



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113735975 B

(45) 授权公告日 2022.08.12

(21) 申请号 202111045651.9	A61K 39/395 (2006.01)
(22) 申请日 2021.09.07	A61P 1/16 (2006.01)
(65) 同一申请的已公布的文献号	A61P 11/00 (2006.01)
申请公布号 CN 113735975 A	A61P 13/12 (2006.01)
(43) 申请公布日 2021.12.03	A61P 13/10 (2006.01)
(73) 专利权人 广东东阳光药业有限公司	A61P 9/00 (2006.01)
地址 523808 广东省东莞市松山湖园区工	A61P 9/14 (2006.01)
业北路1号	A61P 27/02 (2006.01)
(72) 发明人 周加滔 陈苍沙 万云凤 曹生田	A61P 17/00 (2006.01)
徐榆林 李文佳	A61P 1/18 (2006.01)
(74) 专利代理机构 北京辰权知识产权代理有限	A61P 1/00 (2006.01)
公司 11619	A61P 25/00 (2006.01)
专利代理师 佟林松	A61P 15/08 (2006.01)
(51) Int. Cl.	A61P 15/14 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)	A61P 21/00 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)	审查员 马静
C12N 5/10 (2006.01)	

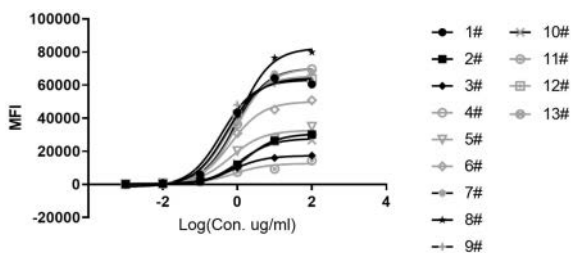
权利要求书2页 说明书16页
序列表28页 附图3页

(54) 发明名称

一种抗IL-11R抗体及其应用

(57) 摘要

本发明涉及一种抗IL-11R抗体及其应用,该抗体对于IL-11R具有较高的中和活性。在该抗IL-11R抗体的作用下,可有效抑制肺成纤维细胞HFL-1的纤维化,而且该抗IL-11R抗体具有良好的热稳定性,在用于纤维化相关疾病的治疗方面,具有良好的临床应用前景。



1. 一种抗IL-11R抗体,其包含含有HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链可变区以及含有LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链可变区;

其中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3的氨基酸序列为:

HCDR1:GFNIKYY (SEQ ID NO:43),HCDR2:VDPENGNT (SEQ ID NO:44),HCDR3:VLYRYGFAY (SEQ ID NO:45);

所述LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列为:

LCDR1:TGAVTTSNY (SEQ ID NO:74),LCDR2:GTN (SEQ ID NO:75),LCDR3:VLWHSNHWV (SEQ ID NO:76)。

2. 如权利要求1所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:6。

3. 如权利要求1所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述轻链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:19。

4. 如权利要求1所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:6,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:19。

5. 如权利要求1-4任一项所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述抗IL-11R抗体为全长抗体、Fab片段、F(ab)₂片段、双链Fv片段或单链Fv片段。

6. 如权利要求1-4任一项所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述抗IL-11R抗体为单克隆抗体。

7. 如权利要求1-4任一项所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述抗IL-11R抗体为IgG1、IgG2a、IgG2b或IgG3亚型。

8. 如权利要求1-4任一项所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述抗IL-11R抗体还包括选自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4亚型的重链恒定区。

9. 如权利要求8所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述重链恒定区包括如SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列。

10. 如权利要求1-4任一项所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述抗IL-11R抗体还包括选自Kappa或Lambda亚型的轻链恒定区。

11. 如权利要求10所述的抗IL-11R抗体,其特征在于,所述轻链恒定区包括如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列。

12. 一种生物材料,其特征在于,所述生物材料为以下(i)、(ii)、(iii)中的任一种:

(i) 核酸,所述核酸包括编码权利要求1-11任一项所述的抗IL-11R抗体的核苷酸序列;

(ii) 载体,所述载体包含(i)中所述的核酸;

(iii) 宿主细胞,所述宿主细胞含有(i)中所述的核酸和/或(ii)中所述的载体。

13. 一种药物组合物,其特征在于,所述药物组合物包含权利要求1-11任一项所述的抗IL-11R抗体作为活性成分;其中所述抗IL-11R抗体以治疗有效剂量存在。

14. 如权利要求13所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物还包括药学上可接受的载体。

15. 权利要求1-11任一项所述的抗IL-11R抗体的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:使权利要求12所述的生物材料之一的宿主细胞表达所述抗IL-11R抗体,和分离纯化得到所述抗IL-11R抗体。

16. 权利要求1-11任一项所述的抗IL-11R抗体在制备用于预防、缓解或治疗具有纤维化病症的疾病的药物中的用途。

17. 如权利要求16所述的用途,其特征在于,所述纤维化病症为选自肝、胆、肺、肾、膀胱、心脏、血管、眼、皮肤、胰腺、胃肠、骨髓、阴茎、乳腺、或肌肉的纤维化病症。

18. 如权利要求17所述的用途,其特征在于,所述具有纤维化病症的疾病包括矽肺、石棉肺、煤肺、肺结核、病毒性肺炎、肺囊虫感染、继发性肺疾病、特发性间质性肺炎、闭塞性细支气管炎伴机化性肺炎、肺淋巴管平滑肌瘤、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、进行性系统硬化症、多肌炎、皮肌炎、混合型结缔组织病、弥漫性肺泡出血综合征、肺泡蛋白沉积症、嗜酸粒细胞性肺炎、肺血管炎、淋巴细胞间质性肺炎、缺血性心脏疾病、高血压性心脏病、病毒性心肌炎、血色病性心肌病、淀粉样变心肌病、糖原累积性心肌病、糖尿病性心肌病、扩张性心肌病、肥厚性心肌病、限制性心肌病、肝硬化、急性胰腺炎、胰管梗阻、肾小球肾炎、肾盂肾炎、肾结石、高尿酸尿症、高钙尿症、脾纤维增生疾病、视网眼膜纤维增生、骨髓纤维化。

一种抗IL-11R抗体及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,具体涉及一种抗IL-11R抗体及其应用。

背景技术

[0002] 白细胞介素11(IL-11)是由骨髓基质细胞分泌的细胞因子,人类IL-11基因位于第19号染色体q13.3-q13.4区。IL-11是IL-6细胞因子家族的成员,该家族还包括IL-27、IL-31、白血病抑制因子(LIF)、制瘤素M(OSM)和睫状神经营养因子(CNTF)等。IL-6家族细胞因子诱导经由常见信号转导受体 β 亚基gp130和特异性受体 α 亚基的信号转导。对于IL-11,该细胞因子与其特异性受体IL-11R α 的结合诱导gp130同二聚化,并主要通过激活JAK1/STAT3(酪氨酸蛋白激酶途径)通路作用于效应细胞来促进造血祖细胞分化成熟、维持上皮细胞动态平衡、刺激肝脏产生具有抗炎作用的极性相反反应蛋白例如铁蛋白、C反应蛋白等。随着研究的不断深入,IL-11所具有的广泛的细胞生物学活性仍在被进一步发现。

[0003] 纤维化(fibrosis)可发生于多种器官,主要病理改变为器官组织内纤维结缔组织增多,实质细胞减少,持续进展可致器官结构破坏和功能减退,乃至衰竭,严重威胁人类健康和生命。以过度纤维化为特征的疾病包括但不限于:全身性硬化症,硬皮病,肥厚性心脏病,扩张型心肌病(DCM),心房纤颤,心室纤颤,心肌炎,肝硬化,肾病,眼部疾病,哮喘,囊性纤维化,关节炎和特发性肺纤维化等。尽管对人类健康有很大影响,但纤维化的治疗和诊断方法仍然是未满足的医疗需求。专利文献EP 3428188 A1公开了IL-11用于治疗肺纤维化的新功能,在此之前,TGF- β 1被认为是主要诱发纤维化的关键因子(Leask, A. and Abraham, D. J. (2004), TGF- β signaling and the fibrotic response. The FASEB Journal, 18:816-827.)。针对抑制TGF- β 1及其他靶点的药物,全球有多家公司正在进行开发。

[0004] 然而,已上市的治疗纤维化的药物极少,例如目前上市的针对肺纤维化疾病的药物仅有吡啡尼酮和尼达尼布两款,且这两款药物的疗效并不理想。本领域亟需开发新药物来解决这种困局。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种高亲和力的抗IL-11R抗体及其应用,该抗体对于IL-11R具有高中和活性,可用于纤维化相关疾病的治疗。

[0006] 为此,第一方面,本发明提供一种抗IL-11R抗体,其包含含有HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链可变区以及含有LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链可变区;

[0007] 其中,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3的氨基酸序列选自下组:

[0008] HCDR1:GFTFSSYT (SEQ ID NO:28), HCDR2:ISSGGSYT (SEQ ID NO:29), HCDR3:AREDYDGFAY (SEQ ID NO:30);

[0009] 或者,HCDR1:GFTFSDFY (SEQ ID NO:31), HCDR2:SRDNTKDYTT (SEQ ID NO:32), HCDR3:ARAHYYGFGAMDY (SEQ ID NO:33);

- [0010] 或者,HCDR1:GFTFSSSA (SEQ ID NO:34),HCDR2:VSSGGTYT (SEQ ID NO:35),HCDR3:ARHSPDDGYFVDY (SEQ ID NO:36);
- [0011] 或者,HCDR1:GFIFSDYG (SEQ ID NO:37),HCDR2:ISNLAYSF (SEQ ID NO:38),HCDR3:VRADEGLGY (SEQ ID NO:39);
- [0012] 或者,HCDR1:GYSFTGYT (SEQ ID NO:40),HCDR2:INPDNGGI (SEQ ID NO:41),HCDR3:AINYYGLDY (SEQ ID NO:42);
- [0013] 或者,HCDR1:GFNIKNNY (SEQ ID NO:43),HCDR2:VDPENGNT (SEQ ID NO:44),HCDR3:VLYRYGFAY (SEQ ID NO:45);
- [0014] 或者,HCDR1:GYAFTNYL (SEQ ID NO:46),HCDR2:ISPDNGNT (SEQ ID NO:47),HCDR3:ARNRYGIDS (SEQ ID NO:48);
- [0015] 或者,HCDR1:GYTFRNYG (SEQ ID NO:49),HCDR2:INTFTGEP (SEQ ID NO:50),HCDR3:AREELRSGHYGFAC (SEQ ID NO:51);
- [0016] 或者,HCDR1:GFTLSSYT (SEQ ID NO:52),HCDR2:ISSGGSYI (SEQ ID NO:53),HCDR3:TRDLGNDDFTYYFDS (SEQ ID NO:54);
- [0017] 或者,HCDR1:GFTFSDFY (SEQ ID NO:31),HCDR2:SRDKAKDYTT (SEQ ID NO:55),HCDR3:ARVHYGFGAMDY (SEQ ID NO:56);
- [0018] 或者,HCDR1:GFTFSYYA (SEQ ID NO:57),HCDR2:ISSSGRYT (SEQ ID NO:58),HCDR3:ARTDGYYPDY (SEQ ID NO:59);
- [0019] 或者,HCDR1:GYAFTNYL (SEQ ID NO:46),HCDR2:ISPDNGNT (SEQ ID NO:47),HCDR3:ARNRYGIDY (SEQ ID NO:60);
- [0020] 其中,所述LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列选自下组:
- [0021] LCDR1:QSLVFSNGNTY (SEQ ID NO:61),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:SQMTHVPYT (SEQ ID NO:63);
- [0022] 或者,LCDR1:QSVDDYGDYSY (SEQ ID NO:64),LCDR2:AAS (SEQ ID NO:65),LCDR3:QQSNEDPWT (SEQ ID NO:66);
- [0023] 或者,LCDR1:QNIVHSNGNTY (SEQ ID NO:67),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:FQGSHPPT (SEQ ID NO:68);
- [0024] 或者,LCDR1:QTLVDSNVNNY (SEQ ID NO:69),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:SQSTHVPWT (SEQ ID NO:70);
- [0025] 或者,LCDR1:QSIVHSTGVTY (SEQ ID NO:71),LCDR2:RVS (SEQ ID NO:72),LCDR3:FQGSHPVT (SEQ ID NO:73);
- [0026] 或者,LCDR1:TGAVTTSNY (SEQ ID NO:74),LCDR2:GTN (SEQ ID NO:75),LCDR3:VLWHSNHWV (SEQ ID NO:76);
- [0027] 或者,LCDR1:KSLLSNGITY (SEQ ID NO:77),LCDR2:QMS (SEQ ID NO:78),LCDR3:AQNLELPHT (SEQ ID NO:79);
- [0028] 或者,LCDR1:QSIVFSNGITY (SEQ ID NO:80),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:FQGSHPPT (SEQ ID NO:68);
- [0029] 或者,LCDR1:QDINNY (SEQ ID NO:81),LCDR2:YTS (SEQ ID NO:82),LCDR3:QQGKTFPT (SEQ ID NO:83);

