



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110407942 A

(43)申请公布日 2019.11.05

(21)申请号 201910341560.6

C12P 21/02(2006.01)

(22)申请日 2019.04.26

G01N 33/53(2006.01)

(66)本国优先权数据

A61K 39/395(2006.01)

201810392284.1 2018.04.27 CN

A61P 35/00(2006.01)

A61P 31/00(2006.01)

(71)申请人 苏州康宁杰瑞生物科技有限公司

地址 215125 江苏省苏州市苏州工业园区
星湖街218号生物科技园C23

(72)发明人 徐霆 逢敏洁 许志戎 李倩
汪晶晶

(74)专利代理机构 北京永新同创知识产权代理
有限公司 11376

代理人 王子楠 栾星明

(51)Int.Cl.

C07K 16/42(2006.01)

C12N 15/13(2006.01)

权利要求书2页 说明书24页

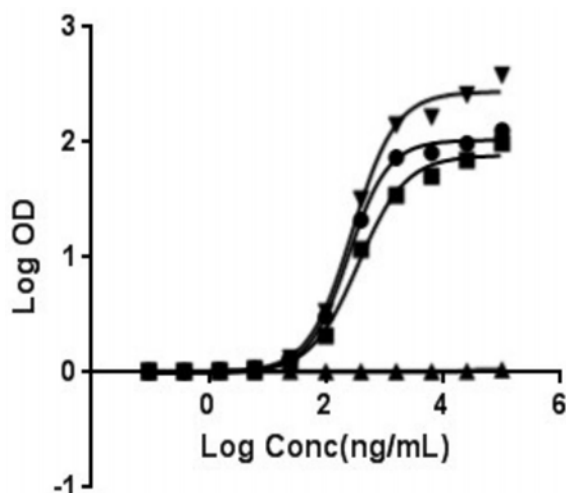
序列表52页 附图4页

(54)发明名称

针对KN044的单域抗体

(57)摘要

本发明涉及医药生物领域,公开了针对KN044的单域抗体。具体而言,本发明公开了一种衍生自所述单域抗体的针对KN044的结合分子及其用途,特别是在检测KN044、用作KN044的抗药抗体(ADA)检测的阳性抗体、减少由于施用KN044所引发的副作用中的用途。



1. 一种针对KN044的结合分子,其能够结合KN044且包含至少一个免疫球蛋白单一可变结构域,所述至少一个免疫球蛋白单一可变结构域包含选自以下的CDR1、CDR2和CDR3:

- (1) SEQ ID NO:1所示的CDR1,SEQ ID NO:2所示的CDR2,SEQ ID NO:3所示的CDR3;
- (2) SEQ ID NO:4所示的CDR1,SEQ ID NO:5所示的CDR2,SEQ ID NO:6所示的CDR3;
- (3) SEQ ID NO:7所示的CDR1,SEQ ID NO:8所示的CDR2,SEQ ID NO:9所示的CDR3;
- (4) SEQ ID NO:10所示的CDR1,SEQ ID NO:11所示的CDR2,SEQ ID NO:12所示的CDR3;
- (5) SEQ ID NO:13所示的CDR1,SEQ ID NO:14所示的CDR2,SEQ ID NO:15所示的CDR3;
- (6) SEQ ID NO:16所示的CDR1,SEQ ID NO:17所示的CDR2,SEQ ID NO:18所示的CDR3;
- (7) SEQ ID NO:19所示的CDR1,SEQ ID NO:20所示的CDR2,SEQ ID NO:21所示的CDR3;
- (8) SEQ ID NO:22所示的CDR1,SEQ ID NO:23所示的CDR2,SEQ ID NO:24所示的CDR3;
- (9) SEQ ID NO:25所示的CDR1,SEQ ID NO:26所示的CDR2,SEQ ID NO:27所示的CDR3;
- (10) SEQ ID NO:28所示的CDR1,SEQ ID NO:29所示的CDR2,SEQ ID NO:30所示的CDR3;
- (11) SEQ ID NO:31所示的CDR1,SEQ ID NO:32所示的CDR2,SEQ ID NO:33所示的CDR3;
- (12) SEQ ID NO:34所示的CDR1,SEQ ID NO:35所示的CDR2,SEQ ID NO:36所示的CDR3;
- (13) SEQ ID NO:37所示的CDR1,SEQ ID NO:38所示的CDR2,SEQ ID NO:39所示的CDR3;
- (14) SEQ ID NO:40所示的CDR1,SEQ ID NO:41所示的CDR2,SEQ ID NO:42所示的CDR3;
- (15) SEQ ID NO:43所示的CDR1,SEQ ID NO:44所示的CDR2,SEQ ID NO:45所示的CDR3;
- (16) SEQ ID NO:46所示的CDR1,SEQ ID NO:47所示的CDR2,SEQ ID NO:48所示的CDR3;

