



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113999301 B

(45) 授权公告日 2023.07.28

(21) 申请号 202111485922.2

(22) 申请日 2021.12.07

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113999301 A

(43) 申请公布日 2022.02.01

(73) 专利权人 江苏中新医药有限公司
地址 211100 江苏省南京市江宁区龙眠大道578号

(72) 发明人 廖高勇 丁海剑 陈海 张怡

(74) 专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理有限公司 11129
专利代理师 张涛

(51) Int. Cl.
C07K 16/10 (2006.01)
A61K 39/42 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 111995675 A, 2020.11.27
WO 2021222128 A1, 2021.11.04
CN 113416245 A, 2021.09.21
CN 114195888 A, 2022.03.18
WO 2021207433 A2, 2021.10.14
CN 113563469 A, 2021.10.29

曲园园. 人源抗SARS-CoV-2单克隆抗体筛选与抗体功能研究.《中国博士学位论文全文数据库 医药卫生科技辑》.2022, E059-64.

Federico Bertoglio等. A SARS-CoV-2 neutralizing antibody selected from COVID-19 patients binds to the ACE2-RBD interface and is tolerant to most known RBD mutations.《cell reports》.2021, 第36卷(第4期), 第1-14页.

审查员 龙添珍

权利要求书1页 说明书6页
序列表3页 附图4页

(54) 发明名称

抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体

(57) 摘要

本发明提供了一种抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体。实验证实, 该抗体与SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体均具有高亲和力, 可有效抑制SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体(L452R, T478K) 与ACE2的结合, 且对新冠假病毒及其突变株(Delta) 假病毒具有明显的中和活性。

1. 一种抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体,其重链可变区中的CDR1、CDR2和CDR3分别是如下所示氨基酸序列的多肽:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3;其轻链可变区中的CDR1、CDR2和CDR3分别是如下所示氨基酸序列的多肽:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。

2. 权利要求1所述的单克隆抗体在制备新型冠状病毒SARS-CoV-2 (COVID-19) 及其突变株Delta中和抗体药物中的应用。

抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体

技术领域：

[0001] 本发明涉及基因工程抗体，特别涉及针对新冠病毒S-RBD靶点开发的单克隆抗体药物。

背景技术：

[0002] 已知新冠病毒SARS-CoV-2 (COVID-19) 是通过其S蛋白的受体结合结构域 (RBD) 与宿主受体血管紧张素转换酶2 (ACE2) 结合，介导病毒进入宿主细胞而感染的。S蛋白包含两个功能性亚基S1和S2，其中S1负责与宿主细胞受体结合，S2亚基负责病毒膜和细胞膜融合。在感染过程中，S蛋白被宿主蛋白酶切割成N端的S1亚基和C端的S2亚基，并从融合前状态转变为融合后状态。S1和S2由胞外结构域 (ECD) 和单个跨膜螺旋组成，分别介导受体结合和膜融合。S1由N端结构域 (NTD) 和受体结合结构域 (RBD) 组成，对决定组织嗜性和宿主范围至关重要。

[0003] SARS-CoV-2 (COVID-19) 的S蛋白的受体结合结构域 (RBD) 是免疫显性的，也是SARS-CoV-2免疫血清中存在的90%中和抗体的靶点。因此，针对新冠病毒S-RBD靶点及其突变体开发抗体药物是治疗新冠病毒感染患者的有效途径，据此开发的单克隆抗体有潜力成为新冠病毒感染治疗的特效药。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种单克隆抗体，可以有效与ACE2竞争结合SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K)，用于制备治疗新型冠状病毒相关疾病的药物。

[0005] 本发明用SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD蛋白及其突变体 (L452R, T478K) 蛋白免疫BALB/c小鼠，获得了全新的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体。

[0006] 本发明获得的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体的重链和轻链序列，与现有技术抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体均完全不同。

[0007] 所用的SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD蛋白购买自北京百普赛斯生物科技股份有限公司，所用的小鼠为BALB/c小鼠。

[0008] 具体的，本发明通过如下手段完成了上述工作：

[0009] A SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD蛋白作为抗原，以30 μ g/只免疫BALB/c小鼠，三周后同样剂量加强免疫；

[0010] B ELISA法测定免疫后小鼠血清中的抗体滴度，达到理想效果后以50 μ g剂量冲击免疫；

[0011] C取免疫成功的小鼠脾细胞与SP2/0细胞进行融合，待细胞长成细胞团后进行上清滴度检测，通过三轮亚克隆获得阳性单克隆细胞株；

[0012] D单克隆细胞株扩大培养后进行小鼠腹腔注射制备腹水，并从收集的腹水纯化得到相应的抗体；

[0013] E利用SPR技术进行单克隆抗体的亲和动力学测定；

[0014] F测定单克隆抗体对SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K) 与ACE2结合的竞争抑制作用；

[0015] G测定单克隆抗体对于新冠假病毒及其突变株 (Delta) 假病毒的中和活性。

[0016] 本发明获得的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体命名为B15-5-B3。此抗体特异性的分子基础主要来自于它的高度可变区CDR1、CDR2和CDR3, 这些区域是与抗原结合的关键部位。