[0030] 或者,LCDR1:QSVDYDGDSY (SEQ ID NO:84),LCDR2:AAS (SEQ ID NO:65),LCDR3:QQSNEDPWT (SEQ ID NO:66);

[0031] 或者,LCDR1:QSIVHSNGNTY (SEQ ID NO:85),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:FQGSHPPT (SEQ ID NO:68);

[0032] 或者,LCDR1:KSLHNGITY (SEQ ID NO:86),LCDR2:QMS (SEQ ID NO:78),LCDR3:AQNLELPH (SEQ ID NO:79);

[0033] 或者,LCDR1:QSVDDYGDNY (SEQ ID NO:87),LCDR2:AAS (SEQ ID NO:65),LCDR3:QQSNEDPWT (SEQ ID NO:66)。

[0034] 根据本发明提供的抗IL-11R抗体,所述HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列是按照Kabat标准进行分析得到的。

[0035] 在一些实施方式中,所述HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3选自下组:

[0036] HCDR1:GFTFSSYT (SEQ ID NO:28),HCDR2:ISSGGSYT (SEQ ID NO:29),HCDR3:AREYDGFAY (SEQ ID NO:30),LCDR1:QSLVFSNGNTY (SEQ ID NO:61),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:SQMTHVPYT (SEQ ID NO:63);

[0037] 或者,HCDR1:GFTFSDFY (SEQ ID NO:31),HCDR2:SRDNTKDYTT (SEQ ID NO:32),HCDR3:ARAHYYGFGAMDY (SEQ ID NO:33),LCDR1:QSVDDYDGDSY (SEQ ID NO:64),LCDR2:AAS (SEQ ID NO:65),LCDR3:QQSNEDPWT (SEQ ID NO:66);

[0038] 或者,HCDR1:GFTFSSSA (SEQ ID NO:34),HCDR2:VSSGGTYT (SEQ ID NO:35),HCDR3:ARHSPDDGYFVDY (SEQ ID NO:36),LCDR1:QNIVHSNGNTY (SEQ ID NO:67),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:FQGSHPPT (SEQ ID NO:68);

[0039] 或者,HCDR1:GFIFSDYG (SEQ ID NO:37),HCDR2:ISNLAYSF (SEQ ID NO:38),HCDR3:VRADEGLGY (SEQ ID NO:39),LCDR1:QTLVDSNVNNY (SEQ ID NO:69),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:SQSTHVPWT (SEQ ID NO:70);

[0040] 或者,HCDR1:GYSFTGYT (SEQ ID NO:40),HCDR2:INPDNGGI (SEQ ID NO:41),HCDR3:AINYYGLDY (SEQ ID NO:42),LCDR1:QSIVHSTGVTY (SEQ ID NO:71),LCDR2:RVS (SEQ ID NO:72),LCDR3:FQGSHPVT (SEQ ID NO:73);

[0041] 或者,HCDR1:GFNIKNNY (SEQ ID NO:43),HCDR2:VDPENGNT (SEQ ID NO:44),HCDR3:VLYRYGFAY (SEQ ID NO:45),LCDR1:TGAVTTSNY (SEQ ID NO:74),LCDR2:GTN (SEQ ID NO:75),LCDR3:VLWHSNHV (SEQ ID NO:76);

[0042] 或者,HCDR1:GYAFTNYL (SEQ ID NO:46),HCDR2:ISPDNGNT (SEQ ID NO:47),HCDR3:ARNRYGIDS (SEQ ID NO:48),LCDR1:KSLHNSNGITY (SEQ ID NO:77),LCDR2:QMS (SEQ ID NO:78),LCDR3:AQNLELPH (SEQ ID NO:79);

[0043] 或者,HCDR1:GYTFRNYG (SEQ ID NO:49),HCDR2:INTFTGEP (SEQ ID NO:50),HCDR3:AREELRSGHYGFAC (SEQ ID NO:51),LCDR1:QSIVFSNGITY (SEQ ID NO:80),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:FQGSHPPT (SEQ ID NO:68);

[0044] 或者,HCDR1:GFTLSSYT (SEQ ID NO:52),HCDR2:ISSGGSYI (SEQ ID NO:53),HCDR3:TRDLGNDFTYYFDS (SEQ ID NO:54),LCDR1:QDINNY (SEQ ID NO:81),LCDR2:YTS (SEQ ID NO:82),LCDR3:QQGKTFPT (SEQ ID NO:83);

[0045] 或者,HCDR1:GFTFSDFY (SEQ ID NO:31),HCDR2:SRDKAKDYTT (SEQ ID NO:55),

HCDR3:ARVHYGFGAMDY (SEQ ID NO:56),LCDR1:QSVVDYDGDYSY (SEQ ID NO:84),LCDR2:AAS (SEQ ID NO:65),LCDR3:QQSNEDPWT (SEQ ID NO:66);

[0046] 或者,HCDR1:GFTFSYIA (SEQ ID NO:57),HCDR2:ISSSGRYT (SEQ ID NO:58),HCDR3:ARTDGYYPDY (SEQ ID NO:59),LCDR1:QSIVHSNGNTY (SEQ ID NO:85),LCDR2:KVS (SEQ ID NO:62),LCDR3:FQGSHPPT (SEQ ID NO:68);

[0047] 或者,HCDR1:GYAFTNYL (SEQ ID NO:46),HCDR2:ISPDNGNT (SEQ ID NO:47),HCDR3:ARNRYGIDY (SEQ ID NO:60),LCDR1:KSLHNNGITY (SEQ ID NO:86),LCDR2:QMS (SEQ ID NO:78),LCDR3:AQNLELPHT (SEQ ID NO:79);

[0048] 或者,HCDR1:GFTFSDFY (SEQ ID NO:31),HCDR2:SRDNTKDYTT (SEQ ID NO:32),HCDR3:ARAHYGFGAMDY (SEQ ID NO:33),LCDR1:QSVVDYGDNY (SEQ ID NO:87),LCDR2:AAS (SEQ ID NO:65),LCDR3:QQSNEDPWT (SEQ ID NO:66)。

[0049] 在一些实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列如下组中的任一所示:SEQ ID NO:1-13。

[0050] 在一些实施方式中,所述轻链可变区的氨基酸序列下组中的任一所示:SEQ ID NO:14-26。

[0051] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:1,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:14。

[0052] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:2,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:15。

[0053] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:3,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:16。

[0054] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:4,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:17。

[0055] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:5,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:18。

[0056] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:6,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:19。

[0057] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:7,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:20。

[0058] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:8,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:21。

[0059] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:9,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:22。

[0060] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:10,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:23。

[0061] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:11,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:24。

[0062] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:12,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:25。

[0063] 在某实施方式中,所述重链可变区的氨基酸序列为SEQ ID NO:13,所述轻链可变区的氨基酸序列为ID NO:26。

[0064] 在一些实施方式中,所述抗IL-11R抗体为全长抗体、Fab片段、F(ab)₂片段、双链Fv片段或单链Fv片段

[0065] 在一些实施方式中,所述抗IL-11R抗体为单克隆抗体。

[0066] 在一些实施方式中,所述抗IL-11R抗体为IgG1, IgG2a, IgG2b或IgG3亚型。

[0067] 在一些实施方式中,所述抗IL-11R抗体还包括选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚型的重链恒定区。

[0068] 在某实施方式中,所述重链恒定区为IgG1亚型。

[0069] 在某实施方式中,所述重链恒定区包括如SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列。

[0070] 在一些实施方式中,所述抗IL-11R抗体还包括选自Kappa或Lambda亚型的轻链恒定区。

[0071] 在某实施方式中,所述轻链恒定区为Kappa亚型。

[0072] 在某实施方式中,所述轻链恒定区包括如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列。

[0073] 本发明的第二方面,提供一种核酸分子,其编码本发明所述的抗IL-11R抗体。

[0074] 本发明的第三方面,提供一种载体,其包含本发明所述的核酸分子。

[0075] 本发明的第四方面,提供一种宿主细胞,其含有本发明所述核酸分子,或包含本发明所述的载体。

[0076] 本发明的第五方面,提供一种药物组合物,其包含本发明所述的抗IL-11R抗体以及药学可接受的载体;其中本发明所述的抗IL-11R抗体以治疗有效剂量存在。

[0077] 本发明的第六方面,提供一种本发明所述的抗IL-11R抗体的制备方法,包括以下步骤:使本发明第四方面所述的宿主细胞表达本发明所述的抗IL-11R抗体,和分离纯化得到所述抗IL-11R抗体。

[0078] 本发明的第七方面,提供本发明所述的抗IL-11R抗体在制备用于预防、缓解或治疗具有纤维化病症的疾病的药物中的用途。

[0079] 在一些实施方式中,所述纤维化病症指受试者的组织或器官发生纤维化增生的症状。

[0080] 在一些实施方式中,所述纤维化病症为选自肝、胆、肺、肾、膀胱、心脏、血管、眼、皮肤、胰腺、胃肠、骨髓、阴茎、乳腺、或肌肉的纤维化病症。

[0081] 在一些实施方式中,所述具有纤维化病症的疾病包括矽肺、石棉肺、煤肺、肺结核、病毒性肺炎、肺囊虫感染、继发性肺疾病、特发性间质性肺炎(包括特发性肺纤维化等)、闭塞性细支气管炎伴机化性肺炎、肺淋巴管平滑肌瘤、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、进行性系统硬化症、多肌炎、皮肌炎、混合型结缔组织病、弥漫性肺泡出血综合征、肺泡蛋白沉积症、嗜酸粒细胞性肺炎、肺血管炎、淋巴细胞间质性肺炎、缺血性心脏疾病、高血压性心脏病、病毒性心肌炎、血色病性心肌病、淀粉样变心肌病、糖原累积性心肌病、糖尿病性心肌病、扩张性心肌病、肥厚性心肌病、限制性心肌病、肝硬化(包括病毒性肝硬化、血吸虫性肝硬化、酒精性肝硬化、胆汁性肝硬化、代谢性肝硬化、中毒性肝硬化、营养不良性肝硬化、心源性肝硬化等)、急性胰腺炎、胰管梗阻、肾小球肾炎、肾盂肾炎、肾结石、高尿酸尿症、高钙尿症、脾纤维增生疾病、视网眼膜纤维增生、骨髓纤维化等。