和

- (17) SEQ ID NO:49所示的CDR1,SEQ ID NO:50所示的CDR2,SEQ ID NO:51所示的CDR3。

2. 权利要求1的针对KN044的结合分子,其中所述免疫球蛋白单一可变结构域是VHH,例如,人源化的VHH。

3. 权利要求2的针对KN044的结合分子,其中所述VHH包含SEQ ID NO:52-68中任一氨基酸序列。

4. 权利要求1-3任一项的针对KN044的结合分子,其还包含免疫球蛋白Fc区。

5. 权利要求4的针对KN044的结合分子,其中所述免疫球蛋白Fc区是人免疫球蛋白Fc区,优选是人IgG1的Fc区;或是鼠免疫球蛋白Fc区,优选是鼠IgG1的Fc区。

6. 权利要求5的针对KN044的结合分子,其中所述人免疫球蛋白Fc区的氨基酸序列示于SEQ ID NO:69,所述鼠免疫球蛋白Fc区的氨基酸序列示于SEQ ID NO:70。

7. 权利要求1-6中任一项的针对KN044的结合分子,其结合KN044的KD值小于 1×10^{-7} M,优选小于 1×10^{-8} M,更优选小于 1×10^{-9} M,更优选小于 1×10^{-10} M,尤其更优选小于 1×10^{-11} M。

8. 核酸分子,其编码权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子。

9. 表达载体,其包含与表达调控元件可操作地连接的权利要求8的核酸分子。

10. 宿主细胞,其包含权利要求8的核酸分子或以权利要求9的表达载体转化,并能够表达所述针对KN044的结合分子。

11. 产生权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子的方法,包括:

- a) 在允许所述针对KN044的结合分子表达的条件下培养权利要求10的宿主细胞;
- b) 从得自步骤a)的培养物回收由所述宿主细胞表达的针对KN044的结合分子;及
- c) 任选进一步纯化和/或修饰得自步骤b)的针对KN044的结合分子。

12. 一种检测靶样品中KN044的存在和/或对靶样品中KN044定量的试剂盒, 包含权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子。

13. 权利要求12的试剂盒, 其还包含含有预定量的KN044的对照样品。

14. 一种检测靶样品中KN044的存在和/或对样品中KN044定量的方法, 所述方法包括:

a) 在针对KN044的结合分子与KN044之间能够形成复合物的条件下, 使所述靶样品和对照样品分别与权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子接触;

b) 检测复合物的形成,

其中所述靶样品与对照样品之间复合物形成的差异指示靶样品中KN044的存在和/或量, 优选地, 所述对照样品含有预定量的KN044。

15. 权利要求14的方法, 其用于KN044的药代动力学检测, 所述靶样品为血液样品, 例如, 血浆或血清。

16. 一种用于检测针对KN044的抗药抗体 (ADA) 的试剂盒, 包含权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子, 其中所述针对KN044的结合分子用作所述针对KN044的抗药抗体 (ADA) 检测的阳性抗体。

