Arg Ser
 4055 4060 4065
 Ser Asp Ser Pro Ser Glu Ala Ile Thr Arg Leu Ser Asn Phe Pro
 4070 4075 4080
 Ala Met Thr Glu Ser Gly Gly Met Ile Leu Ala Met Gln Thr Ser
 4085 4090 4095
 Pro Pro Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Pro Thr Leu Asp Thr Ser
 4100 4105 4110
 Ala Thr Ala Ser Trp Thr Gly Thr Pro Leu Ala Thr Thr Gln Arg
 4115 4120 4125
 Phe Thr Tyr Ser Glu Lys Thr Thr Leu Phe Ser Lys Gly Pro Glu
 4130 4135 4140
 Asp Thr Ser Gln Pro Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser
 4145 4150 4155

Ser Ser Ser Leu Val Pro Ile His Ala Thr Thr Ser Pro Ser Asn
 4160 4165 4170
 Ile Leu Leu Thr Ser Gln Gly His Ser Pro Ser Ser Thr Pro Pro
 4175 4180 4185
 Val Thr Ser Val Phe Leu Ser Glu Thr Ser Gly Leu Gly Lys Thr
 4190 4195 4200
 Thr Asp Met Ser Arg Ile Ser Leu Glu Pro Gly Thr Ser Leu Pro
 4205 4210 4215
 Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ala Gly Glu Ala Leu Ser Thr Tyr Glu
 4220 4225 4230
 Ala Ser Arg Asp Thr Lys Ala Ile His His Ser Ala Asp Thr Ala
 4235 4240 4245
 Val Thr Asn Met Glu Ala Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Pro Ile Pro
 4250 4255 4260
 Gly His Thr Lys Pro Ser Lys Ala Thr Ser Pro Leu Val Thr Ser
 4265 4270 4275
 His Ile Met Gly Asp Ile Thr Ser Ser Thr Ser Val Phe Gly Ser
 4280 4285 4290
 Ser Glu Thr Thr Glu Ile Glu Thr Val Ser Ser Val Asn Gln Gly
 4295 4300 4305
 Leu Gln Glu Arg Ser Thr Ser Gln Val Ala Ser Ser Ala Thr Glu
 4310 4315 4320
 Thr Ser Thr Val Ile Thr His Val Ser Ser Gly Asp Ala Thr Thr
 4325 4330 4335
 His Val Thr Lys Thr Gln Ala Thr Phe Ser Ser Gly Thr Ser Ile
 4340 4345 4350
 Ser Ser Pro His Gln Phe Ile Thr Ser Thr Asn Thr Phe Thr Asp
 4355 4360 4365
 Val Ser Thr Asn Pro Ser Thr Ser Leu Ile Met Thr Glu Ser Ser
 4370 4375 4380

Gly Val Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro Thr Gly Ala Ala Thr
 4385 4390 4395
 Gln Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Thr Met Pro Tyr Leu Thr
 4400 4405 4410
 Glu Thr Pro Leu Ala Val Thr Pro Asp Phe Met Gln Ser Glu Lys
 4415 4420 4425
 Thr Thr Leu Ile Ser Lys Gly Pro Lys Asp Val Ser Trp Thr Ser
 4430 4435 4440
 Pro Pro Ser Val Ala Glu Thr Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Thr Pro
 4445 4450 4455
 Phe Leu Val Thr Thr Ile Pro Pro Ala Thr Ser Thr Leu Gln Gly
 4460 4465 4470
 Gln His Thr Ser Ser Pro Val Ser Ala Thr Ser Val Leu Thr Ser
 4475 4480 4485
 Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Asn Thr Ser Met Glu Pro
 4490 4495 4500
 Val Thr Asn Ser Pro Gln Asn Leu Asn Asn Pro Ser Asn Glu Ile
 4505 4510 4515
 Leu Ala Thr Leu Ala Ala Thr Thr Asp Ile Glu Thr Ile His Pro
 4520 4525 4530
 Ser Ile Asn Lys Ala Val Thr Asn Met Gly Thr Ala Ser Ser Ala
 4535 4540 4545
 His Val Leu His Ser Thr Leu Pro Val Ser Ser Glu Pro Ser Thr
 4550 4555 4560
 Ala Thr Ser Pro Met Val Pro Ala Ser Ser Met Gly Asp Ala Leu
 4565 4570 4575
 Ala Ser Ile Ser Ile Pro Gly Ser Glu Thr Thr Asp Ile Glu Gly
 4580 4585 4590
 Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ala Gly Arg Lys Glu Asn Ser Thr
 4595 4600 4605
 Leu Gln Glu Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser Asn Ile Ile Leu Ser
 4610 4615 4620

Asn Val Ser Val Gly Ala Ile Thr Glu Ala Thr Lys Met Glu Val
 4625 4630 4635

Pro Ser Phe Asp Ala Thr Phe Ile Pro Thr Pro Ala Gln Ser Thr
 4640 4645 4650

Lys Phe Pro Asp Ile Phe Ser Val Ala Ser Ser Arg Leu Ser Asn
 4655 4660 4665

Ser Pro Pro Met Thr Ile Ser Thr His Met Thr Thr Thr Gln Thr
 4670 4675 4680

Gly Ser Ser Gly Ala Thr Ser Lys Ile Pro Leu Ala Leu Asp Thr
 4685 4690 4695

Ser Thr Leu Glu Thr Ser Ala Gly Thr Pro Ser Val Val Thr Glu
 4700 4705 4710

Gly Phe Ala His Ser Lys Ile Thr Thr Ala Met Asn Asn Asp Val
 4715 4720 4725

Lys Asp Val Ser Gln Thr Asn Pro Pro Phe Gln Asp Glu Ala Ser
 4730 4735 4740

Ser Pro Ser Ser Gln Ala Pro Val Leu Val Thr Thr Leu Pro Ser
 4745 4750 4755

Ser Val Ala Phe Thr Pro Gln Trp His Ser Thr Ser Ser Pro Val
 4760 4765 4770

Ser Met Ser Ser Val Leu Thr Ser Ser Leu Val Lys Thr Ala Gly
 4775 4780 4785

Lys Val Asp Thr Ser Leu Glu Thr Val Thr Ser Ser Pro Gln Ser
 4790 4795 4800

Met Ser Asn Thr Leu Asp Asp Ile Ser Val Thr Ser Ala Ala Thr
 4805 4810 4815

Thr Asp Ile Glu Thr Thr His Pro Ser Ile Asn Thr Val Val Thr
 4820 4825 4830

Asn Val Gly Thr Thr Gly Ser Ala Phe Glu Ser His Ser Thr Val
 4835 4840 4845

Ser Ala Tyr Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Asn Val Thr
 4850 4855 4860
 Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Thr Ile Ser Arg Ser Ile Pro Lys
 4865 4870 4875
 Ser Ser Lys Thr Thr Arg Thr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Ser Leu
 4880 4885 4890
 Thr Pro Lys Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Glu Ile Thr Ser
 4895 4900 4905
 Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val Pro Tyr Lys Glu Leu Thr Gly Ala
 4910 4915 4920
 Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Asp Val Thr Ser Ser Ser Ser Thr
 4925 4930 4935
 Ser Phe Pro Gly Pro Asp Gln Ser Thr Val Ser Leu Asp Ile Ser
 4940 4945 4950
 Thr Glu Thr Asn Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu
 4955 4960 4965
 Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro His Gly Ala
 4970 4975 4980
 Thr Ser Gln Asp Thr Phe Thr Met Asp Pro Ser Asn Thr Thr Pro
 4985 4990 4995
 Gln Ala Gly Ile His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln Leu
 5000 5005 5010
 Asp Val Thr Thr Leu Met Ser Arg Ile Pro Gln Asp Val Ser Trp
 5015 5020 5025
 Thr Ser Pro Pro Ser Val Asp Lys Thr Ser Ser Pro Ser Ser Phe
 5030 5035 5040
 Leu Ser Ser Pro Ala Met Thr Thr Pro Ser Leu Ile Ser Ser Thr
 5045 5050 5055
 Leu Pro Glu Asp Lys Leu Ser Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr
 5060 5065 5070
 Ser Gly Leu Val Lys Ile Thr Asp Ile Leu Arg Thr Arg Leu Glu
 5075 5080 5085

Pro Val Thr Ser Ser Leu Pro Asn Phe Ser Ser Thr Ser Asp Lys
 5090 5095 5100
 Ile Leu Ala Thr Ser Lys Asp Ser Lys Asp Thr Lys Glu Ile Phe
 5105 5110
 Pro Ser Ile Asn Thr Glu Glu Thr Asn Val Lys Ala Asn Asn Ser
 5120 5125 5130
 Gly His Glu Ser His Ser Pro Ala Leu Ala Asp Ser Glu Thr Pro
 5135 5140 5145
 Lys Ala Thr Thr Gln Met Val Ile Thr Thr Thr Val Gly Asp Pro
 5150 5155 5160
 Ala Pro Ser Thr Ser Met Pro Val His Gly Ser Ser Glu Thr Thr
 5165 5170 5175
 Asn Ile Lys Arg Glu Pro Thr Tyr Phe Leu Thr Pro Arg Leu Arg
 5180 5185 5190
 Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ser Ser Phe Pro Thr Asp Thr Ser
 5195 5200 5205
 Phe Leu Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Thr Ile Thr Glu Val Ser
 5210 5215 5220
 Ser Thr Gly Val Asn Ser Ser Ser Lys Ile Ser Thr Pro Asp His
 5225 5230 5235
 Asp Lys Ser Thr Val Pro Pro Asp Thr Phe Thr Gly Glu Ile Pro
 5240 5245 5250
 Arg Val Phe Thr Ser Ser Ile Lys Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr
 5255 5260 5265
 Ile Thr Thr Gln Ala Ser Pro Pro Glu Ser Ala Ser His Ser Thr
 5270 5275 5280
 Leu Pro Leu Asp Thr Ser Thr Thr Leu Ser Gln Gly Gly Thr His
 5285 5290 5295
 Ser Thr Val Thr Gln Gly Phe Pro Tyr Ser Glu Val Thr Thr Leu
 5300 5305 5310

Met Gly Met Gly Pro Gly Asn Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro
 5315 5320 5325
 Val Glu Glu Thr Ser Ser Val Ser Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala
 5330 5335 5340
 Met Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Gln Ser Ile
 5345 5350 5355
 Pro Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ala Leu Pro Thr Ser Val Leu
 5360 5365 5370
 Val Thr Thr Thr Asp Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Ser Val
 5375 5380 5385
 Thr Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Ile Thr His Glu Arg Pro
 5390 5395 5400
 Ala Thr Tyr Lys Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Ala Met His His
 5405 5410 5415
 Ser Thr Asn Thr Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Ser Gly Ser Gly
 5420 5425 5430
 His Lys Ser Gln Ser Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Ser Lys
 5435 5440 5445
 Ala Thr Pro Leu Met Ser Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asp Thr Ser
 5450 5455 5460
 Val Ser Thr Ser Thr Pro Asn Ile Ser Gln Thr Asn Gln Ile Gln
 5465 5470 5475
 Thr Glu Pro Thr Ala Ser Leu Ser Pro Arg Leu Arg Glu Ser Ser
 5480 5485 5490
 Thr Ser Glu Lys Thr Ser Ser Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Phe
 5495 5500 5505
 Ser Tyr Val Pro Thr Gly Ala Ile Thr Gln Ala Ser Arg Thr Glu
 5510 5515 5520
 Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Asp Leu Asp Arg Pro Thr
 5525 5530 5535
 Ile Ala Pro Asp Ile Ser Thr Gly Met Ile Thr Arg Leu Phe Thr
 5540 5545 5550