[0082] 与现有技术相比,本发明的技术方案具有以下优点:本发明提供了一种抗IL-11R抗体,经结合活性检测、竞争性阻断活性检测,该抗体对于IL-11R具有较高的中和活性。在本发明提供的抗IL-11R抗体的作用下,可有效抑制肺成纤维细胞HFL-1的纤维化,而且该抗IL-11R抗体具有良好的热稳定性,在用于纤维化相关疾病的治疗方面,具有良好的临床应用前景。

附图说明

[0083] 通过阅读下文优选实施方式的详细描述,各种其他的优点和益处对于本领域普通技术人员将变得清楚明了。附图仅用于示出优选实施方式的目的,而并不认为是对本发明的限制。在附图中:

[0084] 图1:抗IL-11R抗体与IL-11R结合活性的检测结果;

[0085] 图2:抗IL-11R抗体的竞争性阻断活性的检测结果;

[0086] 图3:在抗IL-11R抗体的作用下,TGF-beta诱导HFL-1细胞表达ACTA的Western Blot检测结果;

[0087] 图4:在浓度为5 μ g/mL和25 μ g/mL的抗IL-11R抗体的作用下,TGF-beta诱导HFL-1细胞表达ACTA的Western Blot检测结果;

[0088] 图5:抗IL-11R抗体与IL-11R结合亲和力的检测结果图;

[0089] 图6:抗IL-11R抗体的热稳定性检测结果图。

具体实施方式

[0090] 下面将参照附图更详细地描述本公开的示例性实施方式。虽然附图中显示了本公开的示例性实施方式,然而应当理解,可以以各种形式实现本公开而不应被这里阐述的实施方式所限制。相反,提供这些实施方式是为了能够更透彻地理解本公开,并且能够将本公开的范围完整的传达给本领域的技术人员。

[0091] 除非另外指明,本文的实施例采用本领域常规的分子生物学、微生物学、细胞生物学、生物化学以及免疫学技术。

[0092] 除非另外指明,本申请中所用的术语具有本领域技术人员通常所理解的含义。

[0093] 如本文中使用的,术语“抗体”是指能够经由至少一个位于免疫球蛋白分子的可变区中的抗原识别位点特异性结合到靶的免疫球蛋白分子。本文所使用的“抗体”不仅包括完整的(即全长的)抗体,而且还包括其抗原结合片段(例如Fab、Fab₂、F(ab)₂、Fv)、其变体、包含抗体部分的融合蛋白、人源化抗体、嵌合抗体、双抗体、线性抗体、单链抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)及任何其他包含所需特异性的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的修改配置,包括抗体的糖基化变体、抗体的氨基酸序列变体及共价修饰的抗体。

[0094] 通常,完整或全长的抗体包含两个重链和两个轻链。每个重链含有重链可变区(VH)和重链恒定区(CH)。每个轻链含有轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)。全长的抗体可以是任何种类的抗体,例如IgD、IgE、IgG、IgA或IgM(或上述的子类),但抗体不需要属于任何特定的类别。根据重链的恒定域的抗体氨基酸序列,可以将免疫球蛋白指定为不同的类别。通常,免疫球蛋白有五种主要的类别:IgA、IgD、IgE、IgG及IgM,而且这些类别中有几个可以再被进一步区分成子类,例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。

[0095] 如本文中使用的,术语“抗原结合部分”是指负责结合抗原的完整抗体分子的一部分或区域。抗原结合部分可以包含重链可变区(VH)、轻链可变区(VL)或上述两者。本领域技术人员公知,VH和VL中的每个通常含有三个互补决定区CDR1、CDR2及CDR3,其是可变区中对抗体的亲和力和特异性影响最大的区域。对于给定抗体的可变区氨基酸序列,可以通过本领域公知的方式分析得到可变区氨基酸序列的中CDR氨基酸序列。

[0096] 如本文所用,术语“载体”是指可以在其中插入多核苷酸的核酸媒介物。当载体允许插入其中的多核苷酸编码的蛋白质的表达时,该载体称为表达载体。该载体可以通过转化、转导或转染入宿主细胞而使携带的遗传物质元件在宿主细胞中表达。载体是本领域技术人员所熟知的,包括但不限于质粒,噬菌体,粘粒,人工染色体如酵母人工染色体(YAC),细菌人工染色体(BAC)或P1衍生人工染色体(PAC);噬菌体如 λ 噬菌体或M13噬菌体和动物病毒。可用作载体的动物病毒包括但不限于逆转录病毒(包括慢病毒),腺病毒,腺伴随病毒,疱疹病毒(如单纯疱疹病毒),痘病毒,杆状病毒,乳头瘤病毒,乳多空病毒(如SV40)。载体可以包含用于控制表达的多个元件,包括但不限于启动子序列,转录起始序列,增强子序列,选择元件和报告基因。另外,载体可以包含复制起点。

[0097] 本文中,“宿主细胞”指已引入外源核酸的细胞,包括这类细胞的后代。宿主细胞包括初始转化的细胞和自其衍生的后代(不考虑传代数)。后代在核酸内含物上可能与亲本细胞不完全相同,但可以含有突变。本文中包括具有如原始转化细胞中筛选或选择的相同的功能或生物学活性的突变体后代。宿主细胞是能用于生成本发明的融合蛋白的任意类型的细胞系统。宿主细胞包括哺乳动物培养细胞如CHO细胞、BHK细胞、NS0细胞、SP2/0细胞、YO骨髓瘤细胞、P3X63小鼠骨髓瘤细胞、PER细胞、PER.C6细胞或杂交瘤细胞、酵母细胞、细菌细胞如大肠杆菌,昆虫细胞和植物细胞等,而且还包括在转基因动物、转基因植物或培养的植物或动物组织中包含的细胞。

[0098] 本文中,“药物组合物”指其形式使得容许其中含有的活性成分的生物学活性有效,且不含对会接受药物组合物施用的受试者有不可接受的毒性的别的成分的制剂。

[0099] 本文中,“治疗有效量”指有效实现期望的治疗或预防结果的量,期望的治疗或预防结果包括例如消除、降低、延迟、最小化或预防疾病的不良作用。

[0100] 本文中,“药学上可接受的载体”指药物组合物中活性成分以外的对受试者无毒的成分。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0101] 本文中,“治疗”指试图改变治疗个体中疾病的自然进程,并且可以是为了预防或在临床病理学的过程期间实施的临床干预。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发、缓解症状、降低疾病的任何直接或间接病理学后果、减缓疾病进展速率、改善或消除疾病状态、及消退或改善的预后。

[0102] 本文中,“个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于灵长类(例如人和非人灵长类如猴)或其他哺乳动物(例如牛、羊、猫、犬、马、兔和啮齿动物如小鼠和大鼠)。特别地,所述个体或受试者是人。

[0103] 本文中,使用天然氨基酸的常规单字母或三字母代码:

	丙氨酸 (Ala, A)	精氨酸 (Arg, R)
	天冬酰胺 (Asn, N)	天冬氨酸 (Asp, D)
	半胱氨酸 (Cys, C)	谷氨酸 (Glu, E)
	谷氨酰胺 (Gln, Q)	甘氨酸 (Gly, G)
[0104]	组氨酸 (His, H)	异亮氨酸 (Ile, I)
	亮氨酸 (Leu, L)	赖氨酸 (Lys, K)
	甲硫氨酸 (Met, M)	苯丙氨酸 (Phe, F)
	脯氨酸 (Pro, P)	丝氨酸 (Ser, S)
	苏氨酸 (Thr, T)	色氨酸 (Trp, W)
	酪氨酸 (Tyr, Y)	缬氨酸 (Val, V)

[0105] 在本发明的一些实施例中,提供抗IL-11R抗体的重链可变区的氨基酸序列包括 SEQ ID NO:1-13,参见表1所示;提供人源化抗PDL1抗体的轻链可变区的氨基酸序列包括 SEQ ID NO:14-26,参见表2所示。

[0106] 表1抗IL-11R抗体的重链可变区

编号	序列
[0107] SEQ ID NO: 1	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRL DWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRSED AMYVCAREDYDGFAYWGQGLVT
SEQ ID NO: 2	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFSDFYMEWVRQPPGKRL EWIAASRDNTKDYTTTEYSASVKGRFIVSRDTSQGILYLQMNALRPE DTAIFYCARAHYYGFGAMDYWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO: 3	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSSALSWVRQTPEKRLD WVATVSSGGTYTYFPDSMKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRSED

	AMYTCARHSPDDGYFVDYWGQGLTVTVSA
SEQ ID NO: 4	EVKLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFIFSDYGMWVRQAPGKGP EWWAFISNLAYSFYADTVTGRFTISRENAKNTLYLEMSSLRSEDTA MYSCVRADEGLGYWGQGLTVTVSA
SEQ ID NO: 5	EVQLQQSGPVLVTPGASMKISCKASGYSTGYTMNWVRQSHGKN LEWIGLINPDNGGIRYNQKFKDKATLTLDKSSSTAYMELLSLTSEDS AVYFCAINYGLDYWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO: 6	EVQLQQSGAELVRPGALVKLSCNASGFNIKNYIHWVRRRPEQGL EWIGWVDPENGNTVYAPKFDKASMTADTSSNTADLQLSSLTSED TAVYYCVLYRYGFAYWGQGLTVTVSA
SEQ ID NO: 7	QVQLHQSGAELVRPGTSVKVSCASGYAFTNYLIEWIKRPGQGL EWWGIISPDNGNTNYNEKFKGKATLTADRSSTAYMQLSSLTSDDS AVYFCARNRYGIDSWGQGTTLTAPQ
SEQ ID NO: 8	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRNYGMNWVKQAPGKGL KWMGWINTFTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDT ATYFCAREELRSGHYGFACWGQGLTVTVSA
SEQ ID NO: 9	DVKLVESGGGLVKPGGSLKFSKASGFTLSSYTMSWVRQTPEKRL EWWATISSGGSYIYADSVKGRSTISRDDANNTLYLQMSLKSQDGA VYYCTRDLDGNDFTYFDSWGQGTTLTV
SEQ ID NO: 10	EVKLVESGGGLLQPGGSLRLSCATSGFTFSDFYMEWVRQPPGKRL WIAASRDKAKDYTTEYSASVKGRFIVSRDTSQNILYLQMNALRAE DTAIYYCARVHYGFGAMDYWGQGTSVTVSH
SEQ ID NO: 11	EVMLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSYYAMSWVRQTPEKRL EWWATISSSGRYTYYPDSVKGRFTISRDNKATTLYLQMSLRSSEDTA MYYCARTDGYYPDYWGQGTTLTVSQ
SEQ ID NO: 12	QVQLHQSGAELVRPGTSVKVSCASGYAFTNYLIEWIKRPGQGL EWIGVISPDNGNTNYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSDDS AVYFCARNRYGIDYWGQGTTLTVSH
SEQ ID NO: 13	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFSDFYMEWVRQPPGKRL EWIAASRDNTKDYTTEYSASVKGRFIVSRDTSQGILYLQMNALRPE DTAIFYCARAHYYGFGAMDYWGQGTSVTVSS