17. 权利要求16的试剂盒, 其还包含KN044。

18. 一种用于检测靶样品中KN044的抗药抗体 (ADA) 的方法, 所述方法包括:

a) 使KN044分别与靶样品和权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子接触;

b) 检测复合物的形成,

其中KN044与权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子所形成的复合物用作靶样品中KN044的抗药抗体 (ADA) 检测的阳性对照, 所述靶样品为施用了KN044的对象的血液样品, 例如, 血浆或血清。

19. 药物组合物, 其包含权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子以及药学上可接受的载体。

20. 一种在对象中减少由于施用KN044所引发的副作用的方法, 包括给所述对象施用有效量的权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子或权利要求19的药物组合物, 所述KN044用于在所述对象中预防和/或治疗与CTLA4相关的疾病, 例如癌症或感染性疾病。

21. 如权利要求20的方法, 其中所述由于施用KN044所引发的副作用为细胞因子风暴。

22. 如权利要求20或21所述的方法, 其中所述针对KN044的结合分子或药物组合物用于中和KN044。

23. 权利要求1-7中任一项的针对KN044的结合分子或权利要求19的药物组合物在制备药物中的用途, 所述药物用于减少由于施用KN044所引发的副作用, 所述KN044用于在所述对象中预防和/或治疗与CTLA4相关的疾病, 例如癌症或感染性疾病。

针对KN044的单域抗体

技术领域

[0001] 本发明涉及医药生物领域，公开了针对KN044的单域抗体。具体而言，本发明公开了一种衍生自所述单域抗体的针对KN044的结合分子及其用途，特别是在检测KN044、用作KN044的抗药抗体 (ADA) 检测的阳性抗体、治疗由于施用KN044所引发的副作用中的用途。

背景技术

[0002] KN044是一种针对CTLA4的重组人源化抗CTLA4单域抗体Fc融合蛋白(参见CN201610332590.7)。KN044具有高特异性、高亲和力和高稳定性，用于预防和/或治疗与CTLA4相关的疾病，如癌症或感染性疾病。

[0003] 在KN044的相关研究中，需要能够识别KN044并与KN044高亲和力结合的分子用于KN044的检测。另外，抗药抗体 (ADA) 反应可能会降低药物疗效或导致严重的不良反应，需要用于KN044的抗药抗体 (ADA) 检测的阳性抗体，用于临床试验的免疫原性研究。此外，考虑到针对CTLA4的抗体药物KN044有可能引发细胞因子风暴，需要能够快速中和KN044活性的药物，作为应对细胞因子风暴等急性严重副作用的临床应急治疗手段。

[0004] 发明概述

[0005] 在第一方面，本发明提供一种针对KN044的结合分子，其能够结合KN044且包含至少一个免疫球蛋白单一可变结构域，所述至少一个免疫球蛋白单一可变结构域包含选自以下的CDR1、CDR2和CDR3：

[0006] (1) SEQ ID NO:1所示的CDR1, SEQ ID NO:2所示的CDR2, SEQ ID NO:3所示的CDR3;

[0007] (2) SEQ ID NO:4所示的CDR1, SEQ ID NO:5所示的CDR2, SEQ ID NO:6所示的CDR3;

[0008] (3) SEQ ID NO:7所示的CDR1, SEQ ID NO:8所示的CDR2, SEQ ID NO:9所示的CDR3;

[0009] (4) SEQ ID NO:10所示的CDR1, SEQ ID NO:11所示的CDR2, SEQ ID NO:12所示的CDR3;

[0010] (5) SEQ ID NO:13所示的CDR1, SEQ ID NO:14所示的CDR2, SEQ ID NO:15所示的CDR3;

[0011] (6) SEQ ID NO:16所示的CDR1, SEQ ID NO:17所示的CDR2, SEQ ID NO:18所示的CDR3;

[0012] (7) SEQ ID NO:19所示的CDR1, SEQ ID NO:20所示的CDR2, SEQ ID NO:21所示的CDR3;

[0013] (8) SEQ ID NO:22所示的CDR1, SEQ ID NO:23所示的CDR2, SEQ ID NO:24所示的CDR3;