[0017] 本发明获得的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体的重链和轻链的CDR1、CDR2和CDR3分别是如下所示氨基酸序列的多肽：

[0018] B15-5-B3:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6；

[0019] 本发明所述“单克隆抗体”应该解释为涵盖具有所需特异性的结合结构域的任意特异性结合因子, 可以是单价的或是单链抗体、双链抗体、嵌合抗体以及上述抗体的衍生物、功能等同物和同源物, 也包括抗体片段和含有抗原结合结构域的任何多肽。

[0020] 本发明所述单克隆抗体的实例是免疫球蛋白IgG亚型及其亚型亚类；

[0021] 尽管抗体特异性的分子基础主要来自于它的高度可变区CDR1、CDR2和CDR3, 为了维持优选的结合特性, 上述CDR的序列应尽可能保留。然而, 尽管如果有个别氨基酸的改变, 也有可能能够达到本发明目的, 甚至使结合特性更为优化。但是, 个别氨基酸的改变并不能脱离本发明的构思和发明精神。

[0022] 除了如上所述重链和轻链中的高度可变区CDR1、CDR2和CDR3外, 其它为框架区。框架区可在结合所需的三维结构不受影响的条件下被其他序列置换。

[0023] 用本发明获得的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体B15-5-B3进行了如下实验验证：

[0024] 1、亲和动力学分析

[0025] 结果表明, 本发明的单克隆抗体与SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K) 均具有高亲和力 (详见实施例2)。

[0026] 2、与ACE2结合的竞争抑制作用

[0027] 生化水平实验结果表明, 本发明的单克隆抗体能明显抑制SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K) 与ACE2结合 (详见实施例3)。

[0028] 3、对新冠假病毒及其突变株 (Delta) 假病毒中和活性检测

[0029] 结果表明, 本发明的单克隆抗体对新冠假病毒及其突变株 (Delta) 假病毒均具有明显的中和抑制活性 (详见实施例4)。

附图说明

[0030] 图1为本发明的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体获得步骤的示意图；

[0031] 图2、图3分别为实施例2中B15-5-B3抗体与SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K) 的亲力的检测结果, 图中Ka、Kd和KD分别为结合常数、解离常数以及亲和力常数；

[0032] 图4、图5分别为实施例3中B15-5-B3抗体对SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体(L452R,T478K)与ACE2结合的竞争抑制作用的实验结果;

[0033] 图6、图7分别为实施例4中B15-5-B3抗体对新冠假病毒及其突变株(Delta)假病毒的中和活性检测的实验结果。

[0034] 以上所述B15-5-B3是本发明得到的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体的名称。

[0035] 序列信息:

[0036] SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3,分别是抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体B15-5-B3重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3;

[0037] SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6,分别是抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体B15-5-B3轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3;

[0038] SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8,分别是抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体B15-5-B3重链可变区和轻链可变区的氨基酸序列。

具体实施方式

[0039] 为使本发明的目的、技术方案及效果更加清楚、明确,以下实施例对本发明进行了进一步详细说明。应当理解,实施例中所使用的具体方法、试剂等仅用于举例说明本发明,并不能限定本发明的范围;

[0040] 本发明提供特异性的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体的重链和轻链序列。所述单克隆抗体由SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD蛋白免疫BALB/c小鼠后经杂交瘤筛选得到的对应的单克隆细胞株表达;所述单克隆抗体型别为IgG型;

[0041] 以下各实施例中提到的SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD蛋白以及各突变体蛋白,蛋白C端包含6×His标签,均购自北京百普赛斯生物科技股份有限公司。

[0042] 所使用的免疫佐剂为北京博奥龙5周快速免疫佐剂,初次免疫21天后加强免疫一次,细胞融合前使用抗原冲击免疫一次即可进行细胞融合;

[0043] 所使用的融合方法为电融合法,电融合仪为BTX公司的ECM2001型,所用融合缓冲液为原厂细胞融合液;

[0044] 融合后的细胞长出细胞团后采用ELISA检测上清抗体表达,酶标板包被SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD蛋白或者His蛋白,His蛋白用来排除Anti-His的假阳性孔;

[0045] 阳性孔采用有限稀释法进行亚克隆,亚克隆共进行三轮,最终获得阳性单克隆细胞株;

[0046] 阳性单克隆进行腹水制备后纯化,获得对应的单克隆抗体,单克隆抗体进一步用于亲和力测定、竞争结合实验以及假病毒中和实验。

[0047] 以下各实施例中提到的B15-5-B3,为本发明提供的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体的代号。

[0048] 实施例1制备抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体

[0049] 抗原免疫、脾细胞融合以及阳性克隆的筛选和腹水抗体的制备纯化

[0050] 实验目的:

[0051] 用SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD蛋白作为抗原制备单克隆抗体。

[0052] 实验方法:

[0053] 使用杂交瘤技术,包括抗原免疫、脾细胞融合以及阳性克隆的筛选和腹水抗体的制备纯化。具体方法为:

[0054] 使用30 μ g蛋白对4-6周的雌性BALB/c小鼠进行免疫;

[0055] 首次免疫后第21天采用同样方法加强免疫一次;

[0056] 首次免疫后第35天通过眼眦采血分离血清进行血清滴度的ELISA测定;

[0057] 抗体滴度达到要求后采用50 μ g SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD蛋白进行抗原冲击免疫;

[0058] 冲击免疫3天后取脾细胞与SP2/0细胞进行融合,待细胞成团后ELISA检测杂交瘤上清液中的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD抗体。

[0059] 实验结果:

[0060] 经过三轮亚克隆,通过亲和力以及生化水平竞争结合实验双重筛选,最终获得了SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD抗体高表达单克隆细胞株,命名为B15-5-B3。将单克隆细胞扩增后进行腹水制备纯化抗体,用于后续亲和力测定、竞争结合实验以及假病毒中和实验。

[0061] 经验证(详见下述实施例2、3、4),所得单克隆抗体B15-5-B3具有高亲和力,可以有效竞争抑制SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体(L452R, T478K)与ACE2的结合,同时,假病毒中和实验显示了抗体对新冠假病毒及其突变株(Delta)假病毒具有良好的中和活性。

[0062] 实施例2单克隆抗体B15-5-B3与SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体(L452R, T478K)的亲动力学分析

[0063] 实验目的:

[0064] 检测本发明的单克隆抗体与新冠病毒S蛋白RBD及其突变体的亲和力。

[0065] 试剂和方法:

[0066] 使用Mouse Antibody Capture Kit为购自GE公司的商品化试剂盒,采用Biacore T200系统检测单克隆抗体B15-5-B3的亲动力学常数。

[0067] 采用氨基偶联的方法将抗小鼠Fc IgG固定在CM5传感器芯片上,通过偶联的抗小鼠Fc IgG捕获单克隆抗体B15-5-B3,然后注射一系列浓度梯度的SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体(L452R, T478K)蛋白。每个循环结束后采用试剂盒自带的pH 1.7的Glycine-Hcl再生芯片。

[0068] 运行缓冲液为HBS-EP+(10mM HEPES, pH7.4, 150mM NaCl, 3mM EDTA和0.05%P20), 测定温度25 $^{\circ}$ C;

[0069] 使用Biacore T200评估软件,根据1:1结合模型拟合数据,计算结合(Ka)和解离(Kd)速率常数以及平衡常数(KD)。

[0070] 实验结果:

[0071] 根据检测结果,各抗体亲和力数据的具体结果见图2、图3和下表:

	抗体	抗原	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)
[0072]	B15-5-B3	SRBD	7.757×10^5	2.354×10^{-5}	3.035×10^{-11}
		SRBD (L452R, T478K)	4.518×10^5	5.370×10^{-5}	1.188×10^{-10}

[0073] 实验结论:

[0074] 本发明获得的抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体B15-5-B3与SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K) 均具有高亲和力。

[0075] 实施例3单克隆抗体B15-5-B3对SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K) 与ACE2结合的竞争抑制作用

[0076] 实验目的:

[0077] 从生化水平检测单克隆抗体B15-5-B3对SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K) 与ACE2结合的竞争抑制情况。

[0078] 实验方法:

[0079] 将ACE2蛋白以 $2\mu\text{g}/\text{mL}$, $100\mu\text{L}/\text{孔}$ 的量包被至酶标板中, 4°C 包被过夜; 次日, 将酶标板中的包被液弃掉, PBST洗涤3次后用2%BSA封闭液于 37°C 微孔板恒温振荡器中孵育1.5h; 1.5h后弃掉封闭液, PBST洗涤3次, 加入配好的 $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$ SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD或其突变体 (L452R, T478K) 和2倍浓度的单克隆抗体B15-5-B3梯度液 (4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、 $0\mu\text{g}/\text{mL}$) 至酶标板中, 每孔各加 $50\mu\text{L}$, 用封口膜封好, 37°C 恒温孵育箱中孵育1h; 1h后弃掉液体, PBST洗涤4次, 将Anti His-HRP抗体按照1:4000的比例稀释后加入到酶标板中, 每孔 $100\mu\text{L}$, 用封口膜封好, 37°C 恒温孵育箱中孵育1h; 1h后弃掉液体, PBST洗涤4次, 每孔加入 $100\mu\text{L}$ 显色液, 显色15-20min; 显色完成后加入终止液, 每孔 $50\mu\text{L}$; 450nm 的波长下测量酶标板各孔的OD值。并将实验结果用GraphPad Prism 6软件进行处理分析。

[0080] 实验结果: 见图4、图5;

[0081] 各抗体竞争抑制效应 IC_{50} 汇总见下表:

	抗体名称	S-RBD	S-RBD (L452R-T478K)
$\text{EC}_{50} (\mu\text{g}/\text{mL})$	B15-5-B3	0.1636	0.05837

[0083] 实验结论:

[0084] 本发明获得的单克隆抗体B15-5-B3对SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD及其突变体 (L452R, T478K) 与ACE2结合具有明显的竞争抑制作用。

[0085] 实施例4单克隆抗体B15-5-B3对新冠假病毒及其突变株 (Delta) 假病毒中和活性检测

[0086] 实验目的: 测试单克隆抗体B15-5-B3对新冠假病毒及其突变株 (Delta) 的中和活性。

[0087] 试剂和方法:

[0088] 新冠原始假病毒购自北京博奥龙免疫技术有限公司 (货号BDAA0026);

[0089] 新冠假病毒Delta突变株购自复百澳 (苏州) 生物科技有限公司 (货号:FNV3718)

[0090] 取对数生长期的HEK293-ACE2细胞, 以 $6 \times 10^5/\text{孔}$ 的量铺至96孔白板中, 37°C , 5% CO_2 培养箱中培养过夜; 第二天, 取样品, 按照实验设计稀释样品, 样品稀释完成后从液氮罐

取出假病毒,37℃水浴快速轻柔解冻后置于冰上;稀释好的单克隆抗体B15-5-B3样品与假病毒在96孔板混合,然后室温孵育1h;孵育完成后将混合液加至前一天预先铺好HEK293-ACE2细胞的96孔白板中,放入37℃,5%CO₂培养箱中继续培养48h;48h后弃去孔板内的培养液,每孔加入50μL荧光素酶显色液,室温孵育5min,多功能酶标仪化学发光法读取数值。

[0091] 实验结果:见图6、图7;

[0092] 抗体新冠假病毒及Delta突变假病毒中和效应IC₅₀汇总见下表:

[0093]

	抗体名称	FNV-SARS-CoV-2-S	B.1.617.2(Delta)
EC ₅₀ (ng/mL)	B15-5-B3	36.92	269.6

[0094] 实验结论:

[0095] 本发明获得的单克隆抗体B15-5-B3对新冠假病毒及其突变株(Delta)假病毒均具有明显的中和抑制活性。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 江苏中新医药有限公司
- [0003] <120> 抗SARS-CoV-2 (COVID-19) S蛋白RBD单克隆抗体
- [0004] <130>
- [0005] <160> 8
- [0006] <170> PatentIn version 3.1
- [0007] <210> 1
- [0008] <211> 5
- [0009] <212> PRT
- [0010] <213> 小鼠 (Mus musculus)
- [0011] <400> 1
- [0012] Asp Ala Trp Met Asp
- [0013] 1 5
- [0014] <210> 2
- [0015] <211> 19
- [0016] <212> PRT
- [0017] <213> 小鼠 (Mus musculus)
- [0018] <400> 2
- [0019] Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
- [0020] 1 5 10 15
- [0021] <210> 3
- [0022] <211> 8
- [0023] <212> PRT
- [0024] <213> 小鼠 (Mus musculus)
- [0025] <400> 3
- [0026] Tyr Asp Tyr Ala Tyr Pro Trp Phe
- [0027] 1 5
- [0028] <210> 4
- [0029] <211> 12
- [0030] <212> PRT
- [0031] <213> 小鼠 (Mus musculus)
- [0032] <400> 4
- [0033] Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Ser His Tyr Leu His
- [0034] 1 5 10
- [0035] <210> 5
- [0036] <211> 7
- [0037] <212> PRT
- [0038] <213> 小鼠 (Mus musculus)
- [0039] <400> 5
- [0040] Arg Ser Tyr Ser Leu Ala Ser
- [0041] 1 5

[0042] <210> 6
 [0043] <211> 9
 [0044] <212> PRT
 [0045] <213> 小鼠 (Mus musculus)
 [0046] <400> 6
 [0047] Gln Gln Gly Ser Ser Arg Ile Thr Pro
 [0048] 1 5
 [0049] <210> 7
 [0050] <211> 138
 [0051] <212> PRT
 [0052] <213> 小鼠 (Mus musculus)
 [0053] <400> 7
 [0054] Met Tyr Leu Gly Leu Asn Tyr Val Phe Ile Val Phe Leu Leu Asn Gly
 [0055] 1 5 10 15
 [0056] Val Gln Ser Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 [0057] 20 25 30
 [0058] Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 [0059] 35 40 45
 [0060] Ser Asp Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu
 [0061] 50 55 60
 [0062] Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Tyr
 [0063] 65 70 75 80
 [0064] Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 [0065] 85 90 95
 [0066] Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
 [0067] 100 105 110
 [0068] Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Pro Tyr Asp Tyr Ala Tyr Pro Trp Phe Trp
 [0069] 115 120 125
 [0070] Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 [0071] 130 135
 [0072] <210> 8
 [0073] <211> 126
 [0074] <212> PRT
 [0075] <213> 小鼠 (Mus musculus)
 [0076] <400> 8
 [0077] Met Gln Ile Ile Ser Leu Leu Leu Ile Ser Val Thr Val Ile Val Ser
 [0078] 1 5 10 15
 [0079] Asn Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Thr Thr Met Ala Ala Ser
 [0080] 20 25 30
 [0081] Pro Gly Glu Lys Ile Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser
 [0082] 35 40 45
 [0083] Ser His Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Phe Ser Pro Lys