[0108] 表2抗IL-11R抗体的轻链可变区

编号	序列
[0110] SEQ ID NO: 14	DVVMQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSLVFSNGNTYLHWYLQKPG QSPKLLIYKVSTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISGVEAEDLG VYFC SQMTHVPYTFGGG TKLEIKVSA
SEQ ID NO: 15	DIVLTQSPASLAMS LGQRATISCKASQSVDYYGDSYMNWYQQKPG QPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ QSNEDPWTFGGG TKLKSN
SEQ ID NO: 16	DVLMTQAPLSLPVSLGNQASISCRSSQNIVHSNGNTYLEWYLQKP GQSPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VY YCFQGSHPPTFGAGTRLELK
SEQ ID NO: 17	DVVMQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQTLVDSNVNNYLHWYLQKP
	GQSPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYF CSQSTHVPWTFGGG TKLEIK
SEQ ID NO: 18	DVLLTQSPLSLPVS LGDQASISCRSSQSIVHSTGVTYLEWYLQKPGQ SPKLLIYRVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG LYYCF QGSHVPVTFGAGTKLELK
SEQ ID NO: 19	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLF TSLIGGTNNRTPGV PARFSGSLIGDKAALITGAQTEDEAIYFCVLW HSNHVWVFGGG TKLTVL
SEQ ID NO: 20	DIVMTQAAFSNPVTLGTSVSI SCRSSK SLLHSNGITYLYWYLQKPG QSPQVLINQMSNLASGV PDRFSSSGSGTDFTLGISRVEAEDVG VYY CAQNLELPHTFGGG TKLEIK
SEQ ID NO: 21	DVLMTQTPSLPVS LGDQASISCRSSQSIVFSNGITYLEWYLQKPGQ SPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG LYYCF QGSHVPPTFGGG TKLEIK
[0111] SEQ ID NO: 22	EIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDINNYLNWYQQKPDGTVKL LIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYFLTITSLEQEDVATYFCQQGKT FPTFGGG SKLKSN
SEQ ID NO: 23	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGD SYMNWYQQKPG QPPKVLIIYAASNLESGITARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QQSNEDPWTFGGG TKLEIK
SEQ ID NO: 24	DVLMTQTPSLPVS LGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPG QSPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYYC FQGSHPPTFGGG TKLKSN
SEQ ID NO: 25	DIVMTQAAFSNPVTLGTSVSI SCRSSK SLLHNNGITYLYWYLQKPG QSPQVLINQMSNLASGV PDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVG VYY CAQNLELPHTFGGG TKLEIK
SEQ ID NO: 26	EFDGSASLHACRSTATISCKASQSVDYYGDNYMNWYQQKPGQPP KLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQS NEDPWTFGGG TKLEIK

[0112] 在本发明的一些实施例中,提供抗IL-11R抗体参见表3所示,表3中所示的抗体的编号(命名)及简写代号在下文中继续使用。

[0113] 表3抗IL-11R抗体可变区序列

编号 (命名)	简写 代号	重链可变区 (SEQ ID NO:)	轻链可变区 (SEQ ID NO:)
8A6-2G8-4G10	1#	1	14
30G2-3D7-2E7	2#	2	15
1A5-5C2-5C12	3#	3	16
1A5-1D2-3G8	4#	4	17
1A11-2A6-4D6	5#	5	18
58B10-9C3-4E5	6#	6	19
23D7-4F5-1E10	7#	7	20
36F2-2A4-3D3	8#	8	21
59E4-6D5-1B11	9#	9	22
10C1-3G3-2F12	10#	10	23
28D7-1A7-2H12	11#	11	24
29F10-4B2-3B10	12#	12	25
18B4-3D12-1E6	13#	13	26

[0116] 实施例1抗原的制备

[0117] 设计从氨基端到羧基端依次为信号肽、人IL-11RA蛋白胞外结构域和人IgG1 Fc的融合蛋白,其中,所述信号肽的氨基酸序列为SEQ ID NO:27的第1-21位,人IL-11RA蛋白胞外结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:27的第22-367位。将编码该融合蛋白的核酸序列构建到pcDNA3.4载体上,得到表达载体pcDNA3.4-IL11R-Fc;采用瞬转的方法(ExpiFectamine CHO Transfection Kit,Thermo Fisher;货号:A29129),将pcDNA3.4-IL11R-Fc转染至哺乳动物细胞CHO进行表达14天;待表达完成收获细胞上清液,采用Protein A纯化柱(GE Healthcare,Cat:17040201)进行纯化;经超滤后获得用于免疫动物的重组蛋白抗原IL-11R-Fc。

[0118] 实施例2动物免疫

[0119] 取雌性Balb/c小鼠(购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司),将实施例1制备得到的重组蛋白抗原IL-11R-Fc与免疫佐剂充分乳化后进行动物免疫,免疫流程如表4所示。

[0120] 表4免疫动物安排表

	免疫时间点 (Day)	免疫原剂量	免疫方式
[0121]	0	50 μ g IL-11R-Fc 与 CFA 等体积混合	腹腔多点注射
	14	50 μ g IL-11R-Fc 与 IFA 等体积混合	腹腔多点注射
	28	50 μ g IL-11R-Fc 与 IFA 等体积混合	腹腔多点注射
	35	无	眼眶采血
[0122]	38	50 μ g IL-11R-Fc	尾静脉注射
	41	无	小鼠处死取脾脏

[0123] 第35天收获少量的小鼠眼眶血,采用常规的ELISA方法进行抗体效价检测;第41天处死小鼠取脾脏,获得分离的小鼠脾细胞,用于实施例3。

[0124] 实施例3抗体分泌细胞融合与筛选

[0125] 将实施例2分离得到的小鼠脾细胞与永生化的小鼠骨髓瘤细胞SP2/0进行融合,将得到的融合细胞铺于96孔板中加压筛选静置培养约14天。其中96孔板中培养基按如下配方进行配置:1 \times HAT培养基添加剂(Gibco,H0137-10VL)、10%Hybridoma Feeder添加因子(博奥龙,CM-2001)、1 \times L-Glutamine 200mM(Gibco,25030-081)、1 \times Penicillin-Streptomycin(Gibco,15140-122)和10%FBS(Gibco,10091-148)的RPMI 1640培养基。待融合细胞长出克隆团后取细胞上清进行抗原结合ELISA筛选。通过ILISA筛选得到可与IL-11R-his结合的融合细胞团转入24孔板中培养3天,然后取上清再次进行ELISA亲和检测。将两次ELISA检测均与抗原有结合的细胞转入6孔板中培养。培养3天后取其上清,再进行流式细胞术测定抗原抗体的竞争结合,选出高分泌特异性抗体细胞株进行扩大培养及冻存。筛选得到17个高亲和及具有高中和活性的阳性细胞株,编号分别为:55A3、58B10、59E4、1A5、1A11、7B12、8A6、23D7、28D7、29F10、32A3、36F2、23A10、30G2、10C1、15H11、18B4,用于实施例4的亚克隆。

[0126] 实施例4阳性细胞株的亚克隆

[0127] 将实施例3得到的17个阳性细胞株进行亚克隆。吹打混匀阳性孔中细胞,计数板计数活细胞数量;以1个细胞/孔的密度,每个杂交瘤融合细胞团亚克隆铺板4块96孔板,培养基为RPMI Medium 1640培养基+10%FBS+10%Hybridoma Feeder添加因子+(1X)L-Glutamine 200mM+(1X)HT Supplement(Gibco,11067030)+(1X)Penicillin-Streptomycin。培养14天后,取亚克隆细胞培养液的上清进行ELISA检测及流式竞争实验检测,检测结果如表5所示,最终获得单个抗体分泌细胞来源的单克隆抗体。

[0128] 表5ELISA亲和实验及流式竞争实验检测结果

	杂交瘤细胞 编号	亚克隆细胞编号	简写 代号	ELISA OD450nm	流式 (FITC-Mean)
[0129]					

	55A3	N/A				
	8A6	8A6-2G8-4G10	1#	0.842	2101	
	30G2	30G2-3D7-2E7	2#	0.82	1717	
[0130]	1A5	1A5-5C2-5C12	3#	0.626	1854	
		1A5-1D2-3G8	4#	0.811	1652	
	1A11	1A11-2A6-4D6	5#	0.853	1888	
	7B12	N/A				
	58B10	58B10-9C3-4E5	6#	0.624	1745	
	23D7	23D7-4F5-1E10	7#	0.635	1955	
	15H11	N/A				
	36F2	36F2-2A4-3D3	8#	0.822	1946	
	23A10	N/A				
	59E4	59E4-6D5-1B11	9#	0.622	1952	
	10C1	10C1-3G3-2F12	10#	0.791	1868	
	28D7	28D7-1A7-2H12	11#	0.769	2110	
	29F10	29F10-4B2-3B10	12#	0.99	1936	
	32A3	N/A				
		18B4	18B4-3D12-1E6	13#	0.891	2144
		流式阻断阳性对照				5682

[0131] 其中,N/A表示杂交瘤细胞经两轮亚克隆化后,仍未获得与IL-11R具有明显亲和力的亚克隆株。

[0132] 实施例5单克隆抗体序列测定

[0133] 本实施例对实施例4获得的亚克隆细胞所表达的抗体进行测序,具体步骤包括:取 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 个细胞,用Takara MiniBEST Universal RNA Extraction Kit试剂盒提取总RNA,用PrimeScript RT Reagent Kit (Takara公司)试剂盒反转录得到cDNA。以上步骤按照厂家提供的说明书进行。抗体重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)的基因扩增引物根据Ig-Primer Sets (Novagen公司,货号:69831-3)设计得到并由华大基因公司合成。从cDNA第一链中扩增重链可变区和轻链可变区基因,克隆至pMD18-T载体中,得到重链可变区和轻链可变区的表达载体,将其转化至大肠杆菌DH5 α 后,挑取单克隆由华大基因公司测序获得重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)基因序列。测序得到的抗体序列如表3所示。

[0134] 实施例6抗体亚型鉴定

[0135] 将实施例4筛选得到的抗体对应的单克隆杂交瘤细胞株注射到Balb/C小鼠中进行腹水抗体的生产,然后采用protein G进行纯化。利用纯化的抗体进行抗体亚型分析,抗体亚型检测方法采用试剂盒(Proteintech,KMIM-2)进行检测,结果如表6所示。

[0136] 表6抗体亚型鉴定ELISA结果

简写代号	亚克隆编号	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3	IgM
1#	8A6-2G8-4G10	0.423	0.027	0.042	0.046	0.03
2#	30G2-3D7-2E7	0.731	0.026	0.036	0.041	0.029
3#	1A5-5C2-5C12	0.721	0.027	0.039	0.044	0.035
4#	1A5-1D2-3G8	0.31	0.026	0.276	0.051	0.035
5#	1A11-2A6-4D6	0.685	0.03	0.043	0.068	0.031
6#	58B10-9C3-4E5	0.236	0.028	0.305	0.048	0.042
[0137] 7#	23D7-4F5-1E10	0.66	0.032	0.232	0.107	0.046
8#	36F2-2A4-3D3	0.681	0.031	0.047	0.058	0.044
9#	59E4-6D5-1B11	0.109	0.037	0.259	0.05	0.051
10#	10C1-3G3-2F12	0.818	0.039	0.054	0.058	0.048
11#	28D7-1A7-2H12	0.374	0.03	0.281	0.054	0.035
12#	29F10-4B2-3B10	0.687	0.037	0.055	0.051	0.041
13#	18B4-3D12-1E6	0.618	0.03	0.055	0.054	0.036
P.C.		0.73	0.051	0.561	0.902	0.061
N.C		0.035	0.052	0.064	0.066	0.055