Ser Pro Ile Met Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr Val Thr Thr Gln
 5555 5560 5565
 Thr Thr Thr Pro Gly Ala Thr Ser Gln Gly Ile Leu Pro Trp Asp
 5570 5575 5580
 Thr Ser Thr Thr Leu Phe Gln Gly Gly Thr His Ser Thr Val Ser
 5585 5590 5595
 Gln Gly Phe Pro His Ser Glu Ile Thr Thr Leu Arg Ser Arg Thr
 5600 5605 5610
 Pro Gly Asp Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro Val Glu Glu Thr
 5615 5620 5625
 Ser Ser Gly Phe Ser Leu Met Ser Pro Ser Met Thr Ser Pro Ser
 5630 5635 5640
 Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Glu Ser Ile Pro Ser Ser Pro Leu
 5645 5650 5655
 Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Ser Val Leu Val Thr Thr Thr Asn
 5660 5665 5670
 Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Pro Val Thr Ser Ser Pro Pro
 5675 5680 5685
 Asn Leu Ser Ser Pro Thr Gln Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys Asp
 5690 5695 5700
 Thr Ala His Thr Glu Ala Met His Ala Ser Met His Thr Asn Thr
 5705 5710 5715
 Ala Val Ala Asn Val Gly Thr Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln
 5720 5725 5730
 Ser Ser Val Pro Ala Asp Ser His Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro
 5735 5740 5745
 Met Gly Ile Thr Phe Ala Met Gly Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser
 5750 5755 5760
 Thr Pro Ala Phe Phe Glu Thr Arg Ile Gln Thr Glu Ser Thr Ser
 5765 5770 5775

Ser Leu Ile Pro Gly Leu Arg Asp Thr Arg Thr Ser Glu Glu Ile
 5780 5785 5790

Asn Thr Val Thr Glu Thr Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Thr
 5795 5800 5805

Thr Thr Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Ile Thr Ser Ser
 5810 5815 5820

Arg Thr Thr Ile Ser Gly Pro Asp His Ser Lys Met Ser Pro Tyr
 5825 5830 5835

Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Ser Thr Phe Pro Phe Val
 5840 5845 5850

Thr Gly Ser Thr Glu Met Ala Ile Thr Asn Gln Thr Gly Pro Ile
 5855 5860 5865

Gly Thr Ile Ser Gln Ala Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Ser Thr
 5870 5875 5880

Ala Ser Trp Glu Gly Thr His Ser Pro Val Thr Gln Arg Phe Pro
 5885 5890 5895

His Ser Glu Glu Thr Thr Thr Met Ser Arg Ser Thr Lys Gly Val
 5900 5905 5910

Ser Trp Gln Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Pro Ser
 5915 5920 5925

Ser Pro Val Pro Leu Pro Ala Ile Thr Ser His Ser Ser Leu Tyr
 5930 5935 5940

Ser Ala Val Ser Gly Ser Ser Pro Thr Ser Ala Leu Pro Val Thr
 5945 5950 5955

Ser Leu Leu Thr Ser Gly Arg Arg Lys Thr Ile Asp Met Leu Asp
 5960 5965 5970

Thr His Ser Glu Leu Val Thr Ser Ser Leu Pro Ser Ala Ser Ser
 5975 5980 5985

Phe Ser Gly Glu Ile Leu Thr Ser Glu Ala Ser Thr Asn Thr Glu
 5990 5995 6000

Thr Ile His Phe Ser Glu Asn Thr Ala Glu Thr Asn Met Gly Thr
 6005 6010 6015

Thr Asn Ser Met His Lys Leu His Ser Ser Val Ser Ile His Ser
 6020 6025 6030
 Gln Pro Ser Gly His Thr Pro Pro Lys Val Thr Gly Ser Met Met
 6035 6040 6045
 Glu Asp Ala Ile Val Ser Thr Ser Thr Pro Gly Ser Pro Glu Thr
 6050 6055 6060
 Lys Asn Val Asp Arg Asp Ser Thr Ser Pro Leu Thr Pro Glu Leu
 6065 6070 6075
 Lys Glu Asp Ser Thr Ala Leu Val Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser
 6080 6085 6090
 Asn Thr Val Phe Ser Ser Val Ser Leu Asp Ala Ala Thr Glu Val
 6095 6100 6105
 Ser Arg Ala Glu Val Thr Tyr Tyr Asp Pro Thr Phe Met Pro Ala
 6110 6115 6120
 Ser Ala Gln Ser Thr Lys Ser Pro Asp Ile Ser Pro Glu Ala Ser
 6125 6130 6135
 Ser Ser His Ser Asn Ser Pro Pro Leu Thr Ile Ser Thr His Lys
 6140 6145 6150
 Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly Val Thr Ser Leu Gly
 6155 6160 6165
 Gln Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Ile Ala Thr Ser Ala Gly Thr
 6170 6175 6180
 Pro Ser Ala Arg Thr Gln Asp Phe Val Asp Ser Glu Thr Thr Ser
 6185 6190 6195
 Val Met Asn Asn Asp Leu Asn Asp Val Leu Lys Thr Ser Pro Phe
 6200 6205 6210
 Ser Ala Glu Glu Ala Asn Ser Leu Ser Ser Gln Ala Pro Leu Leu
 6215 6220 6225
 Val Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Thr Ser Thr Leu Gln Glu His
 6230 6235 6240

Ser Thr Ser Ser Leu Val Ser Val Thr Ser Val Pro Thr Pro Thr
 6245 6250 6255
 Leu Ala Lys Ile Thr Asp Met Asp Thr Asn Leu Glu Pro Val Thr
 6260 6265 6270
 Arg Ser Pro Gln Asn Leu Arg Asn Thr Leu Ala Thr Ser Glu Ala
 6275 6280 6285
 Thr Thr Asp Thr His Thr Met His Pro Ser Ile Asn Thr Ala Val
 6290 6295 6300
 Ala Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Pro Asn Glu Phe Tyr Phe Thr
 6305 6310 6315
 Val Ser Pro Asp Ser Asp Pro Tyr Lys Ala Thr Ser Ala Val Val
 6320 6325 6330
 Ile Thr Ser Thr Ser Gly Asp Ser Ile Val Ser Thr Ser Met Pro
 6335 6340 6345
 Arg Ser Ser Ala Met Lys Lys Ile Glu Ser Glu Thr Thr Phe Ser
 6350 6355 6360
 Leu Ile Phe Arg Leu Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Lys Ile Gly
 6365 6370 6375
 Ser Ser Ser Asp Thr Ser Thr Val Phe Asp Lys Ala Phe Thr Ala
 6380 6385 6390
 Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Leu Thr Ser Ser Ser Arg
 6395 6400 6405
 Thr Ser Ile Gln Gly Thr Glu Lys Pro Thr Met Ser Pro Asp Thr
 6410 6415 6420
 Ser Thr Arg Ser Val Thr Met Leu Ser Thr Phe Ala Gly Leu Thr
 6425 6430 6435
 Lys Ser Glu Glu Arg Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro His Arg
 6440 6445 6450
 Ala Thr Ser Gln Gly Thr Leu Thr Trp Asp Thr Ser Ile Thr Thr
 6455 6460 6465
 Ser Gln Ala Gly Thr His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln
 6470 6475 6480

Leu Asp Leu Ser Thr Leu Thr Ser Arg Val Pro Glu Tyr Ile Ser
 6485 6490 6495
 Gly Thr Ser Pro Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
 6500 6505 6510
 Leu Leu Ser Leu Pro Ala Ile Thr Ser Pro Ser Pro Val Pro Thr
 6515 6520 6525
 Thr Leu Pro Glu Ser Arg Pro Ser Ser Pro Val His Leu Thr Ser
 6530 6535 6540
 Leu Pro Thr Ser Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Ala Ser
 6545 6550 6555
 Val Ala Ser Leu Pro Pro Asn Leu Gly Ser Thr Ser His Lys Ile
 6560 6565 6570
 Pro Thr Thr Ser Glu Asp Ile Lys Asp Thr Glu Lys Met Tyr Pro
 6575 6580 6585
 Ser Thr Asn Ile Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Thr Ser Glu
 6590 6595 6600
 Lys Glu Ser Tyr Ser Ser Val Pro Ala Tyr Ser Glu Pro Pro Lys
 6605 6610 6615
 Val Thr Ser Pro Met Val Thr Ser Phe Asn Ile Arg Asp Thr Ile
 6620 6625 6630
 Val Ser Thr Ser Met Pro Gly Ser Ser Glu Ile Thr Arg Ile Glu
 6635 6640 6645
 Met Glu Ser Thr Phe Ser Leu Ala His Gly Leu Lys Gly Thr Ser
 6650 6655 6660
 Thr Ser Gln Asp Pro Ile Val Ser Thr Glu Lys Ser Ala Val Leu
 6665 6670 6675
 His Lys Leu Thr Thr Gly Ala Thr Glu Thr Ser Arg Thr Glu Val
 6680 6685 6690
 Ala Ser Ser Arg Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Asp His Ser Thr
 6695 6700 6705

Glu Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Pro Ser Leu Pro Ile
 6710 6715 6720
 Ser Leu Gly Ile Thr Glu Ser Ser Asn Met Thr Ile Ile Thr Arg
 6725 6730 6735
 Thr Gly Pro Pro Leu Gly Ser Thr Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu
 6740 6745 6750
 Asp Thr Pro Thr Thr Ser Ser Arg Ala Gly Thr His Ser Met Ala
 6755 6760 6765
 Thr Gln Glu Phe Pro His Ser Glu Met Thr Thr Val Met Asn Lys
 6770 6775 6780
 Asp Pro Glu Ile Leu Ser Trp Thr Ile Pro Pro Ser Ile Glu Lys
 6785 6790 6795
 Thr Ser Phe Ser Ser Ser Leu Met Pro Ser Pro Ala Met Thr Ser
 6800 6805 6810
 Pro Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Lys Thr Ile His Thr Thr Pro
 6815 6820 6825
 Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr Pro Ser Leu Val Met Thr Thr
 6830 6835 6840
 Asp Thr Leu Gly Thr Ser Pro Glu Pro Thr Thr Ser Ser Pro Pro
 6845 6850 6855
 Asn Leu Ser Ser Thr Ser His Glu Ile Leu Thr Thr Asp Glu Asp
 6860 6865 6870
 Thr Thr Ala Ile Glu Ala Met His Pro Ser Thr Ser Thr Ala Ala
 6875 6880 6885
 Thr Asn Val Glu Thr Thr Ser Ser Gly His Gly Ser Gln Ser Ser
 6890 6895 6900
 Val Leu Ala Asp Ser Glu Lys Thr Lys Ala Thr Ala Pro Met Asp
 6905 6910 6915
 Thr Thr Ser Thr Met Gly His Thr Thr Val Ser Thr Ser Met Ser
 6920 6925 6930
 Val Ser Ser Glu Thr Thr Lys Ile Lys Arg Glu Ser Thr Tyr Ser
 6935 6940 6945

Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Asn Ala Ser
 6950 6955 6960
 Phe Ser Thr Asp Thr Ser Ile Val Leu Ser Glu Val Pro Thr Gly
 6965 6970 6975
 Thr Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Gly Arg
 6980 6985 6990
 Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ser Gln Ser Thr Val Leu Pro Glu Ile
 6995 7000 7005
 Ser Thr Arg Thr Met Thr Arg Leu Phe Ala Ser Pro Thr Met Thr
 7010 7015 7020
 Glu Ser Ala Glu Met Thr Ile Pro Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly
 7025 7030 7035
 Ser Thr Ser Gln Asp Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Lys
 7040 7045 7050
 Ser Gln Ala Lys Thr His Ser Thr Leu Thr Gln Arg Phe Pro His
 7055 7060 7065
 Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Gly Pro Gly Asp Met Ser
 7070 7075 7080
 Trp Gln Ser Ser Pro Ser Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Pro Ser
 7085 7090 7095
 Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Pro Pro Ile Ser Ser
 7100 7105 7110
 Thr Leu Pro Val Thr Ile Ser Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ser
 7115 7120 7125
 Leu Leu Thr Ser Ser Pro Val Thr Thr Thr Asp Met Leu His Thr
 7130 7135 7140
 Ser Pro Glu Leu Val Thr Ser Ser Pro Pro Lys Leu Ser His Thr
 7145 7150 7155
 Ser Asp Glu Arg Leu Thr Thr Gly Lys Asp Thr Thr Asn Thr Glu
 7160 7165 7170

Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ile
7175 7180 7185

Pro Ser Ser Gly His Glu Ser Pro Ser Ser Ala Leu Ala Asp Ser
7190 7195 7200

Glu Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro Met Phe Ile Thr Ser Thr Gln
7205 7210 7215

Glu Asp Thr Thr Val Ala Ile Ser Thr Pro His Phe Leu Glu Thr
7220 7225 7230

Ser Arg Ile Gln Lys Glu Ser Ile Ser Ser Leu Ser Pro Lys Leu
7235 7240 7245

Arg Glu Thr Gly Ser Ser Val Glu Thr Ser Ser Ala Ile Glu Thr
7250 7255 7260

Ser Ala Val Leu Ser Glu Val Ser Ile Gly Ala Thr Thr Glu Ile
7265 7270 7275

Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Gly
7280 7285 7290

Ser Ala Glu Ser Thr Met Leu Pro Glu Ile Ser Thr Thr Arg Lys
7295 7300 7305

Ile Ile Lys Phe Pro Thr Ser Pro Ile Leu Ala Glu Ser Ser Glu
7310 7315 7320

Met Thr Ile Lys Thr Gln Thr Ser Pro Pro Gly Ser Thr Ser Glu
7325 7330 7335

Ser Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Pro Ser Leu Val Ile
7340 7345 7350

Thr His Ser Thr Met Thr Gln Arg Leu Pro His Ser Glu Ile Thr
7355 7360 7365

Thr Leu Val Ser Arg Gly Ala Gly Asp Val Pro Arg Pro Ser Ser
7370 7375 7380

Leu Pro Val Glu Glu Thr Ser Pro Pro Ser Ser Gln Leu Ser Leu
7385 7390 7395

Ser Ala Met Ile Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Ala
7400 7405 7410

Ser Ser His Ser Ser Ser Ala Ser Val Thr Ser Leu Leu Thr Pro
 7415 7420 7425
 Gly Gln Val Lys Thr Thr Glu Val Leu Asp Ala Ser Ala Glu Pro
 7430 7435 7440
 Glu Thr Ser Ser Pro Pro Ser Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile
 7445 7450 7455
 Leu Ala Thr Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro
 7460 7465 7470
 Phe Ser Asn Thr Ala Val Thr Lys Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly
 7475 7480 7485
 His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Pro Asp Ser Glu Thr Thr Lys
 7490 7495 7500
 Ala Thr Ser Ala Met Gly Thr Ile Ser Ile Met Gly Asp Thr Ser
 7505 7510 7515
 Val Ser Thr Leu Thr Pro Ala Leu Ser Asn Thr Arg Lys Ile Gln
 7520 7525 7530
 Ser Glu Pro Ala Ser Ser Leu Thr Thr Arg Leu Arg Glu Thr Ser
 7535 7540 7545
 Thr Ser Glu Glu Thr Ser Leu Ala Thr Glu Ala Asn Thr Val Leu
 7550 7555 7560
 Ser Lys Val Ser Thr Gly Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu
 7565 7570 7575
 Ala Ile Ser Phe Ser Arg Thr Ser Met Ser Gly Pro Glu Gln Ser
 7580 7585 7590
 Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Ile Gly Thr Ile Pro Arg Ile Ser
 7595 7600 7605
 Ala Ser Ser Val Leu Thr Glu Ser Ala Lys Met Thr Ile Thr Thr
 7610 7615 7620
 Gln Thr Gly Pro Ser Glu Ser Thr Leu Glu Ser Thr Leu Asn Leu
 7625 7630 7635

Asn Thr Ala Thr Thr Pro Ser Trp Val Glu Thr His Ser Ile Val
 7640 7645 7650
 Ile Gln Gly Phe Pro His Pro Glu Met Thr Thr Ser Met Gly Arg
 7655 7660 7665
 Gly Pro Gly Gly Val Ser Trp Pro Ser Pro Pro Phe Val Lys Glu
 7670 7675 7680
 Thr Ser Pro Pro Ser Ser Pro Leu Ser Leu Pro Ala Val Thr Ser
 7685 7690 7695
 Pro His Pro Val Ser Thr Thr Phe Leu Ala His Ile Pro Pro Ser
 7700 7705 7710
 Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Pro Ala Thr Thr
 7715 7720 7725
 Thr Asp Ile Leu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Gly Thr Ser Ser Ser
 7730 7735 7740
 Ser Ser Leu Ser Thr Thr Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys
 7745 7750 7755
 Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Gly
 7760 7765 7770
 Gly Thr Asn Val Ala Thr Thr Ser Ser Gly Tyr Lys Ser Gln Ser
 7775 7780 7785
 Ser Val Leu Ala Asp Ser Ser Pro Met Cys Thr Thr Ser Thr Met
 7790 7795 7800
 Gly Asp Thr Ser Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Leu Glu Thr
 7805 7810 7815
 Arg Arg Ile Gln Thr Glu Leu Ala Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu
 7820 7825 7830
 Arg Glu Ser Ser Gly Ser Glu Gly Thr Ser Ser Gly Thr Lys Met
 7835 7840 7845
 Ser Thr Val Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr Glu Ile
 7850 7855 7860
 Ser Lys Glu Asp Val Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr
 7865 7870 7875

Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Arg Thr Val Ser Trp Phe Ser Thr
 7880 7885 7890
 Ser Pro Val Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Met Asn Thr His
 7895 7900 7905
 Thr Ser Pro Leu Gly Ala Thr Thr Gln Gly Thr Ser Thr Leu Asp
 7910 7915 7920
 Thr Ser Ser Thr Thr Ser Leu Thr Met Thr His Ser Thr Ile Ser
 7925 7930 7935
 Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Ser Thr Leu Met Arg Arg Gly
 7940 7945 7950
 Pro Glu Asp Val Ser Trp Met Ser Pro Pro Leu Leu Glu Lys Thr
 7955 7960 7965
 Arg Pro Ser Phe Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala Thr Thr Ser Pro
 7970 7975 7980
 Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile Ser Ser Ser Pro
 7985 7990 7995
 Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Ala Lys Thr Thr
 8000 8005 8010
 Asp Met Leu His Lys Ser Ser Glu Pro Val Thr Asn Ser Pro Ala
 8015 8020 8025
 Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Leu Ala Thr Ser Glu Val
 8030 8035 8040
 Thr Thr Asp Thr Glu Lys Thr His Pro Ser Ser Asn Arg Thr Val
 8045 8050 8055
 Thr Asp Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly His Glu Ser Thr Ser Phe
 8060 8065 8070
 Val Leu Ala Asp Ser Gln Thr Ser Lys Val Thr Ser Pro Met Val
 8075 8080 8085
 Ile Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser Thr Pro
 8090 8095 8100

Gly Phe Phe Glu Thr Ser Arg Ile Gln Thr Glu Pro Thr Ser Ser
 8105 8110 8115
 Leu Thr Leu Gly Leu Arg Lys Thr Ser Ser Ser Glu Gly Thr Ser
 8120 8125 8130
 Leu Ala Thr Glu Met Ser Thr Val Leu Ser Gly Val Pro Thr Gly
 8135 8140 8145
 Ala Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg
 8150 8155 8160
 Thr Ser Ile Ser Gly Phe Ala Gln Leu Thr Val Ser Pro Glu Thr
 8165 8170 8175
 Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Pro Thr Ser Ser Ile Met Thr
 8180 8185 8190
 Glu Ser Ala Glu Met Met Ile Lys Thr Gln Thr Asp Pro Pro Gly
 8195 8200 8205
 Ser Thr Pro Glu Ser Thr His Thr Val Asp Ile Ser Thr Thr Pro
 8210 8215 8220
 Asn Trp Val Glu Thr His Ser Thr Val Thr Gln Arg Phe Ser His
 8225 8230 8235
 Ser Glu Met Thr Thr Leu Val Ser Arg Ser Pro Gly Asp Met Leu
 8240 8245 8250
 Trp Pro Ser Gln Ser Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Ala Ser Ser
 8255 8260 8265
 Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser
 8270 8275 8280
 Thr Leu Val Glu Asp Phe Pro Ser Ala Ser Leu Pro Val Thr Ser
 8285 8290 8295
 Leu Leu Asn Pro Gly Leu Val Ile Thr Thr Asp Arg Met Gly Ile
 8300 8305 8310
 Ser Arg Glu Pro Gly Thr Ser Ser Thr Ser Asn Leu Ser Ser Thr
 8315 8320 8325
 Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Leu Glu Asp Thr Val Asp Thr Glu
 8330 8335 8340

Asp Met Gln Pro Ser Thr His Thr Ala Val Thr Asn Val Arg Thr
 8345 8350 8355
 Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln Ser Ser Val Leu Ser Asp Ser
 8360 8365 8370
 Glu Thr Pro Lys Ala Thr Ser Pro Met Gly Thr Thr Tyr Thr Met
 8375 8380 8385
 Gly Glu Thr Ser Val Ser Ile Ser Thr Ser Asp Phe Phe Glu Thr
 8390 8395 8400
 Ser Arg Ile Gln Ile Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu
 8405 8410 8415
 Arg Glu Thr Ser Ser Ser Glu Arg Ile Ser Ser Ala Thr Glu Gly
 8420 8425 8430
 Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Ser Gly Ala Thr Thr Glu Val
 8435 8440 8445
 Ser Arg Thr Glu Val Ile Ser Ser Arg Gly Thr Ser Met Ser Gly
 8450 8455 8460
 Pro Asp Gln Phe Thr Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Ala Ile
 8465 8470 8475
 Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ser
 8480 8485 8490
 Ala Ile Thr Ile Glu Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Glu Gly
 8495 8500 8505
 Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Thr Phe Trp Ser Gly Thr
 8510 8515 8520
 His Ser Thr Ala Ser Pro Gly Phe Ser His Ser Glu Met Thr Thr
 8525 8530 8535
 Leu Met Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Pro Ser Leu Pro
 8540 8545 8550
 Ser Val Glu Glu Ala Ser Ser Val Ser Ser Ser Leu Ser Ser Pro
 8555 8560 8565

Ala Met Thr Ser Thr Ser Phe Phe Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile
8570 8575 8580

Ser Ser Ser Pro His Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Leu Gly Pro
8585 8590 8595

Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Arg Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr
8600 8605 8610

Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala
8615 8620 8625

Thr Ser Glu Val Thr Lys Asp Arg Glu Lys Ile His Pro Ser Ser
8630 8635 8640

Asn Thr Pro Val Val Asn Val Gly Thr Val Ile Tyr Lys His Leu
8645 8650 8655

Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala Asp Leu Val Thr Thr Lys Pro Thr
8660 8665 8670

Ser Pro Met Ala Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asn Thr Ser Val Ser
8675 8680 8685

Thr Ser Thr Pro Ala Phe Pro Glu Thr Met Met Thr Gln Pro Thr
8690 8695 8700

Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu Arg Glu Ile Ser Thr Ser Gln Glu
8705 8710 8715

Thr Ser Ser Ala Thr Glu Arg Ser Ala Ser Leu Ser Gly Met Pro
8720 8725 8730

Thr Gly Ala Thr Thr Lys Val Ser Arg Thr Glu Ala Leu Ser Leu
8735 8740 8745

Gly Arg Thr Ser Thr Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Ile Ser Pro
8750 8755 8760

Glu Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr
8765 8770 8775

Thr Thr Gly Ser Ala Glu Met Thr Ile Thr Pro Lys Thr Gly His
8780 8785 8790

Ser Gly Ala Ser Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ser
8795 8800 8805