[0014] (9) SEQ ID NO:25所示的CDR1, SEQ ID NO:26所示的CDR2, SEQ ID NO:27所示的CDR3;

[0015] (10) SEQ ID NO:28所示的CDR1, SEQ ID NO:29所示的CDR2, SEQ ID NO:30所示的CDR3;

[0016] (11) SEQ ID NO:31所示的CDR1, SEQ ID NO:32所示的CDR2, SEQ ID NO:33所示的

CDR3;

[0017] (12) SEQ ID NO:34所示的CDR1,SEQ ID NO:35所示的CDR2,SEQ ID NO:36所示的CDR3;

[0018] (13) SEQ ID NO:37所示的CDR1,SEQ ID NO:38所示的CDR2,SEQ ID NO:39所示的CDR3;

[0019] (14) SEQ ID NO:40所示的CDR1,SEQ ID NO:41所示的CDR2,SEQ ID NO:42所示的CDR3;

[0020] (15) SEQ ID NO:43所示的CDR1,SEQ ID NO:44所示的CDR2,SEQ ID NO:45所示的CDR3;

[0021] (16) SEQ ID NO:46所示的CDR1,SEQ ID NO:47所示的CDR2,SEQ ID NO:48所示的CDR3;和

[0022] (17) SEQ ID NO:49所示的CDR1,SEQ ID NO:50所示的CDR2,SEQ ID NO:51所示的CDR3。

[0023] 在一些实施方案中,所述免疫球蛋白单一可变结构域是VHH,例如,人源化的VHH。

[0024] 在一些具体实施方案中,所述VHH包含SEQ ID NO:52-68中任一氨基酸序列。

[0025] 在一些实施方案中,所述针对KN044的结合分子还包含免疫球蛋白Fc区。

[0026] 在一些实施方案中,所述免疫球蛋白Fc区是人免疫球蛋白Fc区,优选是人IgG1的Fc区;或是鼠免疫球蛋白Fc区,优选是鼠IgG1的Fc区。

[0027] 在一些具体实施方案中,所述人免疫球蛋白Fc区的氨基酸序列示于SEQ ID NO:69,所述鼠免疫球蛋白Fc区的氨基酸序列示于SEQ ID NO:70。

[0028] 在一些具体实施方案中,所述针对KN044的结合分子结合KN044的KD值小于 1×10^{-7} M,优选小于 1×10^{-8} M,更优选小于 1×10^{-9} M,更优选小于 1×10^{-10} M,尤其更优选小于 1×10^{-11} M。

[0029] 在第二方面,本发明提供一种核酸分子,其编码本发明的针对KN044的结合分子。

[0030] 在第三方面,本发明提供一种表达载体,其包含与表达调控元件可操作地连接的本发明第二方面的核酸分子。

[0031] 在第四方面,本发明提供一种宿主细胞,其包含本发明的核酸分子或以本发明的表达载体转化,并能够表达所述针对KN044的结合分子。

[0032] 在第五方面,本发明提供一种产生本发明的针对KN044的结合分子的方法,包括:

[0033] a) 在允许所述针对KN044的结合分子表达的条件下培养本发明的宿主细胞;

[0034] b) 从得自步骤a)的培养物回收由所述宿主细胞表达的针对KN044的结合分子;及

[0035] c) 任选进一步纯化和/或修饰得自步骤b)的针对KN044的结合分子。

[0036] 在第六方面,本发明提供一种检测靶样品中KN044的存在和/或对靶样品中KN044定量的试剂盒,包含本发明的针对KN044的结合分子。

[0037] 在一些实施方案中,所述试剂盒还包含含有预定量的KN044的对照样品。

[0038] 在第七方面,本发明提供一种检测靶样品中KN044的存在和/或对样品中KN044定量的方法,所述方法包括:

[0039] a) 在针对KN044的结合分子与KN044之间能够形成复合物的条件下,使所述靶样品和对照样品分别与本发明的针对KN044的结合分子接触;