[0138] 实施例7抗体全长表达

[0139] 将实施例6中获得的13株抗体的可变区序列分别进行全长(IgG)形式抗体的构建及表达。其中,抗体重链恒定区为IgG1亚型,其氨基酸序列如SEQ ID NO:88所示;抗体轻链恒定区为Kappa亚型,其氨基酸序列如SEQ ID NO:89所示。基因的序列合成委托华大基因公司进行。获得抗体全长基因后,经载体构建后通过CHO细胞进行瞬时转染及表达。

[0140] 实施例8体外结合活性检测

[0141] 本实施例通过流式细胞仪检测本发明提供的抗体与IL-11R的结合活性,包括以下步骤:提供稳定表达IL-11R的细胞株membrane-IL-11R CHO,取实施例6制备得到的抗体,将各抗体进行梯度稀释后与 1×10^5 个membrane-IL-11R CHO孵育1h后,用PBS清洗3次,然后加入流式二抗Goat pAb to Ms IgG(FITC)(Abcam,ab6785),流式细胞仪上机检测。检测结果的曲线图见图1所示,其中横轴为抗体的浓度的log值,纵轴为荧光强度值(MFI),各简写代号对应表6中的亚克隆编号。实验结果表明,本发明提供的各抗体与IL-11R结合的活性有所差异;随着本发明提供的抗体浓度的增加,其与IL-11R结合产生的信号值越强。

[0142] 实施例9体外阻断活性检测

[0143] 本实施例评估了本发明提供的抗体是否能够阻断IL-11与IL-11R的结合,包括以下步骤:提供稳定表达IL-11R的细胞株membrane-IL-11R CHO,提供重组蛋白抗原IL-11R-Fc;取实施例6制备得到的抗体,将各抗体进行梯度稀释后与重组蛋白抗原IL-11R-Fc进行

共孵育1h,然后再与 1×10^5 个membrane-IL-11R CHO室温孵育1h后,用PBS清洗3次,加入流式二抗Goat pAb to Human IgG (FITC) (Abcam, Ab97224),流式细胞仪上机检测。检测结果的曲线图见图2所示,其中横轴为抗体的浓度(log值),纵轴为可表征竞争阻断活性的百分比,该百分比的数值越小表明待测抗体的竞争阻断活性越强,各简写代号对应表6中的亚克隆编号。

[0144] 实施例10抑制肺成纤维细胞HFL-1向纤维化转化的功能检测

[0145] HFL-1细胞作为肺成纤维细胞,当被促纤维化因子如TGF-beta1诱导后会大量表达IL-11细胞因子,最终向纤维化转化。在HFL-1细胞向纤维化转化过程中,标志物ACTA2蛋白会不断累积。

[0146] 在本实例中,将HFL-1肺成纤维细胞按 1.2×10^5 个/孔铺于24孔板中,用无血清培养基饥饿培养过夜;过夜培养后,加入适量TGF-beta1细胞因子,设实验组:分别加入25 μ g/ml工作浓度的7种待测抗体(实施例6制备得到的抗体2#,6#,7#,8#,9#,10#,13#),另设加入25 μ g/ml浓度的IgG的对照组和NC对照组;进行共孵育培养24h后,收取细胞进行裂解。对细胞裂解液采用通用Western Blot方法检测分析,检测结果如图3所示,根据检测结果,在简写代号为6#的抗IL-11R抗体的作用下,HFL-1细胞的ACTA2蛋白表达量显著降低,表明本发明提供的抗IL-11R抗体具有显著抑制HFL-1细胞向纤维化转化的功能。

[0147] 本实施例进一步测试了工作浓度为5 μ g/ml和25 μ g/ml的简写代号为6#的抗IL-11R抗体的抑制纤维化转化效果,除抗体的工作浓度以外,所用实验步骤同上述实验步骤,检测结果如图4所示,根据检测结果,在5 μ g/ml和25 μ g/ml两种浓度下,本发明提供的抗IL-11R抗体均具有明显的抑制HFL-1细胞向纤维化转化的功能。

[0148] 实施例11抗原结合亲和力的测定

[0149] 本实施例应用生物膜干涉技术(BLI)对本发明提供的抗体与抗原结合的亲和力进行了测定,包括以下步骤:提供IL-11R-His蛋白,并稀释为5个浓度梯度(625nM、312.5nM、156.2nM、78.1nM、39.1nM);对简写代号为6#的抗IL-11R抗体进行生物素化标记;采用SA传感器捕获生物素化的抗IL-11R抗体,梯度浓度的IL-11R-His蛋白作为分析物,结合时间为200s,解离时间为1000s,缓冲液为20mM PBS,0.15M NaCl,0.1%BSA,0.05%Tween 20,pH7.4。通过BLI动力学/亲和力软件分析,获得简写代号为6#的抗IL-11R抗体与IL-11R的亲和力常数(KD),具体结果见表7和图5所示。

[0150] 表7抗IL-11R抗体与IL-11R的亲和力检测结果

[0151]	KD (M)	kon (1/MS)	kdis (1/s)	Full R ²
	4.24E-09	1.83E+04	7.76E-05	0.998472

[0152] 实施例12热稳定性实验

[0153] 本实施例通过MicroCal™ VP-Capillary DSC系统进行本发明提供的抗IL-11R抗体的热稳定性进行分析测定,包括以下步骤:用PBS缓冲液将简写代号为6#的抗IL-11R抗体稀释至0.4mg/ml,测定条件为:升温速率90 $^{\circ}$ C/h,温度范围25-110 $^{\circ}$ C。检测结果如表8和图6所示。

[0154] 表8抗IL-11R抗体的Tm值

[0155]	Thalf	DH	TmOnset	Tm1	Tm2
	5.62	315000	56.75	68.52	75.2

[0156] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到的变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应以所述权利要求的保护范围为准。

[0039] Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Thr Ser Gln Gly Ile
 [0040] 65 70 75 80
 [0041] Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile Phe
 [0042] 85 90 95
 [0043] Tyr Cys Ala Arg Ala His Tyr Tyr Gly Phe Gly Ala Met Asp Tyr Trp
 [0044] 100 105 110
 [0045] Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 [0046] 115 120
 [0047] <210> 3
 [0048] <211> 120
 [0049] <212> PRT
 [0050] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0051] <400> 3
 [0052] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 [0053] 1 5 10 15
 [0054] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser
 [0055] 20 25 30
 [0056] Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Asp Trp Val
 [0057] 35 40 45
 [0058] Ala Thr Val Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Phe Pro Asp Ser Met
 [0059] 50 55 60
 [0060] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 [0061] 65 70 75 80
 [0062] Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 [0063] 85 90 95
 [0064] Ala Arg His Ser Pro Asp Asp Gly Tyr Phe Val Asp Tyr Trp Gly Gln
 [0065] 100 105 110
 [0066] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 [0067] 115 120
 [0068] <210> 4
 [0069] <211> 116
 [0070] <212> PRT
 [0071] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0072] <400> 4
 [0073] Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0074] 1 5 10 15
 [0075] Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asp Tyr
 [0076] 20 25 30
 [0077] Gly Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val

[0078]	35	40	45
[0079]	Ala Phe Ile Ser Asn Leu Ala Tyr Ser Phe Tyr Tyr Ala Asp Thr Val		
[0080]	50	55	60
[0081]	Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0082]	65	70	75
[0083]	Leu Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Ser Cys		
[0084]	85	90	95
[0085]	Val Arg Ala Asp Glu Gly Leu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
[0086]	100	105	110
[0087]	Thr Val Ser Ala		
[0088]	115		
[0089]	<210> 5		
[0090]	<211> 116		
[0091]	<212> PRT		
[0092]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0093]	<400> 5		
[0094]	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Val Leu Val Thr Pro Gly Ala		
[0095]	1	5	10
[0096]	Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr		
[0097]	20	25	30
[0098]	Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile		
[0099]	35	40	45
[0100]	Gly Leu Ile Asn Pro Asp Asn Gly Gly Ile Arg Tyr Asn Gln Lys Phe		
[0101]	50	55	60
[0102]	Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Leu Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr		
[0103]	65	70	75
[0104]	Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys		
[0105]	85	90	95
[0106]	Ala Ile Asn Tyr Tyr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu		
[0107]	100	105	110
[0108]	Thr Val Ser Ser		
[0109]	115		
[0110]	<210> 6		
[0111]	<211> 116		
[0112]	<212> PRT		
[0113]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0114]	<400> 6		
[0115]	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala		
[0116]	1	5	10

[0117]	Leu Val Lys Leu Ser Cys Asn Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asn Tyr
[0118]	20 25 30
[0119]	Tyr Ile His Trp Val Arg Arg Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0120]	35 40 45
[0121]	Gly Trp Val Asp Pro Glu Asn Gly Asn Thr Val Tyr Ala Pro Lys Phe
[0122]	50 55 60
[0123]	Gln Asp Lys Ala Ser Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Asp
[0124]	65 70 75 80
[0125]	Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0126]	85 90 95
[0127]	Val Leu Tyr Arg Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[0128]	100 105 110
[0129]	Thr Val Ser Ala
[0130]	115
[0131]	<210> 7
[0132]	<211> 116
[0133]	<212> PRT
[0134]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0135]	<400> 7
[0136]	Gln Val Gln Leu His Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
[0137]	1 5 10 15
[0138]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
[0139]	20 25 30
[0140]	Leu Ile Glu Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
[0141]	35 40 45
[0142]	Gly Ile Ile Ser Pro Asp Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
[0143]	50 55 60
[0144]	Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[0145]	65 70 75 80
[0146]	Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
[0147]	85 90 95
[0148]	Ala Arg Asn Arg Tyr Gly Ile Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
[0149]	100 105 110
[0150]	Thr Ala Pro Gln
[0151]	115
[0152]	<210> 8
[0153]	<211> 121
[0154]	<212> PRT
[0155]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0156] <400> 8
 [0157] Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 [0158] 1 5 10 15
 [0159] Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Asn Tyr
 [0160] 20 25 30
 [0161] Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 [0162] 35 40 45
 [0163] Gly Trp Ile Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 [0164] 50 55 60
 [0165] Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 [0166] 65 70 75 80
 [0167] Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 [0168] 85 90 95
 [0169] Ala Arg Glu Glu Leu Arg Ser Gly His Tyr Gly Phe Ala Cys Trp Gly
 [0170] 100 105 110
 [0171] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 [0172] 115 120
 [0173] <210> 9
 [0174] <211> 120
 [0175] <212> PRT
 [0176] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0177] <400> 9
 [0178] Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 [0179] 1 5 10 15
 [0180] Ser Leu Lys Phe Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr
 [0181] 20 25 30
 [0182] Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
 [0183] 35 40 45
 [0184] Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 [0185] 50 55 60
 [0186] Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Asn Asn Thr Leu Tyr
 [0187] 65 70 75 80
 [0188] Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0189] 85 90 95
 [0190] Thr Arg Asp Leu Gly Asn Asp Asp Phe Thr Tyr Tyr Phe Asp Ser Trp
 [0191] 100 105 110
 [0192] Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
 [0193] 115 120
 [0194] <210> 10