Arg Ala Ser Trp Pro Gly Thr His Ser Ala Ala Thr His Arg Ser
 8810 8815 8820
 Pro His Ser Gly Met Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp
 8825 8830 8835
 Val Ser Trp Pro Ser Arg Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Pro Pro
 8840 8845 8850
 Ser Ser Leu Val Ser Leu Ser Ala Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu
 8855 8860 8865
 Tyr Ser Thr Pro Ser Glu Ser Ser His Ser Ser Pro Leu Arg Val
 8870 8875 8880
 Thr Ser Leu Phe Thr Pro Val Met Met Lys Thr Thr Asp Met Leu
 8885 8890 8895
 Asp Thr Ser Leu Glu Pro Val Thr Thr Ser Pro Pro Ser Met Asn
 8900 8905 8910
 Ile Thr Ser Asp Glu Ser Leu Ala Thr Ser Lys Ala Thr Met Glu
 8915 8920 8925
 Thr Glu Ala Ile Gln Leu Ser Glu Asn Thr Ala Val Thr Gln Met
 8930 8935 8940
 Gly Thr Ile Ser Ala Arg Gln Glu Phe Tyr Ser Ser Tyr Pro Gly
 8945 8950 8955
 Leu Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Val Val Thr Ser Ser
 8960 8965 8970
 Thr Ile Lys Asp Ile Val Ser Thr Thr Ile Pro Ala Ser Ser Glu
 8975 8980 8985
 Ile Thr Arg Ile Glu Met Glu Ser Thr Ser Thr Leu Thr Pro Thr
 8990 8995 9000
 Pro Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ile His Ser Ala Thr Lys
 9005 9010 9015
 Pro Ser Thr Val Pro Tyr Lys Ala Leu Thr Ser Ala Thr Ile Glu
 9020 9025 9030

Asp Ser Met Thr Gln Val Met Ser Ser Ser Arg Gly Pro Ser Pro
 9035 9040 9045
 Asp Gln Ser Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Thr
 9050 9055 9060
 Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Lys Thr Glu Ser Thr Glu Met Thr
 9065 9070 9075
 Ile Thr Thr Gln Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Arg Gly Thr
 9080 9085 9090
 Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Phe Met Ser Gly Thr His Ser
 9095 9100 9105
 Thr Ala Ser Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Thr Ala Leu Met
 9110 9115 9120
 Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Leu Ser His Pro Ser Val
 9125 9130 9135
 Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ser Phe Ser Leu Ser Ser Pro Val Met
 9140 9145 9150
 Thr Ser Ser Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Asp Ser Ile His
 9155 9160 9165
 Ser Ser Ser Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Val
 9170 9175 9180
 Lys Thr Thr Glu Leu Leu Gly Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr Ser
 9185 9190 9195
 Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala Ile
 9200 9205 9210
 Thr Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Leu Glu Met Thr Asn Val
 9215 9220 9225
 Val Thr Ser Gly Tyr Thr His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala
 9230 9235 9240
 Asp Ser Val Thr Thr Lys Ala Thr Ser Ser Met Gly Ile Thr Tyr
 9245 9250 9255
 Pro Thr Gly Asp Thr Asn Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Ser
 9260 9265 9270

Asp Thr Ser Arg Ile Gln Thr Lys Ser Lys Leu Ser Leu Thr Pro
 9275 9280 9285
 Gly Leu Met Glu Thr Ser Ile Ser Glu Glu Thr Ser Ser Ala Thr
 9290 9295 9300
 Glu Lys Ser Thr Val Leu Ser Ser Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr
 9305 9310 9315
 Glu Val Ser Arg Thr Glu Ala Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile
 9320 9325 9330
 Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Met Ser Ser Asp Thr Ser Met Glu
 9335 9340 9345
 Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr Arg Lys Glu Ser Thr
 9350 9355 9360
 Asp Met Ala Ile Thr Pro Lys Thr Gly Pro Ser Gly Ala Thr Ser
 9365 9370 9375
 Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Ser Ser Ser Thr Ala Ser Trp Pro
 9380 9385 9390
 Gly Thr His Ser Ala Thr Thr Gln Arg Phe Pro Gln Ser Val Val
 9395 9400 9405
 Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp Val Ser Trp Pro Ser
 9410 9415 9420
 Pro Leu Ser Val Glu Lys Asn Ser Pro Pro Ser Ser Leu Val Ser
 9425 9430 9435
 Ser Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu Tyr Ser Thr Pro Ser
 9440 9445 9450
 Gly Ser Ser His Ser Ser Pro Val Pro Val Thr Ser Leu Phe Thr
 9455 9460 9465
 Ser Ile Met Met Lys Ala Thr Asp Met Leu Asp Ala Ser Leu Glu
 9470 9475 9480
 Pro Glu Thr Thr Ser Ala Pro Asn Met Asn Ile Thr Ser Asp Glu
 9485 9490 9495

Ser Leu Ala Ala Ser Lys Ala Thr Thr Glu Thr Glu Ala Ile His
 9500 9505 9510
 Val Phe Glu Asn Thr Ala Ala Ser His Val Glu Thr Thr Ser Ala
 9515 9520 9525
 Thr Glu Glu Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Gly Phe Ser Glu Pro Thr
 9530 9535 9540
 Lys Val Ile Ser Pro Val Val Thr Ser Ser Ser Ile Arg Asp Asn
 9545 9550 9555
 Met Val Ser Thr Thr Met Pro Gly Ser Ser Gly Ile Thr Arg Ile
 9560 9565 9570
 Glu Ile Glu Ser Met Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr
 9575 9580 9585
 Arg Thr Ser Gln Asp Ile Thr Ser Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val
 9590 9595 9600
 Leu Tyr Lys Met Pro Ser Gly Ala Thr Pro Glu Val Ser Arg Thr
 9605 9610 9615
 Glu Val Met Pro Ser Ser Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln
 9620 9625 9630
 Ser Thr Met Ser Leu Asp Ile Ser Asp Glu Val Val Thr Arg Leu
 9635 9640 9645
 Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr
 9650 9655 9660
 Thr Gln Thr Gly Tyr Ser Leu Ala Thr Ser Gln Val Thr Leu Pro
 9665 9670 9675
 Leu Gly Thr Ser Met Thr Phe Leu Ser Gly Thr His Ser Thr Met
 9680 9685 9690
 Ser Gln Gly Leu Ser His Ser Glu Met Thr Asn Leu Met Ser Arg
 9695 9700 9705
 Gly Pro Glu Ser Leu Ser Trp Thr Ser Pro Arg Phe Val Glu Thr
 9710 9715 9720
 Thr Arg Ser Ser Ser Ser Leu Thr Ser Leu Pro Leu Thr Thr Ser
 9725 9730 9735

Leu Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Leu Asp Ser Ser Pro Ser Ser
 9740 9745 9750
 Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Ile Leu Pro Gly Leu Val Lys Thr
 9755 9760 9765
 Thr Glu Val Leu Asp Thr Ser Ser Glu Pro Lys Thr Ser Ser Ser
 9770 9775 9780
 Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Pro Ala Thr Ser Glu
 9785 9790 9795
 Ile Met Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro Ser Ser Asn Thr Ala
 9800 9805 9810
 Val Ala Lys Val Arg Thr Ser Ser Ser Val His Glu Ser His Ser
 9815 9820 9825
 Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Thr Ile Thr Ile Pro Ser Met
 9830 9835 9840
 Gly Ile Thr Ser Ala Val Asp Asp Thr Thr Val Phe Thr Ser Asn
 9845 9850 9855
 Pro Ala Phe Ser Glu Thr Arg Arg Ile Pro Thr Glu Pro Thr Phe
 9860 9865 9870
 Ser Leu Thr Pro Gly Phe Arg Glu Thr Ser Thr Ser Glu Glu Thr
 9875 9880 9885
 Thr Ser Ile Thr Glu Thr Ser Ala Val Leu Tyr Gly Val Pro Thr
 9890 9895 9900
 Ser Ala Thr Thr Glu Val Ser Met Thr Glu Ile Met Ser Ser Asn
 9905 9910 9915
 Arg Ile His Ile Pro Asp Ser Asp Gln Ser Thr Met Ser Pro Asp
 9920 9925 9930
 Ile Ile Thr Glu Val Ile Thr Arg Leu Ser Ser Ser Ser Met Met
 9935 9940 9945
 Ser Glu Ser Thr Gln Met Thr Ile Thr Thr Gln Lys Ser Ser Pro
 9950 9955 9960

Gly Ala Thr Ala Gln Ser Thr Leu Thr Leu Ala Thr Thr Thr Ala
 9965 9970 9975
 Pro Leu Ala Arg Thr His Ser Thr Val Pro Pro Arg Phe Leu His
 9980 9985 9990
 Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Ser Pro Glu Asn Pro Ser
 9995 10000 10005
 Trp Lys Ser Ser Leu Phe Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
 10010 10015 10020
 Leu Leu Ser Leu Pro Val Thr Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Thr
 10025 10030 10035
 Leu Pro Gln Ser Ile Pro Ser Ser Ser Phe Ser Val Thr Ser Leu
 10040 10045 10050
 Leu Thr Pro Gly Met Val Lys Thr Thr Asp Thr Ser Thr Glu Pro
 10055 10060 10065
 Gly Thr Ser Leu Ser Pro Asn Leu Ser Gly Thr Ser Val Glu Ile
 10070 10075 10080
 Leu Ala Ala Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro
 10085 10090 10095
 Ser Ser Ser Met Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Gly
 10100 10105 10110
 His Glu Leu Tyr Ser Ser Val Ser Ile His Ser Glu Pro Ser Lys
 10115 10120 10125
 Ala Thr Tyr Pro Val Gly Thr Pro Ser Ser Met Ala Glu Thr Ser
 10130 10135 10140
 Ile Ser Thr Ser Met Pro Ala Asn Phe Glu Thr Thr Gly Phe Glu
 10145 10150 10155
 Ala Glu Pro Phe Ser His Leu Thr Ser Gly Phe Arg Lys Thr Asn
 10160 10165 10170
 Met Ser Leu Asp Thr Ser Ser Val Thr Pro Thr Asn Thr Pro Ser
 10175 10180 10185
 Ser Pro Gly Ser Thr His Leu Leu Gln Ser Ser Lys Thr Asp Phe
 10190 10195 10200

Thr Ser Ser Ala Lys Thr Ser Ser Pro Asp Trp Pro Pro Ala Ser
 10205 10210 10215
 Gln Tyr Thr Glu Ile Pro Val Asp Ile Ile Thr Pro Phe Asn Ala
 10220 10225 10230
 Ser Pro Ser Ile Thr Glu Ser Thr Gly Ile Thr Ser Phe Pro Glu
 10235 10240 10245
 Ser Arg Phe Thr Met Ser Val Thr Glu Ser Thr His His Leu Ser
 10250 10255 10260
 Thr Asp Leu Leu Pro Ser Ala Glu Thr Ile Ser Thr Gly Thr Val
 10265 10270 10275
 Met Pro Ser Leu Ser Glu Ala Met Thr Ser Phe Ala Thr Thr Gly
 10280 10285 10290
 Val Pro Arg Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Pro Phe Ser Arg Thr
 10295 10300 10305
 Glu Ser Gly Pro Gly Asp Ala Thr Leu Ser Thr Ile Ala Glu Ser
 10310 10315 10320
 Leu Pro Ser Ser Thr Pro Val Pro Phe Ser Ser Ser Thr Phe Thr
 10325 10330 10335
 Thr Thr Asp Ser Ser Thr Ile Pro Ala Leu His Glu Ile Thr Ser
 10340 10345 10350
 Ser Ser Ala Thr Pro Tyr Arg Val Asp Thr Ser Leu Gly Thr Glu
 10355 10360 10365
 Ser Ser Thr Thr Glu Gly Arg Leu Val Met Val Ser Thr Leu Asp
 10370 10375 10380
 Thr Ser Ser Gln Pro Gly Arg Thr Ser Ser Ser Pro Ile Leu Asp
 10385 10390 10395
 Thr Arg Met Thr Glu Ser Val Glu Leu Gly Thr Val Thr Ser Ala
 10400 10405 10410
 Tyr Gln Val Pro Ser Leu Ser Thr Arg Leu Thr Arg Thr Asp Gly
 10415 10420 10425