[0040] b) 检测复合物的形成,

[0041] 其中所述靶样品与对照样品之间复合物形成的差异指示靶样品中KN044的存在和/或量,优选地,所述对照样品含有预定量的KN044。

[0042] 在一些实施方案中,所述方法用于KN044的药代动力学检测,所述靶样品为血液样品,例如,血浆或血清。

[0043] 在第八方面,本发明提供一种用于KN044的抗药抗体(ADA)检测的试剂盒,包含本发明的针对KN044的结合分子,其中所述针对KN044的结合分子用作所述KN044的抗药抗体(ADA)检测的阳性抗体。

[0044] 在一些实施方案中,所述试剂盒还包含KN044。

[0045] 在第九方面,本发明提供一种用于靶样品中KN044的抗药抗体(ADA)检测的方法,所述方法包括:

[0046] a) 使KN044分别与靶样品和本发明的针对KN044的结合分子接触;

[0047] b) 检测复合物的形成,

[0048] 其中KN044与本发明的针对KN044的结合分子所形成的复合物用作靶样品中KN044的抗药抗体(ADA)检测的阳性对照,所述靶样品为施用了KN044的对象的血液样品,例如,血浆或血清。

[0049] 在第十方面,本发明提供一种药物组合物,其包含本发明的针对KN044的结合分子以及药学上可接受的载体。

[0050] 在第十一方面,本发明提供一种在对象中治疗由于施用KN044所引发的副作用的方法,包括给所述对象施用有效量的本发明的针对KN044的结合分子或本发明的药物组合物,所述KN044用于在所述对象中预防和/或治疗与CTLA4相关的疾病,例如癌症或感染性疾病。

[0051] 在一些实施方案中,所述由于施用KN044所引发的副作用为细胞因子风暴。

[0052] 在一些实施方案中,所述针对KN044的结合分子或药物组合物用于中和KN044。

[0053] 在第十二方面,本发明提供本发明的针对KN044的结合分子或本发明的药物组合物在制备药物中的用途,所述药物用于治疗由于施用KN044所引发的副作用,所述KN044用于在所述对象中预防和/或治疗与CTLA4相关的疾病,例如癌症或感染性疾病。

[0054] 在第十三方面,本发明提供本发明的针对KN044的结合分子或本发明的药物组合物,其用于治疗由于施用KN044所引发的副作用,所述KN044用于在所述对象中预防和/或治疗与CTLA4相关的疾病,例如癌症或感染性疾病。

附图说明

[0055] 图1. 示出针对KN044的单域抗体的序列。

[0056] 图2. 示出针对KN044的带有His标签的候选单域抗体与抗原KN044的结合曲线。

[0057] 图3. 示出针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白与抗原KN044的结合曲线。

[0058] 发明详述

[0059] 定义

[0060] 除非另有指示或定义,否则所有所用术语均具有本领域中的通常含义,该含义将为本领域技术人员所了解。参考例如标准手册,如Sambrook et al., "Molecular Cloning:

A Laboratory Manual”;Lewin,“Genes VIII”;及Roitt et al.,“Immunology”(第8版),以及本文中引用的一般现有技术;此外,除非另有说明,否则未具体详述的所有方法、步骤、技术及操作均可以且已经以本身已知的方式进行,该方式将为本领域技术人员所了解。亦参考例如标准手册、上述一般现有技术及其中引用的其他参考文献。

[0061] 除非另有说明,否则可互换使用的术语“抗体”或“免疫球蛋白”在本文中无论是指重链抗体还是指常规4链抗体,均用作一般术语以包括全长抗体、其单个的链以及其所有部分、结构域或片段(包括但不限于抗原结合结构域或片段,分别例如VHH结构域或VH/VL结构域)。此外,本文所用的术语“序列”(例如在“免疫球蛋白序列”、“抗体序列”、“单一可变结构域序列”、“VHH序列”或“蛋白序列”等的术语中)一般应理解为既包括相关氨基酸序列,又包括编码所述序列的核酸序列或核苷酸序列,除非本文需要更限定的解释。