[0195]	<211>	122
[0196]	<212>	PRT
[0197]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0198]	<400>	10
[0199]	Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Leu Gln Pro Gly Gly	
[0200]	1	5 10 15
[0201]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe	
[0202]		20 25 30
[0203]	Tyr Met Glu Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile	
[0204]		35 40 45
[0205]	Ala Ala Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala	
[0206]		50 55 60
[0207]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Thr Ser Gln Asn Ile	
[0208]	65	70 75 80
[0209]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr	
[0210]		85 90 95
[0211]	Tyr Cys Ala Arg Val His Tyr Tyr Gly Phe Gly Ala Met Asp Tyr Trp	
[0212]		100 105 110
[0213]	Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser His	
[0214]		115 120
[0215]	<210>	11
[0216]	<211>	117
[0217]	<212>	PRT
[0218]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0219]	<400>	11
[0220]	Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	
[0221]	1	5 10 15
[0222]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr	
[0223]		20 25 30
[0224]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val	
[0225]		35 40 45
[0226]	Ala Thr Ile Ser Ser Ser Gly Arg Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val	
[0227]		50 55 60
[0228]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr	
[0229]	65	70 75 80
[0230]	Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys	
[0231]		85 90 95
[0232]	Ala Arg Thr Asp Gly Tyr Tyr Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr	
[0233]		100 105 110

[0234] Leu Thr Val Ser Gln
 [0235] 115
 [0236] <210> 12
 [0237] <211> 116
 [0238] <212> PRT
 [0239] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0240] <400> 12
 [0241] Gln Val Gln Leu His Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
 [0242] 1 5 10 15
 [0243] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
 [0244] 20 25 30
 [0245] Leu Ile Glu Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 [0246] 35 40 45
 [0247] Gly Val Ile Ser Pro Asp Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 [0248] 50 55 60
 [0249] Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 [0250] 65 70 75 80
 [0251] Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 [0252] 85 90 95
 [0253] Ala Arg Asn Arg Tyr Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
 [0254] 100 105 110
 [0255] Thr Val Ser His
 [0256] 115
 [0257] <210> 13
 [0258] <211> 122
 [0259] <212> PRT
 [0260] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0261] <400> 13
 [0262] Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0263] 1 5 10 15
 [0264] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe
 [0265] 20 25 30
 [0266] Tyr Met Glu Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
 [0267] 35 40 45
 [0268] Ala Ala Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
 [0269] 50 55 60
 [0270] Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Thr Ser Gln Gly Ile
 [0271] 65 70 75 80
 [0272] Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile Phe

[0312]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
[0313]	65 70 75 80
[0314]	Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
[0315]	85 90 95
[0316]	Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Lys Ser Asn
[0317]	100 105 110
[0318]	<210> 16
[0319]	<211> 112
[0320]	<212> PRT
[0321]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0322]	<400> 16
[0323]	Asp Val Leu Met Thr Gln Ala Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
[0324]	1 5 10 15
[0325]	Asn Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
[0326]	20 25 30
[0327]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[0328]	35 40 45
[0329]	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[0330]	50 55 60
[0331]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[0332]	65 70 75 80
[0333]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
[0334]	85 90 95
[0335]	Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Arg Leu Glu Leu Lys
[0336]	100 105 110
[0337]	<210> 17
[0338]	<211> 112
[0339]	<212> PRT
[0340]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0341]	<400> 17
[0342]	Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
[0343]	1 5 10 15
[0344]	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Thr Leu Val Asp Ser
[0345]	20 25 30
[0346]	Asn Val Asn Asn Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[0347]	35 40 45
[0348]	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[0349]	50 55 60
[0350]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

[0351]	65	70	75	80
[0352]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser			
[0353]		85	90	95
[0354]	Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
[0355]		100	105	110
[0356]	<210> 18			
[0357]	<211> 112			
[0358]	<212> PRT			
[0359]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0360]	<400> 18			
[0361]	Asp Val Leu Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly			
[0362]	1	5	10	15
[0363]	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser			
[0364]		20	25	30
[0365]	Thr Gly Val Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
[0366]		35	40	45
[0367]	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro			
[0368]		50	55	60
[0369]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
[0370]	65	70	75	80
[0371]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly			
[0372]		85	90	95
[0373]	Ser His Val Pro Val Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys			
[0374]		100	105	110
[0375]	<210> 19			
[0376]	<211> 109			
[0377]	<212> PRT			
[0378]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0379]	<400> 19			
[0380]	Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu			
[0381]	1	5	10	15
[0382]	Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser			
[0383]		20	25	30
[0384]	Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Ser			
[0385]		35	40	45
[0386]	Leu Ile Gly Gly Thr Asn Asn Arg Thr Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe			
[0387]		50	55	60
[0388]	Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala			
[0389]	65	70	75	80

[0390] Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Val Leu Trp His Ser Asn
 [0391] 85 90 95
 [0392] His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 [0393] 100 105
 [0394] <210> 20
 [0395] <211> 112
 [0396] <212> PRT
 [0397] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0398] <400> 20
 [0399] Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
 [0400] 1 5 10 15
 [0401] Thr Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 [0402] 20 25 30
 [0403] Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 [0404] 35 40 45
 [0405] Pro Gln Val Leu Ile Asn Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 [0406] 50 55 60
 [0407] Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Gly Ile
 [0408] 65 70 75 80
 [0409] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
 [0410] 85 90 95
 [0411] Leu Glu Leu Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 [0412] 100 105 110
 [0413] <210> 21
 [0414] <211> 112
 [0415] <212> PRT
 [0416] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0417] <400> 21
 [0418] Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 [0419] 1 5 10 15
 [0420] Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Phe Ser
 [0421] 20 25 30
 [0422] Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 [0423] 35 40 45
 [0424] Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 [0425] 50 55 60
 [0426] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 [0427] 65 70 75 80
 [0428] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

[0429]		85		90		95
[0430]	Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys					
[0431]		100		105		110
[0432]	<210> 22					
[0433]	<211> 106					
[0434]	<212> PRT					
[0435]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[0436]	<400> 22					
[0437]	Glu Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly					
[0438]	1	5		10		15
[0439]	Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr					
[0440]		20		25		30
[0441]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile					
[0442]		35		40		45
[0443]	Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
[0444]		50		55		60
[0445]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Phe Leu Thr Ile Thr Ser Leu Glu Gln					
[0446]		65		70		75
[0447]	Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Lys Thr Phe Pro Thr					
[0448]		85		90		95
[0449]	Phe Gly Gly Gly Ser Lys Leu Lys Ser Asn					
[0450]		100		105		
[0451]	<210> 23					
[0452]	<211> 111					
[0453]	<212> PRT					
[0454]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[0455]	<400> 23					
[0456]	Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly					
[0457]	1	5		10		15
[0458]	Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp					
[0459]		20		25		30
[0460]	Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro					
[0461]		35		40		45
[0462]	Lys Val Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Thr Ala					
[0463]		50		55		60
[0464]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His					
[0465]		65		70		75
[0466]	Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn					
[0467]		85		90		95

[0468]	Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0469]	100 105 110
[0470]	<210> 24
[0471]	<211> 112
[0472]	<212> PRT
[0473]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0474]	<400> 24
[0475]	Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
[0476]	1 5 10 15
[0477]	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
[0478]	20 25 30
[0479]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[0480]	35 40 45
[0481]	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
[0482]	50 55 60
[0483]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[0484]	65 70 75 80
[0485]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
[0486]	85 90 95
[0487]	Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Lys Ser Asn
[0488]	100 105 110
[0489]	<210> 25
[0490]	<211> 112
[0491]	<212> PRT
[0492]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0493]	<400> 25
[0494]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
[0495]	1 5 10 15
[0496]	Thr Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Asn
[0497]	20 25 30
[0498]	Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[0499]	35 40 45
[0500]	Pro Gln Val Leu Ile Asn Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
[0501]	50 55 60
[0502]	Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
[0503]	65 70 75 80
[0504]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
[0505]	85 90 95
[0506]	Leu Glu Leu Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

[0507]		100		105		110
[0508]	<210>	26				
[0509]	<211>	107				
[0510]	<212>	PRT				
[0511]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)				
[0512]	<400>	26				
[0513]	Glu Phe Asp Gly Ser Ala Ser Leu His Ala Cys Arg Ser Thr Ala Thr					
[0514]	1	5		10		15
[0515]	Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Tyr Gly Asp Asn Tyr					
[0516]		20		25		30
[0517]	Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile					
[0518]		35		40		45
[0519]	Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly					
[0520]		50		55		60
[0521]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu					
[0522]	65	70		75		80
[0523]	Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Trp					
[0524]		85		90		95
[0525]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys					
[0526]		100		105		
[0527]	<210>	27				
[0528]	<211>	367				
[0529]	<212>	PRT				
[0530]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)				
[0531]	<400>	27				
[0532]	Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Leu Ala Ile Leu Lys Gly					
[0533]	1	5		10		15
[0534]	Val Gln Cys Ser Ser Pro Cys Pro Gln Ala Trp Gly Pro Pro Gly Val					
[0535]		20		25		30
[0536]	Gln Tyr Gly Gln Pro Gly Arg Ser Val Lys Leu Cys Cys Pro Gly Val					
[0537]		35		40		45
[0538]	Thr Ala Gly Asp Pro Val Ser Trp Phe Arg Asp Gly Glu Pro Lys Leu					
[0539]		50		55		60
[0540]	Leu Gln Gly Pro Asp Ser Gly Leu Gly His Glu Leu Val Leu Ala Gln					
[0541]	65	70		75		80
[0542]	Ala Asp Ser Thr Asp Glu Gly Thr Tyr Ile Cys Gln Thr Leu Asp Gly					
[0543]		85		90		95
[0544]	Ala Leu Gly Gly Thr Val Thr Leu Gln Leu Gly Tyr Pro Pro Ala Arg					
[0545]		100		105		110

[0546]	Pro Val Val Ser Cys Gln Ala Ala Asp Tyr Glu Asn Phe Ser Cys Thr
[0547]	115 120 125
[0548]	Trp Ser Pro Ser Gln Ile Ser Gly Leu Pro Thr Arg Tyr Leu Thr Ser
[0549]	130 135 140
[0550]	Tyr Arg Lys Lys Thr Val Leu Gly Ala Asp Ser Gln Arg Arg Ser Pro
[0551]	145 150 155 160
[0552]	Ser Thr Gly Pro Trp Pro Cys Pro Gln Asp Pro Leu Gly Ala Ala Arg
[0553]	165 170 175
[0554]	Cys Val Val His Gly Ala Glu Phe Trp Ser Gln Tyr Arg Ile Asn Val
[0555]	180 185 190
[0556]	Thr Glu Val Asn Pro Leu Gly Ala Ser Thr Arg Leu Leu Asp Val Ser
[0557]	195 200 205
[0558]	Leu Gln Ser Ile Leu Arg Pro Asp Pro Pro Gln Gly Leu Arg Val Glu
[0559]	210 215 220
[0560]	Ser Val Pro Gly Tyr Pro Arg Arg Leu Arg Ala Ser Trp Thr Tyr Pro
[0561]	225 230 235 240
[0562]	Ala Ser Trp Pro Cys Gln Pro His Phe Leu Leu Lys Phe Arg Leu Gln
[0563]	245 250 255
[0564]	Tyr Arg Pro Ala Gln His Pro Ala Trp Ser Thr Val Glu Pro Ala Gly
[0565]	260 265 270
[0566]	Leu Glu Glu Val Ile Thr Asp Ala Val Ala Gly Leu Pro His Ala Val
[0567]	275 280 285
[0568]	Arg Val Ser Ala Arg Asp Phe Leu Asp Ala Gly Thr Trp Ser Thr Trp
[0569]	290 295 300
[0570]	Ser Pro Glu Ala Trp Gly Thr Pro Ser Thr Gly Thr Ile Pro Lys Glu
[0571]	305 310 315 320
[0572]	Ile Pro Ala Trp Gly Gln Leu His Thr Gln Pro Glu Val Glu Pro Gln
[0573]	325 330 335
[0574]	Val Asp Ser Pro Ala Pro Pro Arg Pro Ser Leu Gln Pro His Pro Arg
[0575]	340 345 350
[0576]	Leu Leu Asp His Arg Asp Ser Val Glu Gln Val Ala Val Leu Ala
[0577]	355 360 365
[0578]	<210> 28
[0579]	<211> 8
[0580]	<212> PRT
[0581]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0582]	<400> 28
[0583]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr
[0584]	1 5