Ile Met Glu His Ile Thr Lys Ile Pro Asn Glu Ala Ala His Arg
 10430 10435 10440
 Gly Thr Ile Arg Pro Val Lys Gly Pro Gln Thr Ser Thr Ser Pro
 10445 10450 10455
 Ala Ser Pro Lys Gly Leu His Thr Gly Gly Thr Lys Arg Met Glu
 10460 10465 10470
 Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr
 10475 10480 10485
 Thr Ser Arg Ala Thr Leu Thr Thr Ser Val Tyr Thr Pro Thr Leu
 10490 10495 10500
 Gly Thr Leu Thr Pro Leu Asn Ala Ser Met Gln Met Ala Ser Thr
 10505 10510 10515
 Ile Pro Thr Glu Met Met Ile Thr Thr Pro Tyr Val Phe Pro Asp
 10520 10525 10530
 Val Pro Glu Thr Thr Ser Ser Leu Ala Thr Ser Leu Gly Ala Glu
 10535 10540 10545
 Thr Ser Thr Ala Leu Pro Arg Thr Thr Pro Ser Val Phe Asn Arg
 10550 10555 10560
 Glu Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Val Ser Arg Ser Gly Ala Glu
 10565 10570 10575
 Arg Ser Pro Val Ile Gln Thr Leu Asp Val Ser Ser Ser Glu Pro
 10580 10585 10590
 Asp Thr Thr Ala Ser Trp Val Ile His Pro Ala Glu Thr Ile Pro
 10595 10600 10605
 Thr Val Ser Lys Thr Thr Pro Asn Phe Phe His Ser Glu Leu Asp
 10610 10615 10620
 Thr Val Ser Ser Thr Ala Thr Ser His Gly Ala Asp Val Ser Ser
 10625 10630 10635
 Ala Ile Pro Thr Asn Ile Ser Pro Ser Glu Leu Asp Ala Leu Thr
 10640 10645 10650
 Pro Leu Val Thr Ile Ser Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro
 10655 10660 10665

Thr Leu Thr Lys Ser Pro His Glu Thr Glu Thr Arg Thr Thr Trp
 10670 10675 10680
 Leu Thr His Pro Ala Glu Thr Ser Ser Thr Ile Pro Arg Thr Ile
 10685 10690 10695
 Pro Asn Phe Ser His His Glu Ser Asp Ala Thr Pro Ser Ile Ala
 10700 10705 10710
 Thr Ser Pro Gly Ala Glu Thr Ser Ser Ala Ile Pro Ile Met Thr
 10715 10720 10725
 Val Ser Pro Gly Ala Glu Asp Leu Val Thr Ser Gln Val Thr Ser
 10730 10735 10740
 Ser Gly Thr Asp Arg Asn Met Thr Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser
 10745 10750 10755
 Pro Gly Glu Pro Lys Thr Ile Ala Ser Leu Val Thr His Pro Glu
 10760 10765 10770
 Ala Gln Thr Ser Ser Ala Ile Pro Thr Ser Thr Ile Ser Pro Ala
 10775 10780 10785
 Val Ser Arg Leu Val Thr Ser Met Val Thr Ser Leu Ala Ala Lys
 10790 10795 10800
 Thr Ser Thr Thr Asn Arg Ala Leu Thr Asn Ser Pro Gly Glu Pro
 10805 10810 10815
 Ala Thr Thr Val Ser Leu Val Thr His Pro Ala Gln Thr Ser Pro
 10820 10825 10830
 Thr Val Pro Trp Thr Thr Ser Ile Phe Phe His Ser Lys Ser Asp
 10835 10840 10845
 Thr Thr Pro Ser Met Thr Thr Ser His Gly Ala Glu Ser Ser Ser
 10850 10855 10860
 Ala Val Pro Thr Pro Thr Val Ser Thr Glu Val Pro Gly Val Val
 10865 10870 10875
 Thr Pro Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Ile Ser Thr Thr Ile
 10880 10885 10890

Pro Ile Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser
 10895 10900 10905
 Met Ala Thr Ser His Gly Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ile Pro Thr
 10910 10915 10920
 Pro Thr Val Ser Pro Gly Val Pro Gly Val Val Thr Ser Leu Val
 10925 10930 10935
 Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr
 10940 10945 10950
 Phe Ser Leu Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser
 10955 10960 10965
 His Gly Thr Glu Ala Gly Ser Ala Val Pro Thr Val Leu Pro Glu
 10970 10975 10980
 Val Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Ala Ser Ser Arg Ala Val
 10985 10990 10995
 Thr Ser Thr Thr Leu Pro Thr Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro
 11000 11005 11010
 Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser
 11015 11020 11025
 Ser Thr Val Pro Thr Val Ser Pro Glu Val Pro Gly Val Val Thr
 11030 11035 11040
 Ser Leu Val Thr Ser Ser Ser Gly Val Asn Ser Thr Ser Ile Pro
 11045 11050 11055
 Thr Leu Ile Leu Ser Pro Gly Glu Leu Glu Thr Thr Pro Ser Met
 11060 11065 11070
 Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser Ser Ala Val Pro Thr Pro
 11075 11080 11085
 Thr Val Ser Pro Gly Val Ser Gly Val Val Thr Pro Leu Val Thr
 11090 11095 11100
 Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr Leu
 11105 11110 11115
 Ser Ser Ser Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His
 11120 11125 11130

Gly Val Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr Val Ser Pro Glu Val
 11135 11140 11145

Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr
 11150 11155 11160

Ser Thr Thr Ile Pro Thr Leu Thr Ile Ser Ser Asp Glu Pro Glu
 11165 11170 11175

Thr Thr Thr Ser Leu Val Thr His Ser Glu Ala Lys Met Ile Ser
 11180 11185 11190

Ala Ile Pro Thr Leu Ala Val Ser Pro Thr Val Gln Gly Leu Val
 11195 11200 11205

Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Ser Glu Thr Ser Ala Phe Ser
 11210 11215 11220

Asn Leu Thr Val Ala Ser Ser Gln Pro Glu Thr Ile Asp Ser Trp
 11225 11230 11235

Val Ala His Pro Gly Thr Glu Ala Ser Ser Val Val Pro Thr Leu
 11240 11245 11250

Thr Val Ser Thr Gly Glu Pro Phe Thr Asn Ile Ser Leu Val Thr
 11255 11260 11265

His Pro Ala Glu Ser Ser Ser Thr Leu Pro Arg Thr Thr Ser Arg
 11270 11275 11280

Phe Ser His Ser Glu Leu Asp Thr Met Pro Ser Thr Val Thr Ser
 11285 11290 11295

Pro Glu Ala Glu Ser Ser Ser Ala Ile Ser Thr Thr Ile Ser Pro
 11300 11305 11310

Gly Ile Pro Gly Val Leu Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Arg
 11315 11320 11325

Asp Ile Ser Ala Thr Phe Pro Thr Val Pro Glu Ser Pro His Glu
 11330 11335 11340

Ser Glu Ala Thr Ala Ser Trp Val Thr His Pro Ala Val Thr Ser
 11345 11350 11355

Thr Thr Val Pro Arg Thr Thr Pro Asn Tyr Ser His Ser Glu Pro
 11360 11365 11370
 Asp Thr Thr Pro Ser Ile Ala Thr Ser Pro Gly Ala Glu Ala Thr
 11375 11380 11385
 Ser Asp Phe Pro Thr Ile Thr Val Ser Pro Asp Val Pro Asp Met
 11390 11395 11400
 Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Gly Thr Asp Thr Ser Ile Thr
 11405 11410 11415
 Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser Ser Gly Glu Pro Glu Thr Thr Thr
 11420 11425 11430
 Ser Phe Ile Thr Tyr Ser Glu Thr His Thr Ser Ser Ala Ile Pro
 11435 11440 11445
 Thr Leu Pro Val Ser Pro Gly Ala Ser Lys Met Leu Thr Ser Leu
 11450 11455 11460
 Val Ile Ser Ser Gly Thr Asp Ser Thr Thr Thr Phe Pro Thr Leu
 11465 11470 11475
 Thr Glu Thr Pro Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Ile Gln Leu Ile
 11480 11485 11490
 His Pro Ala Glu Thr Asn Thr Met Val Pro Arg Thr Thr Pro Lys
 11495 11500 11505
 Phe Ser His Ser Lys Ser Asp Thr Thr Leu Pro Val Ala Ile Thr
 11510 11515 11520
 Ser Pro Gly Pro Glu Ala Ser Ser Ala Val Ser Thr Thr Thr Ile
 11525 11530 11535
 Ser Pro Asp Met Ser Asp Leu Val Thr Ser Leu Val Pro Ser Ser
 11540 11545 11550
 Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro Thr Leu Ser Glu Thr Pro
 11555 11560 11565
 Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Thr Trp Leu Thr His Pro Ala Glu
 11570 11575 11580
 Thr Ser Thr Thr Val Ser Gly Thr Ile Pro Asn Phe Ser His Arg
 11585 11590 11595

Gly Ser Asp Thr Ala Pro Ser Met Val Thr Ser Pro Gly Val Asp
 11600 11605 11610

Thr Arg Ser Gly Val Pro Thr Thr Thr Ile Pro Pro Ser Ile Pro
 11615 11620 11625

Gly Val Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Ala Thr Asp Thr Ser
 11630 11635 11640

Thr Ala Ile Pro Thr Leu Thr Pro Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr
 11645 11650 11655

Thr Ala Ser Ser Ala Thr His Pro Gly Thr Gln Thr Gly Phe Thr
 11660 11665 11670

Val Pro Ile Arg Thr Val Pro Ser Ser Glu Pro Asp Thr Met Ala
 11675 11680 11685

Ser Trp Val Thr His Pro Pro Gln Thr Ser Thr Pro Val Ser Arg
 11690 11695 11700

Thr Thr Ser Ser Phe Ser His Ser Ser Pro Asp Ala Thr Pro Val
 11705 11710 11715

Met Ala Thr Ser Pro Arg Thr Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr
 11720 11725 11730

Thr Ile Ser Pro Gly Ala Pro Glu Met Val Thr Ser Gln Ile Thr
 11735 11740 11745

Ser Ser Gly Ala Ala Thr Ser Thr Thr Val Pro Thr Leu Thr His
 11750 11755 11760

Ser Pro Gly Met Pro Glu Thr Thr Ala Leu Leu Ser Thr His Pro
 11765 11770 11775

Arg Thr Glu Thr Ser Lys Thr Phe Pro Ala Ser Thr Val Phe Pro
 11780 11785 11790

Gln Val Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Thr Ile Arg Pro Gly Ala
 11795 11800 11805

Glu Thr Ser Thr Ala Leu Pro Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Phe
 11810 11815 11820