[0084]	50	55	60
[0085]	Leu Leu Ile Tyr Arg Ser Tyr Ser Leu Ala Ser Gly Phe Pro Gly Arg		
[0086]	65	70	75 80
[0087]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Phe Ser Leu Ser Ile Gly Thr		
[0088]	85	90	95
[0089]	Met Glu Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ser		
[0090]	100	105	110
[0091]	Arg Ile Thr Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[0092]	115	120	125

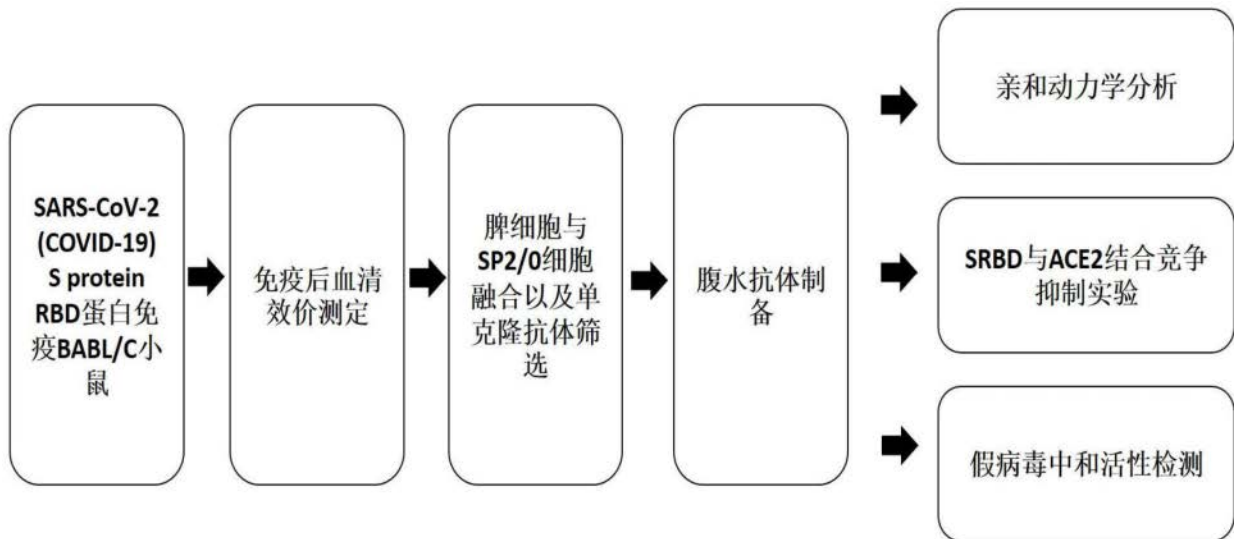


图1

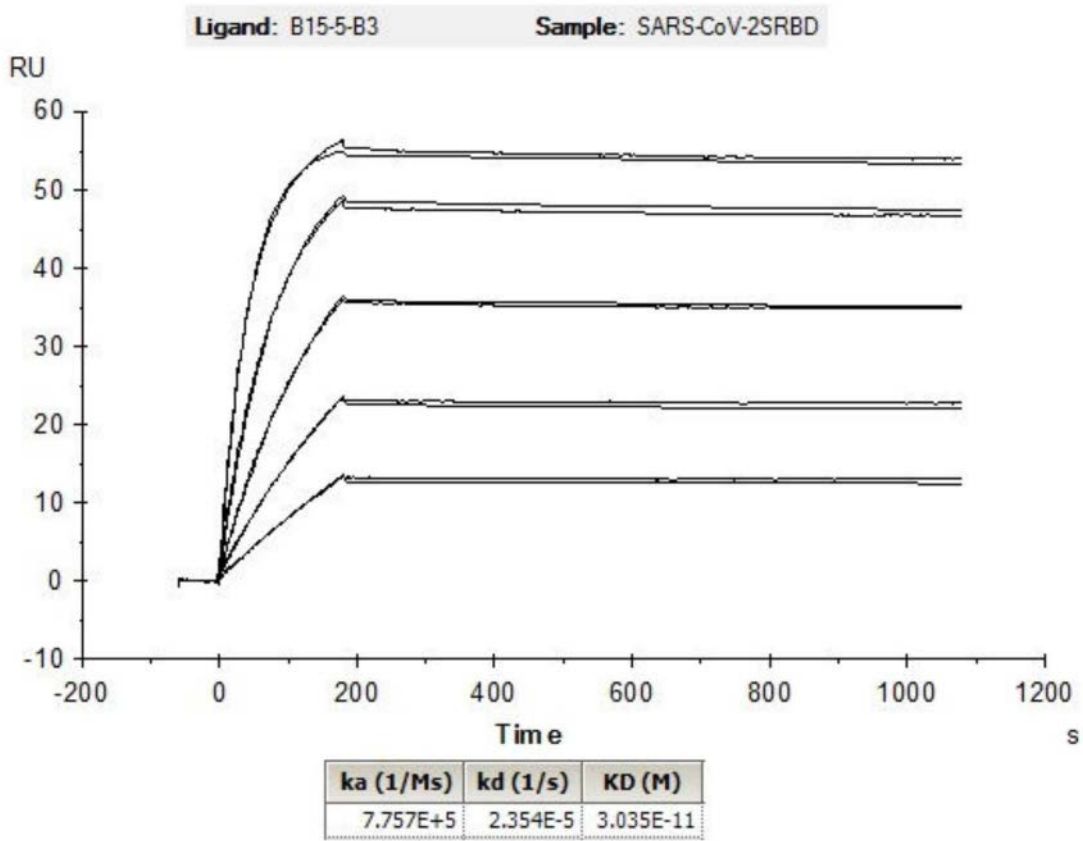


图2

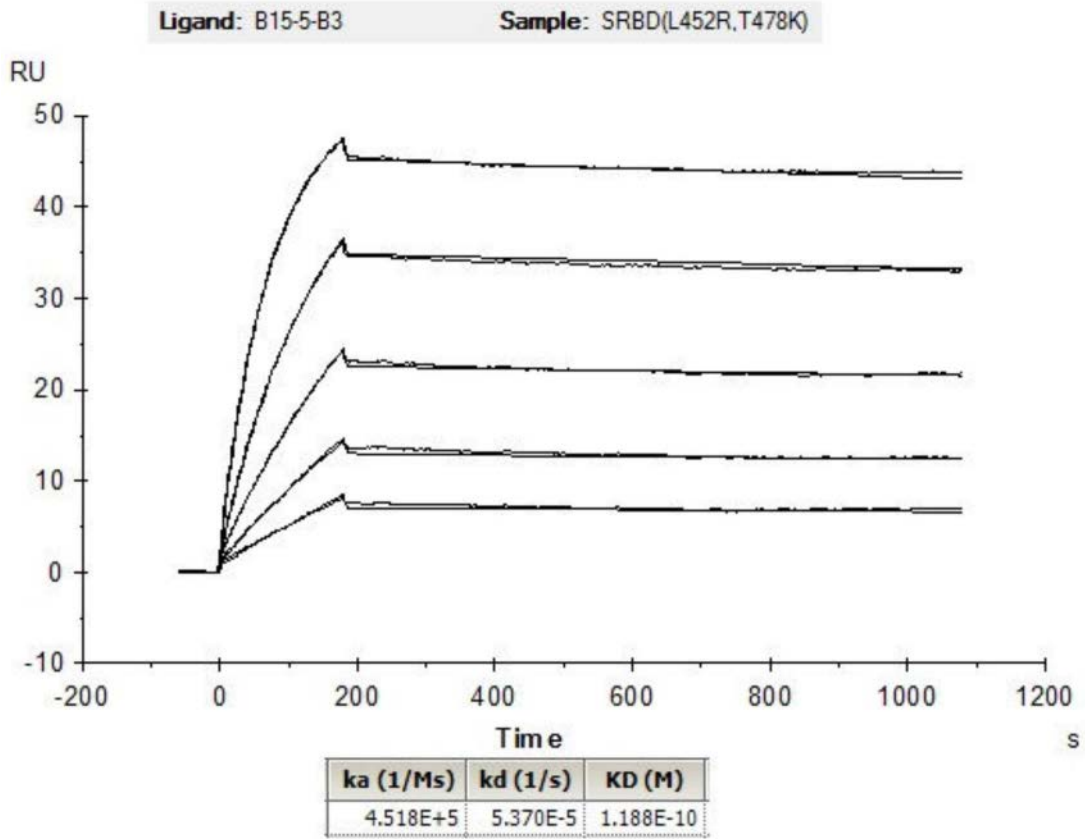


图3