[0585] <210> 29
 [0586] <211> 8
 [0587] <212> PRT
 [0588] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0589] <400> 29
 [0590] Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr
 [0591] 1 5
 [0592] <210> 30
 [0593] <211> 10
 [0594] <212> PRT
 [0595] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0596] <400> 30
 [0597] Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr
 [0598] 1 5 10
 [0599] <210> 31
 [0600] <211> 8
 [0601] <212> PRT
 [0602] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0603] <400> 31
 [0604] Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Tyr
 [0605] 1 5
 [0606] <210> 32
 [0607] <211> 10
 [0608] <212> PRT
 [0609] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0610] <400> 32
 [0611] Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asp Tyr Thr Thr
 [0612] 1 5 10
 [0613] <210> 33
 [0614] <211> 13
 [0615] <212> PRT
 [0616] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0617] <400> 33
 [0618] Ala Arg Ala His Tyr Tyr Gly Phe Gly Ala Met Asp Tyr
 [0619] 1 5 10
 [0620] <210> 34
 [0621] <211> 8
 [0622] <212> PRT
 [0623] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- [0624] <400> 34
[0625] Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser Ala
[0626] 1 5
[0627] <210> 35
[0628] <211> 8
[0629] <212> PRT
[0630] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0631] <400> 35
[0632] Val Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr
[0633] 1 5
[0634] <210> 36
[0635] <211> 13
[0636] <212> PRT
[0637] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0638] <400> 36
[0639] Ala Arg His Ser Pro Asp Asp Gly Tyr Phe Val Asp Tyr
[0640] 1 5 10
[0641] <210> 37
[0642] <211> 8
[0643] <212> PRT
[0644] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0645] <400> 37
[0646] Gly Phe Ile Phe Ser Asp Tyr Gly
[0647] 1 5
[0648] <210> 38
[0649] <211> 8
[0650] <212> PRT
[0651] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0652] <400> 38
[0653] Ile Ser Asn Leu Ala Tyr Ser Phe
[0654] 1 5
[0655] <210> 39
[0656] <211> 9
[0657] <212> PRT
[0658] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0659] <400> 39
[0660] Val Arg Ala Asp Glu Gly Leu Gly Tyr
[0661] 1 5
[0662] <210> 40

- [0663] <211> 8
[0664] <212> PRT
[0665] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0666] <400> 40
[0667] Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr
[0668] 1 5
[0669] <210> 41
[0670] <211> 8
[0671] <212> PRT
[0672] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0673] <400> 41
[0674] Ile Asn Pro Asp Asn Gly Gly Ile
[0675] 1 5
[0676] <210> 42
[0677] <211> 9
[0678] <212> PRT
[0679] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0680] <400> 42
[0681] Ala Ile Asn Tyr Tyr Gly Leu Asp Tyr
[0682] 1 5
[0683] <210> 43
[0684] <211> 8
[0685] <212> PRT
[0686] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0687] <400> 43
[0688] Gly Phe Asn Ile Lys Asn Tyr Tyr
[0689] 1 5
[0690] <210> 44
[0691] <211> 8
[0692] <212> PRT
[0693] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0694] <400> 44
[0695] Val Asp Pro Glu Asn Gly Asn Thr
[0696] 1 5
[0697] <210> 45
[0698] <211> 9
[0699] <212> PRT
[0700] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0701] <400> 45

[0702] Val Leu Tyr Arg Tyr Gly Phe Ala Tyr
[0703] 1 5
[0704] <210> 46
[0705] <211> 8
[0706] <212> PRT
[0707] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0708] <400> 46
[0709] Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu
[0710] 1 5
[0711] <210> 47
[0712] <211> 8
[0713] <212> PRT
[0714] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0715] <400> 47
[0716] Ile Ser Pro Asp Asn Gly Asn Thr
[0717] 1 5
[0718] <210> 48
[0719] <211> 9
[0720] <212> PRT
[0721] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0722] <400> 48
[0723] Ala Arg Asn Arg Tyr Gly Ile Asp Ser
[0724] 1 5
[0725] <210> 49
[0726] <211> 8
[0727] <212> PRT
[0728] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0729] <400> 49
[0730] Gly Tyr Thr Phe Arg Asn Tyr Gly
[0731] 1 5
[0732] <210> 50
[0733] <211> 8
[0734] <212> PRT
[0735] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0736] <400> 50
[0737] Ile Asn Thr Phe Thr Gly Glu Pro
[0738] 1 5
[0739] <210> 51
[0740] <211> 14

[0741] <212> PRT
 [0742] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0743] <400> 51
 [0744] Ala Arg Glu Glu Leu Arg Ser Gly His Tyr Gly Phe Ala Cys
 [0745] 1 5 10
 [0746] <210> 52
 [0747] <211> 8
 [0748] <212> PRT
 [0749] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0750] <400> 52
 [0751] Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr Thr
 [0752] 1 5
 [0753] <210> 53
 [0754] <211> 8
 [0755] <212> PRT
 [0756] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0757] <400> 53
 [0758] Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile
 [0759] 1 5
 [0760] <210> 54
 [0761] <211> 15
 [0762] <212> PRT
 [0763] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0764] <400> 54
 [0765] Thr Arg Asp Leu Gly Asn Asp Asp Phe Thr Tyr Tyr Phe Asp Ser
 [0766] 1 5 10 15
 [0767] <210> 55
 [0768] <211> 10
 [0769] <212> PRT
 [0770] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0771] <400> 55
 [0772] Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asp Tyr Thr Thr
 [0773] 1 5 10
 [0774] <210> 56
 [0775] <211> 13
 [0776] <212> PRT
 [0777] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0778] <400> 56
 [0779] Ala Arg Val His Tyr Tyr Gly Phe Gly Ala Met Asp Tyr

[0780]	1	5	10
[0781]	<210>	57	
[0782]	<211>	8	
[0783]	<212>	PRT	
[0784]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0785]	<400>	57	
[0786]	Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Ala		
[0787]	1	5	
[0788]	<210>	58	
[0789]	<211>	8	
[0790]	<212>	PRT	
[0791]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0792]	<400>	58	
[0793]	Ile Ser Ser Ser Gly Arg Tyr Thr		
[0794]	1	5	
[0795]	<210>	59	
[0796]	<211>	10	
[0797]	<212>	PRT	
[0798]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0799]	<400>	59	
[0800]	Ala Arg Thr Asp Gly Tyr Tyr Pro Asp Tyr		
[0801]	1	5	10
[0802]	<210>	60	
[0803]	<211>	9	
[0804]	<212>	PRT	
[0805]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0806]	<400>	60	
[0807]	Ala Arg Asn Arg Tyr Gly Ile Asp Tyr		
[0808]	1	5	
[0809]	<210>	61	
[0810]	<211>	11	
[0811]	<212>	PRT	
[0812]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0813]	<400>	61	
[0814]	Gln Ser Leu Val Phe Ser Asn Gly Asn Thr Tyr		
[0815]	1	5	10
[0816]	<210>	62	
[0817]	<211>	3	
[0818]	<212>	PRT	

[0819] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0820] <400> 62
 [0821] Lys Val Ser
 [0822] 1
 [0823] <210> 63
 [0824] <211> 9
 [0825] <212> PRT
 [0826] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0827] <400> 63
 [0828] Ser Gln Met Thr His Val Pro Tyr Thr
 [0829] 1 5
 [0830] <210> 64
 [0831] <211> 10
 [0832] <212> PRT
 [0833] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0834] <400> 64
 [0835] Gln Ser Val Asp Tyr Tyr Gly Asp Ser Tyr
 [0836] 1 5 10
 [0837] <210> 65
 [0838] <211> 3
 [0839] <212> PRT
 [0840] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0841] <400> 65
 [0842] Ala Ala Ser
 [0843] 1
 [0844] <210> 66
 [0845] <211> 9
 [0846] <212> PRT
 [0847] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0848] <400> 66
 [0849] Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Trp Thr
 [0850] 1 5
 [0851] <210> 67
 [0852] <211> 11
 [0853] <212> PRT
 [0854] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0855] <400> 67
 [0856] Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
 [0857] 1 5 10

[0858] <210> 68
[0859] <211> 9
[0860] <212> PRT
[0861] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0862] <400> 68
[0863] Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr
[0864] 1 5
[0865] <210> 69
[0866] <211> 11
[0867] <212> PRT
[0868] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0869] <400> 69
[0870] Gln Thr Leu Val Asp Ser Asn Val Asn Asn Tyr
[0871] 1 5 10
[0872] <210> 70
[0873] <211> 9
[0874] <212> PRT
[0875] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0876] <400> 70
[0877] Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr
[0878] 1 5
[0879] <210> 71
[0880] <211> 11
[0881] <212> PRT
[0882] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0883] <400> 71
[0884] Gln Ser Ile Val His Ser Thr Gly Val Thr Tyr
[0885] 1 5 10
[0886] <210> 72
[0887] <211> 3
[0888] <212> PRT
[0889] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0890] <400> 72
[0891] Arg Val Ser
[0892] 1
[0893] <210> 73
[0894] <211> 9
[0895] <212> PRT
[0896] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- [0897] <400> 73
[0898] Phe Gln Gly Ser His Val Pro Val Thr
[0899] 1 5
[0900] <210> 74
[0901] <211> 9
[0902] <212> PRT
[0903] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0904] <400> 74
[0905] Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr
[0906] 1 5
[0907] <210> 75
[0908] <211> 3
[0909] <212> PRT
[0910] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0911] <400> 75
[0912] Gly Thr Asn
[0913] 1
[0914] <210> 76
[0915] <211> 9
[0916] <212> PRT
[0917] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0918] <400> 76
[0919] Val Leu Trp His Ser Asn His Trp Val
[0920] 1 5
[0921] <210> 77
[0922] <211> 11
[0923] <212> PRT
[0924] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0925] <400> 77
[0926] Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr
[0927] 1 5 10
[0928] <210> 78
[0929] <211> 3
[0930] <212> PRT
[0931] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0932] <400> 78
[0933] Gln Met Ser
[0934] 1
[0935] <210> 79