Thr Leu Leu Val Thr Gly Thr Ser Arg Val Asp Leu Ser Pro Thr
 11825 11830 11835
 Ala Ser Pro Gly Val Ser Ala Lys Thr Ala Pro Leu Ser Thr His
 11840 11845 11850
 Pro Gly Thr Glu Thr Ser Thr Met Ile Pro Thr Ser Thr Leu Ser
 11855 11860 11865
 Leu Gly Leu Leu Glu Thr Thr Gly Leu Leu Ala Thr Ser Ser Ser
 11870 11875 11880
 Ala Glu Thr Ser Thr Ser Thr Leu Thr Leu Thr Val Ser Pro Ala
 11885 11890 11895
 Val Ser Gly Leu Ser Ser Ala Ser Ile Thr Thr Asp Lys Pro Gln
 11900 11905 11910
 Thr Val Thr Ser Trp Asn Thr Glu Thr Ser Pro Ser Val Thr Ser
 11915 11920 11925
 Val Gly Pro Pro Glu Phe Ser Arg Thr Val Thr Gly Thr Thr Met
 11930 11935 11940
 Thr Leu Ile Pro Ser Glu Met Pro Thr Pro Pro Lys Thr Ser His
 11945 11950 11955
 Gly Glu Gly Val Ser Pro Thr Thr Ile Leu Arg Thr Thr Met Val
 11960 11965 11970
 Glu Ala Thr Asn Leu Ala Thr Thr Gly Ser Ser Pro Thr Val Ala
 11975 11980 11985
 Lys Thr Thr Thr Thr Phe Asn Thr Leu Ala Gly Ser Leu Phe Thr
 11990 11995 12000
 Pro Leu Thr Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ala Ser Glu Ser Val
 12005 12010 12015
 Thr Ser Arg Thr Ser Tyr Asn His Arg Ser Trp Ile Ser Thr Thr
 12020 12025 12030
 Ser Ser Tyr Asn Arg Arg Tyr Trp Thr Pro Ala Thr Ser Thr Pro
 12035 12040 12045
 Val Thr Ser Thr Phe Ser Pro Gly Ile Ser Thr Ser Ser Ile Pro
 12050 12055 12060

Ser Ser Thr Ala Ala Thr Val Pro Phe Met Val Pro Phe Thr Leu
 12065 12070 12075
 Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met Arg His
 12080 12085 12090
 Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Ala Thr Glu Arg Glu Leu Gln Gly
 12095 12100 12105
 Leu Leu Lys Pro Leu Phe Arg Asn Ser Ser Leu Glu Tyr Leu Tyr
 12110 12115 12120
 Ser Gly Cys Arg Leu Ala Ser Leu Arg Pro Glu Lys Asp Ser Ser
 12125 12130 12135
 Ala Thr Ala Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Glu
 12140 12145 12150
 Asp Leu Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Asn
 12155 12160 12165
 Leu Thr Asn Gly Ile Gln Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg
 12170 12175 12180
 Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Met Pro
 12185 12190 12195
 Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Val Gly Thr Ser
 12200 12205 12210
 Gly Thr Pro Ser Ser Ser Pro Ser Pro Thr Thr Ala Gly Pro Leu
 12215 12220 12225
 Leu Met Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr
 12230 12235 12240
 Glu Glu Asp Met Arg Arg Thr Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Met
 12245 12250 12255
 Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu Lys Pro Leu Phe Lys Asn Thr
 12260 12265 12270
 Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg
 12275 12280 12285

Pro Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr
 12290 12295 12300
 His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu
 12305 12310 12315
 Tyr Trp Glu Leu Ser Lys Leu Thr Asn Asp Ile Glu Glu Leu Gly
 12320 12325 12330
 Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr
 12335 12340 12345
 His Gln Ser Ser Val Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr
 12350 12355 12360
 Val Asp Leu Arg Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Ser Ser Pro
 12365 12370 12375
 Thr Ile Met Ala Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn
 12380 12385 12390
 Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Gly Glu Asp Met Gly His Pro
 12395 12400 12405
 Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu
 12410 12415 12420
 Leu Gly Pro Ile Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser
 12425 12430 12435
 Gly Cys Arg Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala
 12440 12445 12450
 Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Ile His His Leu Asp Pro Lys Ser
 12455 12460 12465
 Pro Gly Leu Asn Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu
 12470 12475 12480
 Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn
 12485 12490 12495
 Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Thr Ser Val Pro Thr
 12500 12505 12510
 Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly
 12515 12520 12525

Thr Pro Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ala Thr Ala Gly Pro Leu Leu
 12530 12535 12540

Val Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Lys Tyr Glu
 12545 12550 12555

Glu Asp Met His Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu
 12560 12565 12570

Arg Val Leu Gln Thr Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser
 12575 12580 12585

Val Gly Leu Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Ser
 12590 12595 12600

Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His
 12605 12610 12615

Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp Arg Glu Gln Leu Tyr
 12620 12625 12630

Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro
 12635 12640 12645

Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His
 12650 12655 12660

Trp Ile Pro Val Pro Thr Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val
 12665 12670 12675

Asp Leu Gly Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr
 12680 12685 12690

Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr
 12695 12700 12705

Asn Leu Lys Tyr Glu Glu Asp Met His Cys Pro Gly Ser Arg Lys
 12710 12715 12720

Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Ser Leu Leu Gly Pro Met
 12725 12730 12735

Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu
 12740 12745 12750

Thr Leu Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp
 12755 12760 12765
 Ala Ile Cys Thr His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp
 12770 12775 12780
 Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile
 12785 12790 12795
 Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val
 12800 12805 12810
 Asn Gly Phe Thr His Gln Thr Ser Ala Pro Asn Thr Ser Thr Pro
 12815 12820 12825
 Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser
 12830 12835 12840
 Leu Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr
 12845 12850 12855
 Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met His
 12860 12865 12870
 His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln
 12875 12880 12885
 Gly Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Leu Leu
 12890 12895 12900
 Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asn Gly
 12905 12910 12915
 Ala Ala Thr Gly Met Asp Ala Ile Cys Ser His Arg Leu Asp Pro
 12920 12925 12930
 Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser
 12935 12940 12945
 Gln Leu Thr His Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp
 12950 12955 12960
 Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
 12965 12970 12975
 Ala Pro Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr
 12980 12985 12990

Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr Ala Val Pro
 12995 13000 13005
 Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln
 13010 13015 13020
 Tyr Gly Glu Asp Met Arg His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr
 13025 13030 13035
 Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Gly Pro Leu Phe Lys Asn
 13040 13045 13050
 Ser Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Ile Ser Leu
 13055 13060 13065
 Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys
 13070 13075 13080
 Thr His His Leu Asn Pro Gln Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln
 13085 13090 13095
 Leu Tyr Trp Gln Leu Ser Gln Met Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu
 13100 13105 13110
 Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe
 13115 13120 13125
 Thr His Arg Ser Ser Gly Leu Thr Thr Ser Thr Pro Trp Thr Ser
 13130 13135 13140
 Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Pro Val Pro Ser
 13145 13150 13155
 Pro Thr Thr Thr Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe
 13160 13165 13170
 Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asn Met Gly His Pro Gly
 13175 13180 13185
 Ser Arg Lys Phe Asn Ile Thr Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu
 13190 13195 13200
 Lys Pro Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly
 13205 13210 13215

Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly Val Ala Thr
 13220 13225 13230
 Arg Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Lys Ile Pro
 13235 13240 13245
 Gly Leu Asp Arg Gln Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr
 13250 13255 13260
 His Ser Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser
 13265 13270 13275
 Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr
 13280 13285 13290
 Ser Thr Pro Gly Thr Phe Thr Val Gln Pro Glu Thr Ser Glu Thr
 13295 13300 13305
 Pro Ser Ser Leu Pro Gly Pro Thr Ala Thr Gly Pro Val Leu Leu
 13310 13315 13320
 Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu
 13325 13330 13335
 Asp Met Arg Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg
 13340 13345 13350
 Val Leu Gln Gly Leu Leu Met Pro Leu Phe Lys Asn Thr Ser Val
 13355 13360 13365
 Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu
 13370 13375 13380
 Lys Asp Gly Ala Ala Thr Arg Val Asp Ala Val Cys Thr His Arg
 13385 13390 13395
 Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp
 13400 13405 13410
 Lys Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr
 13415 13420 13425
 Thr Leu Asp Arg His Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Gln
 13430 13435 13440
 Ser Ser Met Thr Thr Thr Arg Thr Pro Asp Thr Ser Thr Met His
 13445 13450 13455

Leu Ala Thr Ser Arg Thr Pro Ala Ser Leu Ser Gly Pro Met Thr
 13460 13465 13470
 Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr Ile Asn Phe Thr Ile Thr
 13475 13480 13485
 Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met His His Pro Gly Ser Arg Lys
 13490 13495 13500
 Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Val
 13505 13510 13515
 Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu
 13520 13525 13530
 Thr Leu Leu Arg Pro Lys Lys Asp Gly Ala Ala Thr Lys Val Asp
 13535 13540 13545
 Ala Ile Cys Thr Tyr Arg Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp
 13550 13555 13560
 Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile
 13565 13570 13575
 Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val
 13580 13585 13590
 Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Ile Pro
 13595 13600 13605
 Gly Thr Pro Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Val Ser
 13610 13615 13620
 Lys Pro Gly Pro Ser Ala Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr
 13625 13630 13635
 Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met Gln
 13640 13645 13650
 His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln
 13655 13660 13665
 Gly Leu Leu Arg Ser Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu
 13670 13675 13680

Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly
 13685 13690 13695
 Thr Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His His Pro Asp Pro
 13700 13705 13710
 Lys Ser Pro Arg Leu Asp Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser
 13715 13720 13725
 Gln Leu Thr His Asn Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Ala Leu Asp
 13730 13735 13740
 Asn Asp Ser Leu Phe Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
 13745 13750 13755
 Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Pro Thr Val Tyr Leu Gly Ala
 13760 13765 13770
 Ser Lys Thr Pro Ala Ser Ile Phe Gly Pro Ser Ala Ala Ser His
 13775 13780 13785
 Leu Leu Ile Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg
 13790 13795 13800
 Tyr Glu Glu Asn Met Trp Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr
 13805 13810 13815
 Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Leu Phe Lys Asn Thr
 13820 13825 13830
 Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg
 13835 13840 13845
 Pro Glu Lys Asp Gly Glu Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr
 13850 13855 13860
 His Arg Pro Asp Pro Thr Gly Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln Leu
 13865 13870 13875
 Tyr Leu Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile Thr Glu Leu Gly
 13880 13885 13890
 Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr
 13895 13900 13905
 His Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Thr Gly Val Val Ser Glu
 13910 13915 13920

Glu Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Asn Asn Leu Arg Tyr Met
 13925 13930 13935

Ala Asp Met Gly Gln Pro Gly Ser Leu Lys Phe Asn Ile Thr Asp
 13940 13945 13950

Asn Val Met Gln His Leu Leu Ser Pro Leu Phe Gln Arg Ser Ser
 13955 13960 13965

Leu Gly Ala Arg Tyr Thr Gly Cys Arg Val Ile Ala Leu Arg Ser
 13970 13975 13980

Val Lys Asn Gly Ala Glu Thr Arg Val Asp Leu Leu Cys Thr Tyr
 13985 13990 13995

Leu Gln Pro Leu Ser Gly Pro Gly Leu Pro Ile Lys Gln Val Phe
 14000 14005 14010

His Glu Leu Ser Gln Gln Thr His Gly Ile Thr Arg Leu Gly Pro
 14015 14020 14025

Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Ser Leu Tyr Leu Asn Gly Tyr Asn Glu
 14030 14035 14040

Pro Gly Pro Asp Glu Pro Pro Thr Thr Pro Lys Pro Ala Thr Thr
 14045 14050 14055

Phe Leu Pro Pro Leu Ser Glu Ala Thr Thr Ala Met Gly Tyr His
 14060 14065 14070

Leu Lys Thr Leu Thr Leu Asn Phe Thr Ile Ser Asn Leu Gln Tyr
 14075 14080 14085

Ser Pro Asp Met Gly Lys Gly Ser Ala Thr Phe Asn Ser Thr Glu
 14090 14095 14100

Gly Val Leu Gln His Leu Leu Arg Pro Leu Phe Gln Lys Ser Ser
 14105 14110 14115

Met Gly Pro Phe Tyr Leu Gly Cys Gln Leu Ile Ser Leu Arg Pro
 14120 14125 14130

Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Thr Thr Cys Thr Tyr
 14135 14140 14145