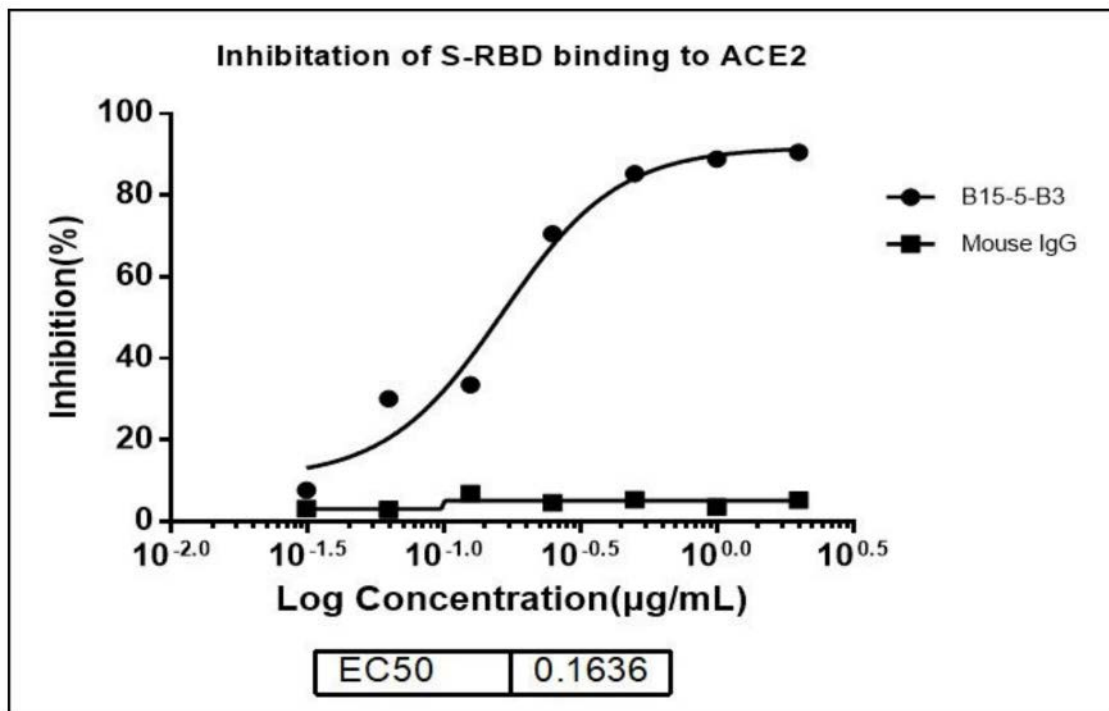


图4

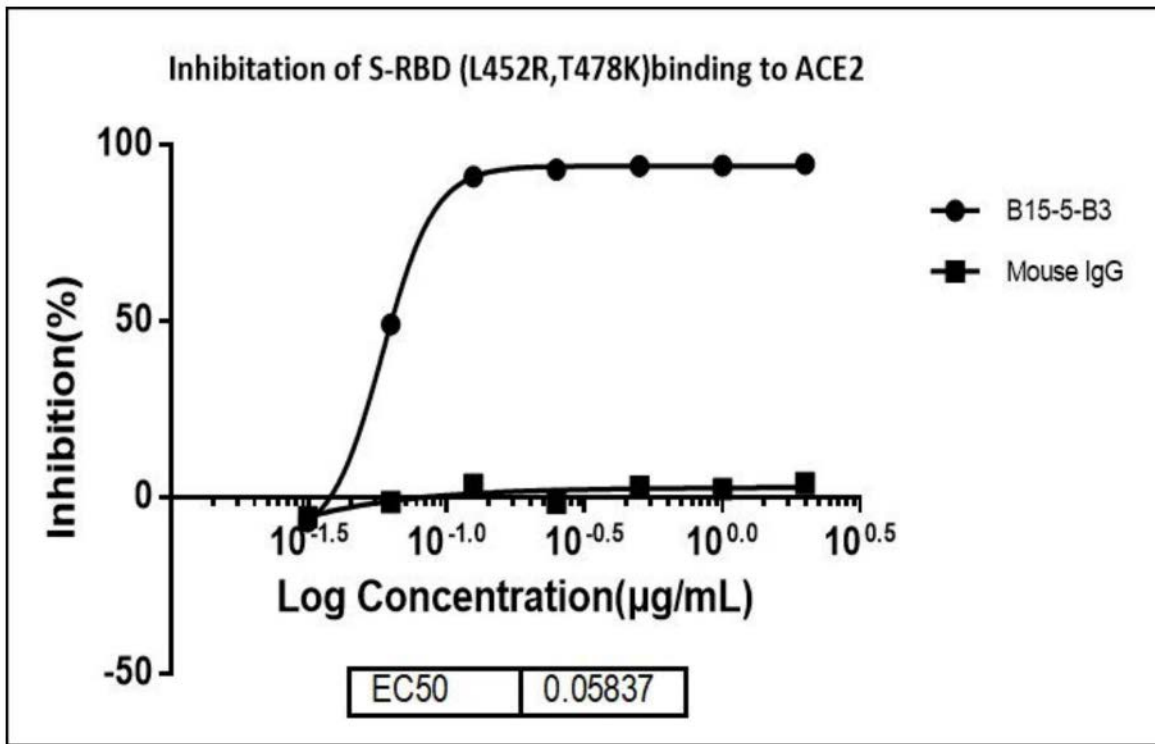


图5

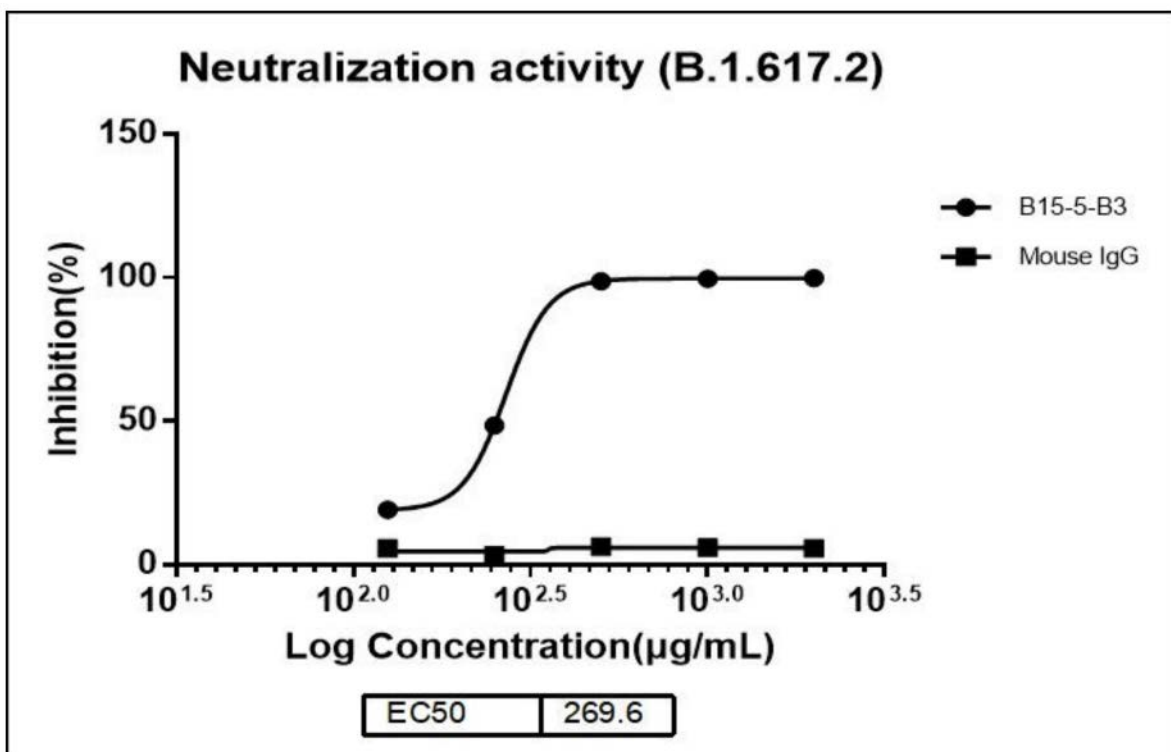


图6

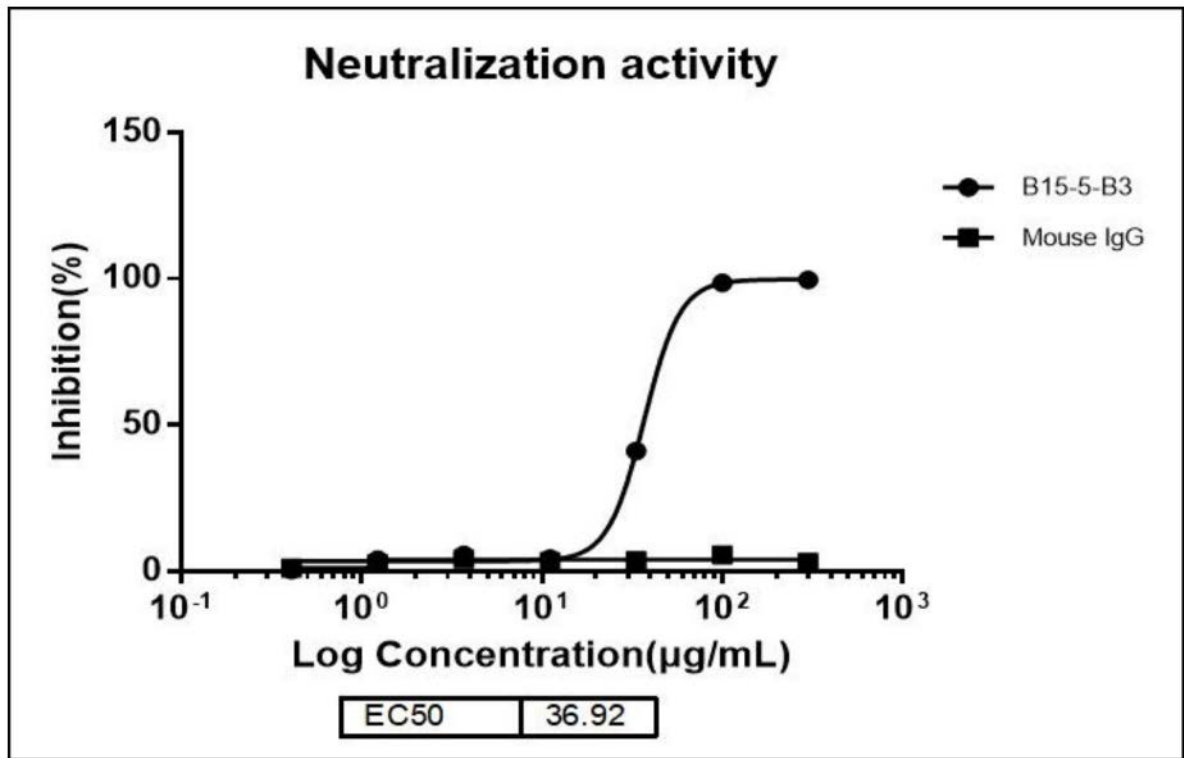


图7