- [0936] <211> 9
[0937] <212> PRT
[0938] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0939] <400> 79
[0940] Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro His Thr
[0941] 1 5
[0942] <210> 80
[0943] <211> 11
[0944] <212> PRT
[0945] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0946] <400> 80
[0947] Gln Ser Ile Val Phe Ser Asn Gly Ile Thr Tyr
[0948] 1 5 10
[0949] <210> 81
[0950] <211> 6
[0951] <212> PRT
[0952] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0953] <400> 81
[0954] Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
[0955] 1 5
[0956] <210> 82
[0957] <211> 3
[0958] <212> PRT
[0959] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0960] <400> 82
[0961] Tyr Thr Ser
[0962] 1
[0963] <210> 83
[0964] <211> 8
[0965] <212> PRT
[0966] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0967] <400> 83
[0968] Gln Gln Gly Lys Thr Phe Pro Thr
[0969] 1 5
[0970] <210> 84
[0971] <211> 10
[0972] <212> PRT
[0973] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0974] <400> 84

[1014]		85		90		95										
[1015]	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
[1016]			100					105						110		
[1017]	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
[1018]			115					120						125		
[1019]	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
[1020]			130					135						140		
[1021]	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
[1022]			145					150						155		160
[1023]	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
[1024]				165						170					175	
[1025]	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
[1026]				180						185					190	
[1027]	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
[1028]				195						200					205	
[1029]	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
[1030]			210							215					220	
[1031]	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
[1032]			225							230				235		240
[1033]	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
[1034]				245							250				255	
[1035]	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
[1036]				260						265					270	
[1037]	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
[1038]				275						280					285	
[1039]	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
[1040]			290							295					300	
[1041]	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
[1042]			305								310				315	320
[1043]	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
[1044]				325											330	
[1045]	<210>	89														
[1046]	<211>	107														
[1047]	<212>	PRT														
[1048]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
[1049]	<400>	89														
[1050]	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu
[1051]			1			5				10					15	
[1052]	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe

[1053]		20		25		30											
[1054]	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	
[1055]			35					40						45			
[1056]	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	
[1057]		50						55						60			
[1058]	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	
[1059]	65						70					75				80	
[1060]	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	
[1061]					85						90					95	
[1062]	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
[1063]					100											105	

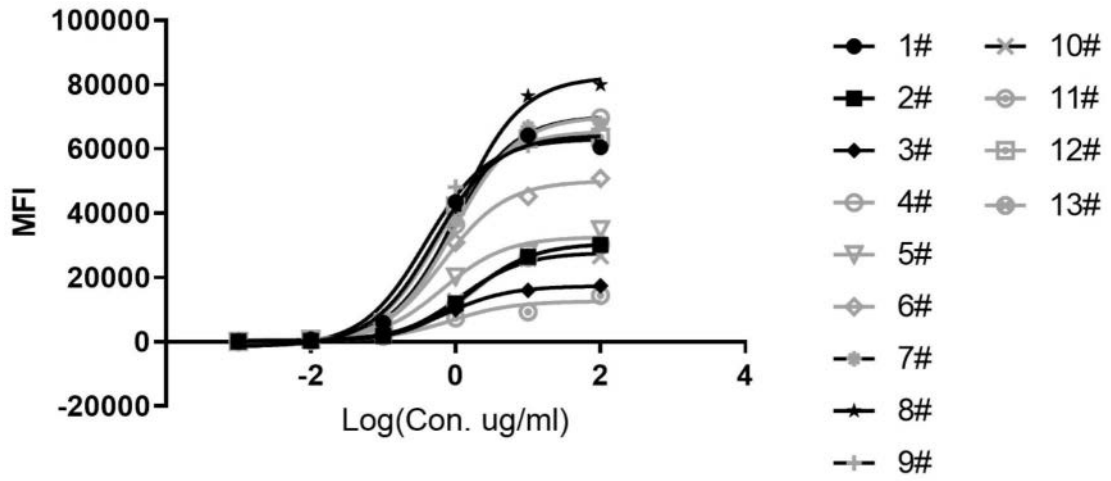


图1

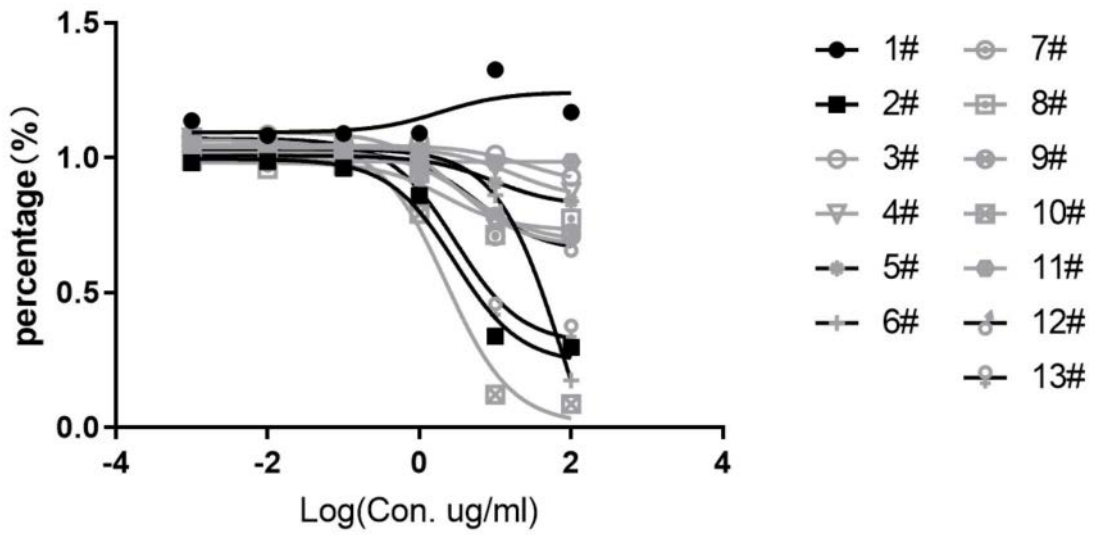


图2

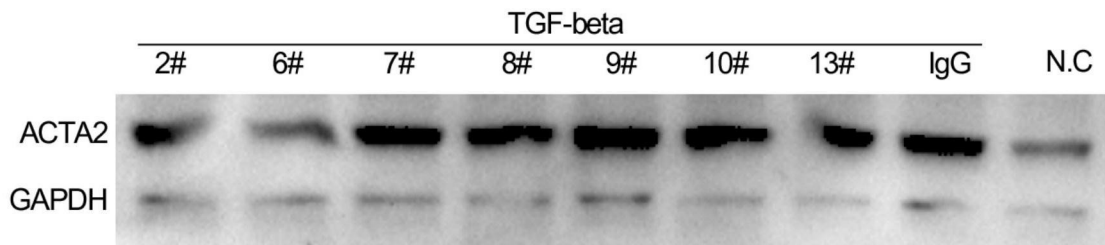


图3

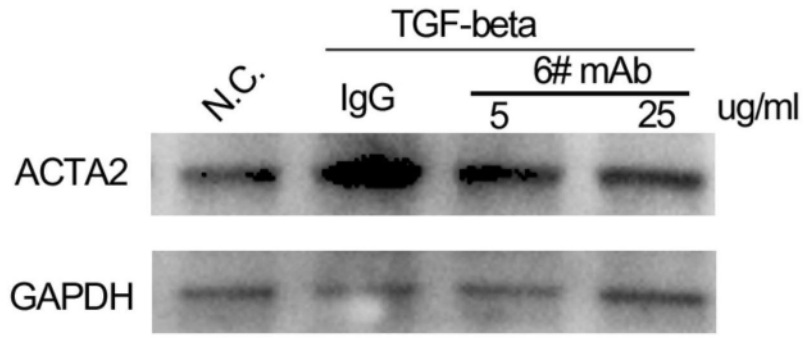


图4

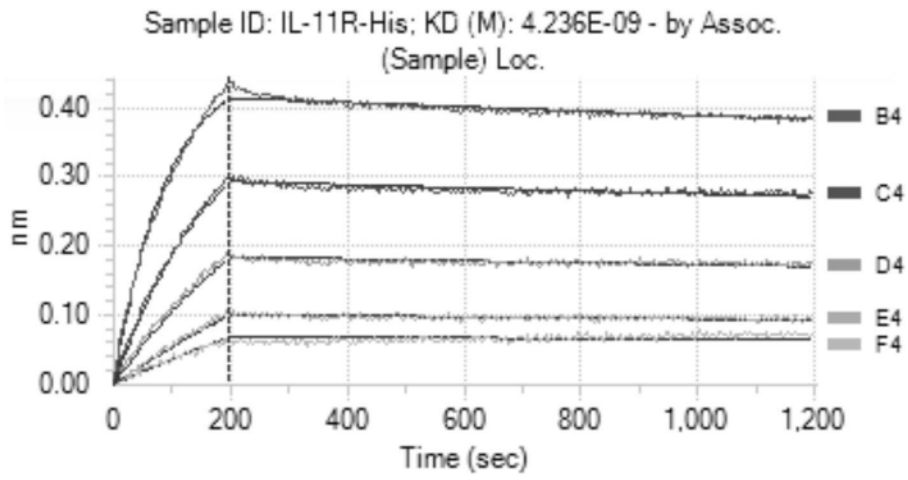


图5

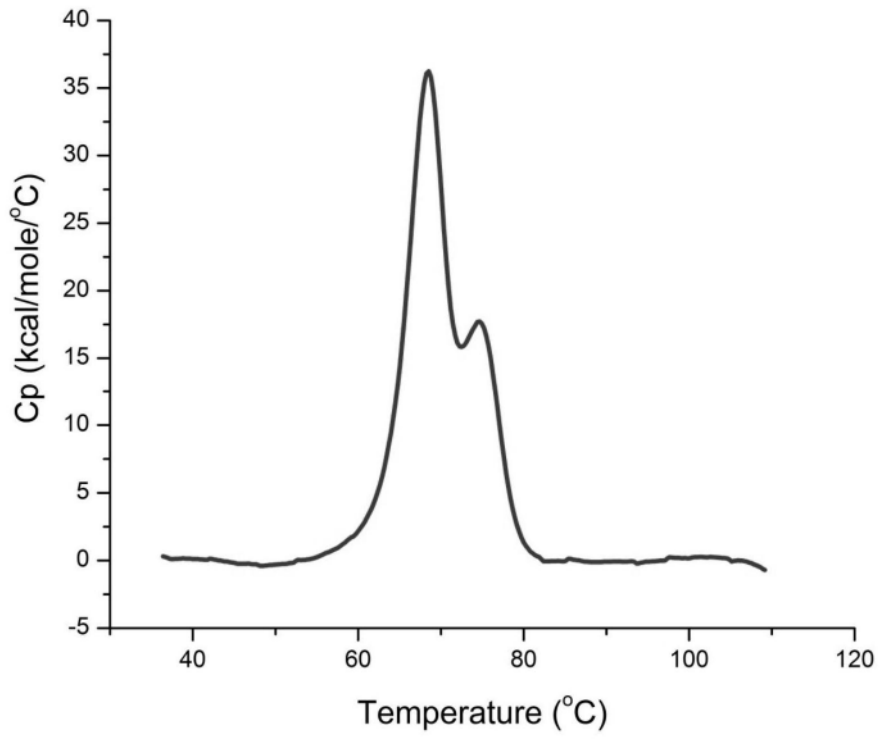


图6