His Pro Asp Pro Val Gly Pro Gly Leu Asp Ile Gln Gln Leu Tyr
 14150 14155 14160
 Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe
 14165 14170 14175
 Tyr Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro
 14180 14185 14190
 Gln Asn Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile
 14195 14200 14205
 Val Asn Trp Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr
 14210 14215 14220
 Ile Thr Leu Leu Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr
 14225 14230 14235
 Lys Gly Ser Gln Leu His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr
 14240 14245 14250
 Asn Leu Thr Met Asp Ser Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe
 14255 14260 14265
 Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp
 14270 14275 14280
 Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His Trp Leu Gly Ser Thr Tyr Gln
 14285 14290 14295
 Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met Glu Ser Ser Val Tyr Gln
 14300 14305 14310
 Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe Tyr Leu Asn Phe Thr
 14315 14320 14325
 Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala Gln Pro Gly Thr
 14330 14335 14340
 Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp Ala Leu Asn
 14345 14350 14355
 Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser Asp Cys
 14360 14365 14370
 Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr Gly
 14375 14380 14385

Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp
 14390 14395 14400

Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly
 14405 14410 14415

Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val
 14420 14425 14430

Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser
 14435 14440 14445

Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu
 14450 14455 14460

Leu Gly Val Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr
 14465 14470 14475

Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys
 14480 14485 14490

Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln
 14495 14500 14505

<210> 174
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 174

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 20 25

<210> 175
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 175

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
 1 5 10 15

Gly

<210> 176
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 176

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

Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 20 25 30

Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 35

<210> 177
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 177

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 178
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<220>
 <221> 變體
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa = Ala 或 Ser

<400> 178

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Xaa
 1 5

<210> 179
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<220>
 <221> 變體
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa = Lys 或 Ile

<400> 179

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Xaa
 1 5

<210> 180
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<220>
 <221> 變體
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa = Tyr 或 Asp

<220>
 <221> 變體
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa = Tyr 或 His

<220>
 <221> 變體
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa = Met 或 Leu

<220>
 <221> 變體
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa = Met 或 Leu

<400> 180

Ala Lys Xaa Gly Ser Gly Tyr Gly Lys Phe Tyr Xaa Tyr Gly Xaa Asp
 1 5 10 15

Val

<210> 181

<211> 125
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 181

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Gly Tyr Ser Gly Tyr Gly Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 182
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 182

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 183
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 183

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 185
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 185

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 186
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 186

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275

280

285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 187
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 187

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 189
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 189

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
180 185 190

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
210 215 220

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 190
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 190

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

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

<210> 192
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 192

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 193

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

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

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 194
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 194

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
65 70 75 80

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 210 215 220

Ser Pro Gly Lys
 225

<210> 195
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 195

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 65 70 75 80

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val
 145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 165 170 175

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 210 215 220

Ser Pro Gly Lys
 225

<210> 196
 <211> 229
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 196

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 197
<211> 229
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 197

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 198
<211> 231
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 198

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
35 40 45

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
100 105 110

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
115 120 125

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 199
<211> 231
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 199

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
35 40 45

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
100 105 110

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
115 120 125

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 200
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的

<400> 200

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

<210> 201

<211> 228
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的

<400> 201

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 35 40 45

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 65 70 75 80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
 100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
 180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

210

215

220

Ser Leu Gly Lys
225

申請專利範圍

1. 一種細胞毒性雙特異性抗體用於製造治療個體中癌症的醫藥品之用途，其中該雙特異性抗體包含顯示對人類 CD3 和獼猴 CD3 具有微弱至未檢出結合之第一抗原結合臂，及與腫瘤相關抗原結合之第二抗原結合臂，其中該第一抗原結合臂及該第二抗原結合臂各自包含一重鏈及一輕鏈，其中該輕鏈係為該第一抗原結合臂及該第二抗原結合臂二者所共同者，且其中該第一抗原結合臂之重鏈包含重鏈可變區(HCVR)，該 HCVR 包含分別含有 SEQ ID NO : 36、38 及 40 或 SEQ ID NO : 140、142 及 144 的胺基酸序列之互補決定區 HCDR1、HCDR2 及 HCDR3，且其中該輕鏈包含輕鏈可變區(LCVR)，該 LCVR 包含分別含有 SEQ ID NO : 164、166 及 168 的胺基酸序列之互補決定區 LCDR1、LCDR2 及 LCDR3。
2. 如請求項 1 之用途，其中該雙特異性抗體顯現活體外 T 細胞活化。
3. 如請求項 1 之用途，其中該腫瘤相關抗原係表現於人類腫瘤細胞上。
4. 如請求項 1 之用途，其中該雙特異性抗體，當以活體外 T 細胞媒介的腫瘤細胞毒殺分析所測量，係以低於約 1.3 nM 之 EC₅₀ 值引發 T 細胞媒介的腫瘤細胞毒殺。
5. 如請求項 1 之用途，其中該目標腫瘤細胞係表現選自下列組成之群之腫瘤相關抗原：AFP、ALK、BAGE 蛋白、BIRC5 (survivin)、BIRC7、β-連環蛋白(β-catenin)、bcr-abl、BRCA1、BORIS、CA9、碳酸酐酶 IX、半胱天冬酶-8、CALR、CCR5、CD19、CD20 (MS4A1)、CD22、CD30、CD40、CDK4、CEA、CTLA4、cyclin-B1、CYP1B1、EGFR、EGFRvIII、ErbB2/Her2、ErbB3、ErbB4、ETV6-AML、EpCAM、EphA2、Fra-1、

110年06月16日修正

- FOLR1、GAGE 蛋白(例如 GAGE-1、-2)、GD2、GD3、GloboH、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3 (glypican-3)、GM3、gp100、Her2、HLA/B-raf、HLA/k-ras、HLA/MAGE-A3、hTERT、LMP2、MAGE 蛋白(例如 MAGE-1、-2、-3、-4、-6 和-12)、MART-1、間皮素(mesothelin)、ML-IAP、Muc1、Muc2、Muc3、Muc4、Muc5、Muc16 (CA-125)、MUM1、NA17、NY-BR1、NY-BR62、NY-BR85、NY-ESO1、OX40、p15、p53、PAP、PAX3、PAX5、PCTA-1、PLAC1、PRLR、PRAME、PSMA (FOLH1)、RAGE 蛋白、Ras、RGS5、Rho、SART-1、SART-3、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TGF- β 、TMPRSS2、Thompson-nouvelle 抗原(Tn)、TRP-1、TRP-2、酪胺酸酶及 uroplakin-3。
6. 如請求項 1 至 5 中任一項之用途，其中該 LCVR 包含 SEQ ID NO: 162 的胺基酸序列。
 7. 如請求項 1 至 5 中任一項之用途，其中該第一抗原結合臂包含分別含有 SEQ ID NO: 36、38、40、164、166 及 168 的胺基酸序列之互補決定區 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3。
 8. 如請求項 1 至 5 中任一項之用途，其中該第一抗原結合臂包含分別含有 SEQ ID NO: 140、142、144、164、166 及 168 的胺基酸序列之互補決定區 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3。
 9. 如請求項 6 之用途，其中該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO: 34/162 的胺基酸序列之 HCVR 及 LCVR 胺基酸序列對(HCVR/LCVR)。
 10. 如請求項 6 之用途，其中該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO: 138/162 的胺基酸序列之 HCVR 及 LCVR 胺基酸序列對(HCVR/LCVR)。
 11. 如請求項 1 之用途，其中該癌症係由下列組成之群中選出：胰臟癌、黑色素瘤、膠質母細胞瘤、頭頸癌、前列腺癌、惡性膠質瘤、骨肉瘤、

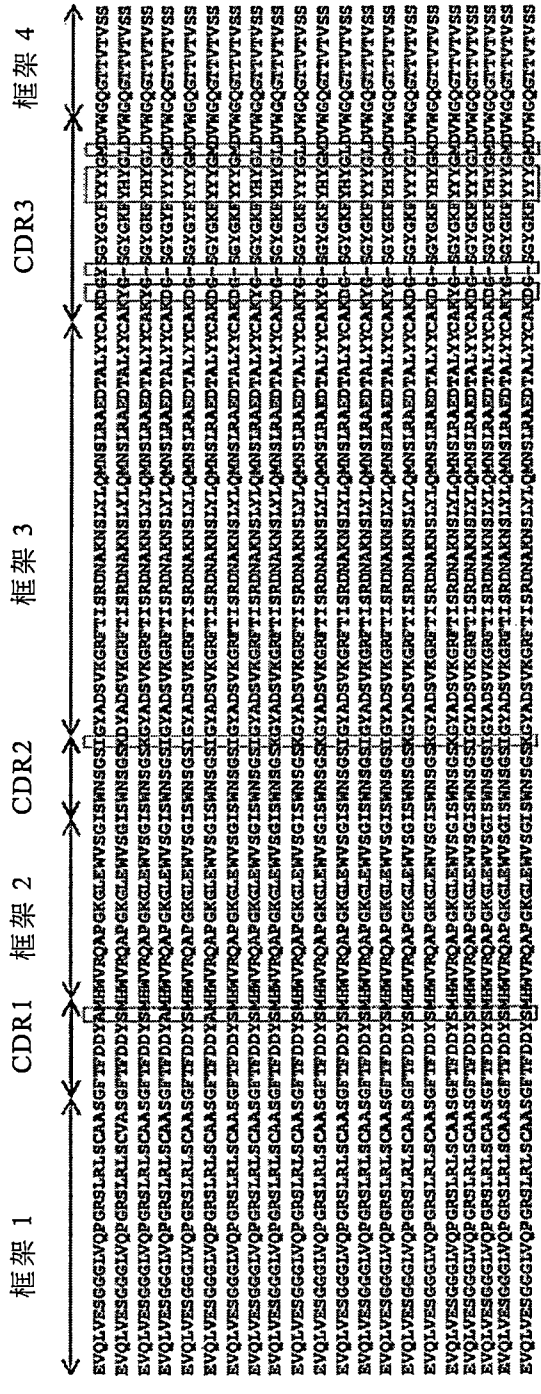
大腸直腸癌、胃癌、惡性間皮瘤、多發性骨髓瘤、卵巢癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、滑液肉瘤、甲狀腺癌、乳癌、黑色素膠質母細胞瘤、鱗狀細胞癌、食道癌、透明細胞腎細胞癌、嫌色性腎細胞癌、腎嗜酸性粒細胞瘤、腎移行細胞癌、泌尿上皮癌、腺癌或小細胞癌，視情況其中該個體係患有對單獨的單一治療具阻抗性或反應不完全之腫瘤。

12. 一種細胞毒性雙特異性抗體，其包含顯示對人類 CD3 和獼猴 CD3 具有微弱至未檢出結合之第一抗原結合臂，及與腫瘤相關抗原結合之第二抗原結合臂，其中該第一抗原結合臂及該第二抗原結合臂各自包含一重鏈及一輕鏈，其中該輕鏈係為該第一抗原結合臂及該第二抗原結合臂二者所共同者，且其中該第一抗原結合臂之重鏈包含重鏈可變區(HCVR)，該 HCVR 包含分別含有 SEQ ID NO：36、38 及 40 或 SEQ ID NO：140、142 及 144 的胺基酸序列之互補決定區 HCDR1、HCDR2 及 HCDR3，且其中該輕鏈包含輕鏈可變區(LCVR)，該 LCVR 包含分別含有 SEQ ID NO：164、166 及 168 的胺基酸序列之互補決定區 LCDR1、LCDR2 及 LCDR3。
13. 如請求項 12 之細胞毒性雙特異性抗體，其中該 LCVR 包含 SEQ ID NO：162 的胺基酸序列。
14. 如請求項 12 之細胞毒性雙特異性抗體，其中該第一抗原結合臂包含分別含有 SEQ ID NO：36、38、40、164、166 及 168 的胺基酸序列之互補決定區 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3。
15. 如請求項 12 之細胞毒性雙特異性抗體，其中該第一抗原結合臂包含分別含有 SEQ ID NO：140、142、144、164、166 及 168 的胺基酸序列之互補決定區 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3。

110年06月16日修正

16. 如請求項13之細胞毒性雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：34/162的胺基酸序列之HCVR及LCVR胺基酸序列對 (HCVR/LCVR)。
17. 如請求項13之細胞毒性雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：138/162的胺基酸序列之HCVR及LCVR胺基酸序列對 (HCVR/LCVR)。
18. 一種醫藥組成物，其包含如請求項12至17中任一項之細胞毒性雙特異性抗體，及醫藥上可接受載劑。

圖式



生殖系 HighV
 CD3-VH-P
 CD3-VH-G
 CD3-VH-G2
 CD3-VH-G3
 CD3-VH-G4
 CD3-VH-G5
 CD3-VH-G8
 CD3-VH-G9
 CD3-VH-G10
 CD3-VH-G11
 CD3-VH-G12
 CD3-VH-G13
 CD3-VH-G14
 CD3-VH-G15
 CD3-VH-G16
 CD3-VH-G17
 CD3-VH-G18
 CD3-VH-G19
 CD3-VH-G20
 CD3-VH-G21

圖 1

WT 小鼠

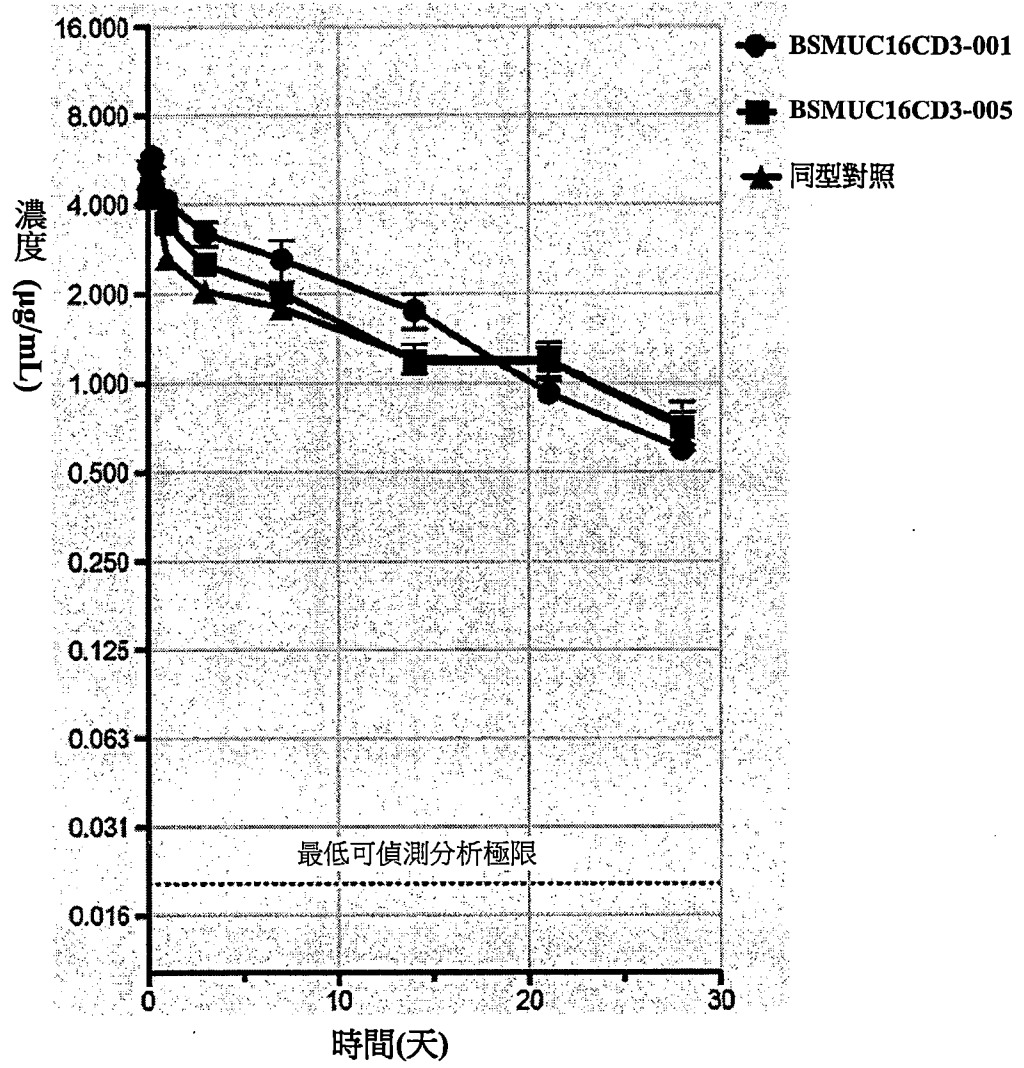


圖 2A

CD3^{hu/hu} 小鼠

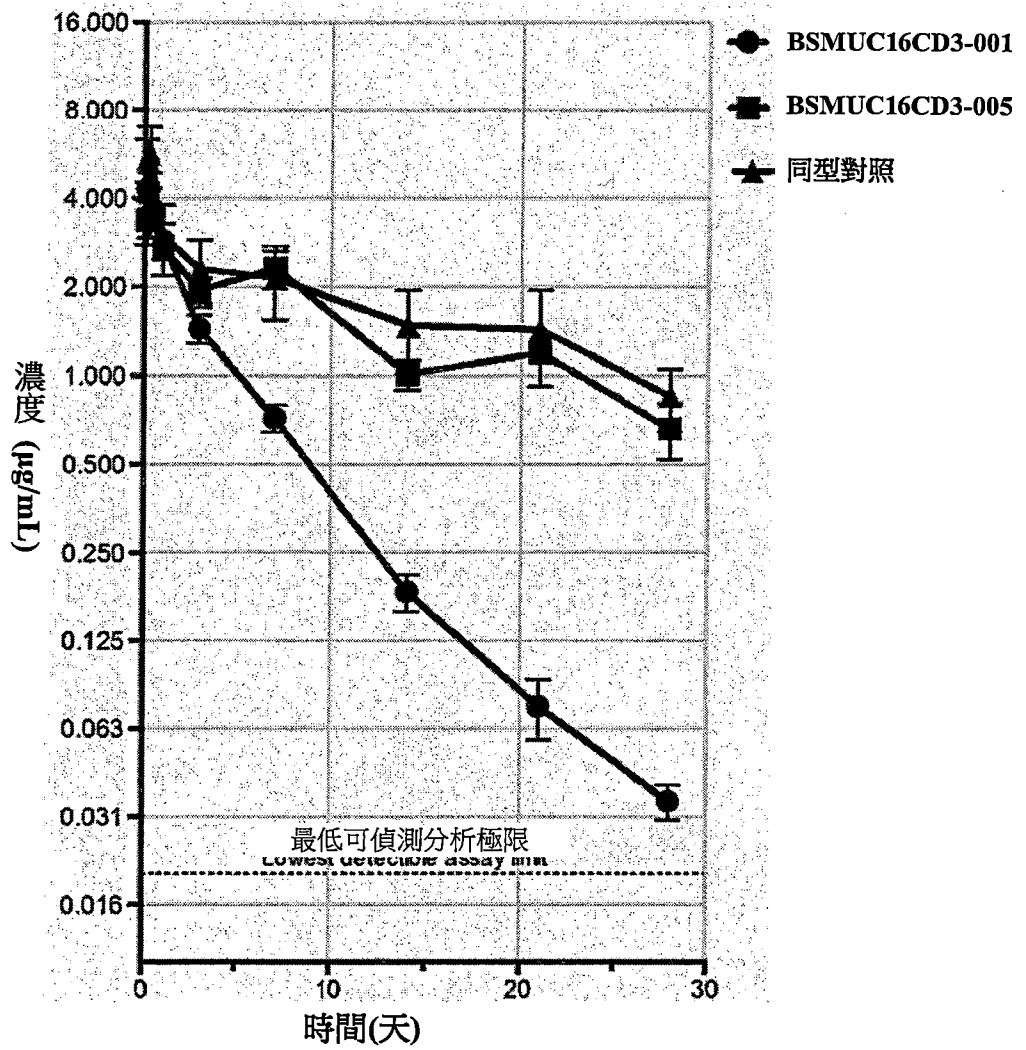


圖 2B

Muc16^{hu/hu} x CD3^{hu/hu} 小鼠

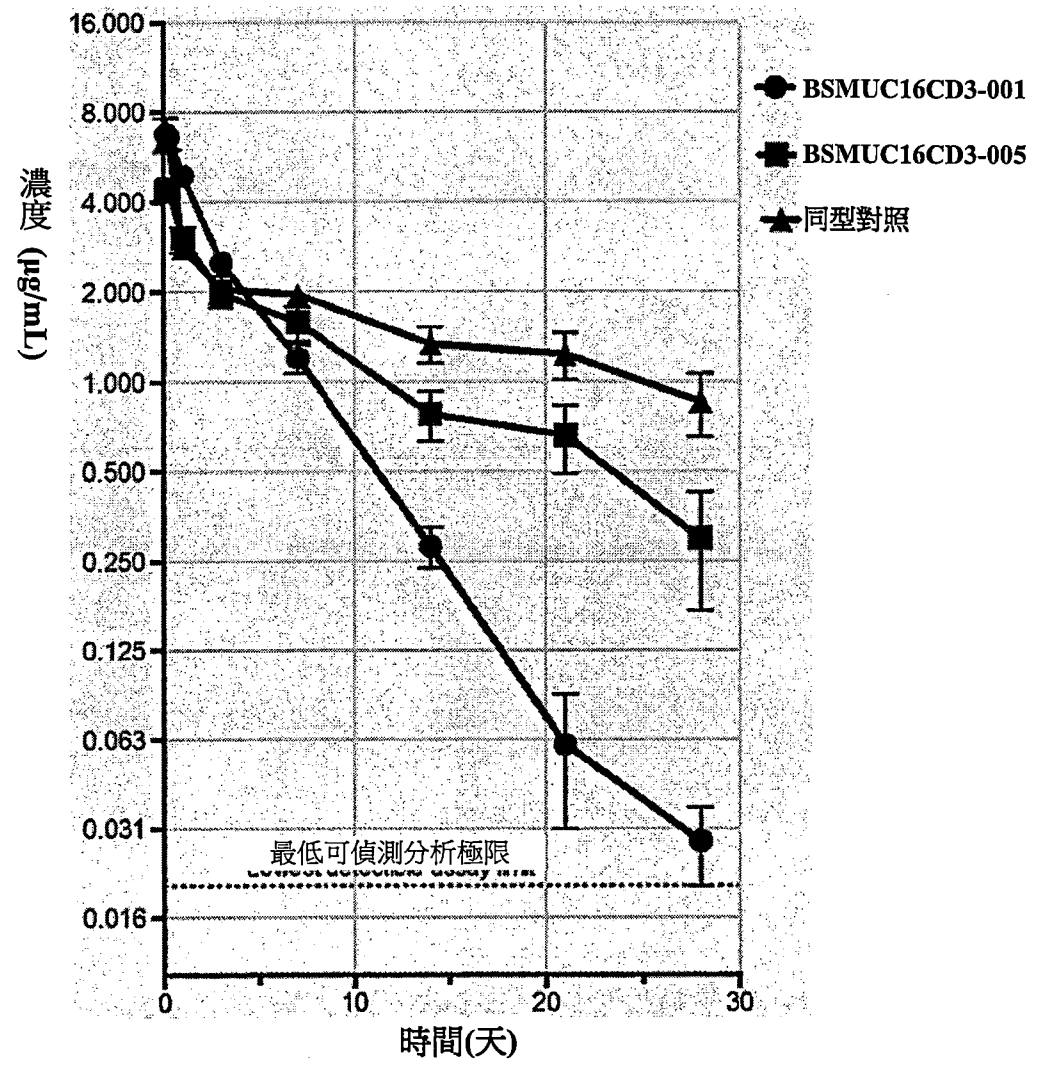


圖 2C