[0062] 如本文所用,术语(多肽或蛋白的)“结构域”是指折叠蛋白结构,其能够独立于蛋白的其余部分维持其三级结构。一般而言,结构域负责蛋白的单个的功能性质,且在许多情况下可添加、移除或转移至其他蛋白而不损失蛋白的其余部分和/或结构域的功能。

[0063] 如本文所用的术语“免疫球蛋白结构域”是指抗体链(例如常规4链抗体的链或重链抗体的链)的球形区域,或是指基本上由这类球形区域组成的多肽。免疫球蛋白结构域的特征在于其维持抗体分子的免疫球蛋白折叠特征,其由排列在两个 β 折叠中任选由保守二硫键稳定的约7个反平行 β 折叠股的2层夹层组成。

[0064] 如本文所用的术语“免疫球蛋白可变结构域”是指基本上由本领域及下文中分别称为“框架区1”或“FR1”、“框架区2”或“FR2”、“框架区3”或“FR3”、及“框架区4”或“FR4”的四个“框架区”组成的免疫球蛋白结构域,其中所述框架区由本领域及下文中分别称为“互补决定区1”或“CDR1”、“互补决定区2”或“CDR2”、及“互补决定区3”或“CDR3”的三个“互补决定区”或“CDR”间隔开。因此,免疫球蛋白可变结构域的一般结构或序列可如下表示为:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。免疫球蛋白可变结构域因具有抗原结合位点而赋予抗体对抗原的特异性。

[0065] 如本文所用的术语“免疫球蛋白单一可变结构域”是指能够在不与其他免疫球蛋白可变结构域配对的情况下特异性结合抗原表位的免疫球蛋白可变结构域。本发明含义中的免疫球蛋白单一可变结构域的一个实例为“结构域抗体”,例如免疫球蛋白单一可变结构域VH及VL(VH结构域及VL结构域)。免疫球蛋白单一可变结构域的另一实例为如下文定义的骆驼科的“VHH结构域”(或简称为“VHH”)。

[0066] “VHH结构域”,亦称为重链单域抗体、VHH、V_HH结构域、VHH抗体片段和VHH抗体,是称为“重链抗体”(即“缺乏轻链的抗体”)的抗原结合免疫球蛋白的可变结构域(Hamers-Casterman C,Atarhouch T,Muyldermans S,Robinson G,Hamers C,Songa EB,Bendahan N,Hamers R.:“Naturally occurring antibodies devoid of light chains”;Nature 363,446-448(1993))。使用术语“VHH结构域”以将所述可变结构域与存在于常规4链抗体中的重链可变结构域(其在本文中称为“VH结构域”)以及存在于常规4链抗体中的轻链可变结构域(其在本文中称为“VL结构域”)进行区分。VHH结构域特异性结合表位而无需其他抗原结合结构域(此与常规4链抗体中的VH或VL结构域相反,在该情况下表位由VL结构域与VH结构域一起识别)。VHH结构域为由单一免疫球蛋白结构域形成的小型稳定及高效的抗原识别单元。

[0067] 在本发明的上下文中,术语“重链单域抗体”、“VHH结构域”、“VHH”、“V_HH结构域”、“VHH抗体片段”、“VHH抗体”以及“Nanobody®”及“Nanobody®结构域”(“Nanobody”为Ablynx N.V.公司,Ghent,Belgium的商标)可互换使用。

[0068] 例如Riechmann及Muyldermans,J.Immunol.Methods 231,25-38(1999)的图2中所示,对于骆驼科的VHH结构域所应用的氨基酸残基,根据Kabat等人给出的VH结构域的一般编号法来编号(“Sequence of proteins of immunological interest”,US Public Health Services,NIH Bethesda,MD,公开案第91号)。根据该编号法,

[0069] -FR1包含在位置1-30处的氨基酸残基,

[0070] -CDR1包含在位置31-35处的氨基酸残基,

[0071] -FR2包含在位置36-49处的氨基酸,

[0072] -CDR2包含在位置50-65处的氨基酸残基,

[0073] -FR3包含在位置66-94处的氨基酸残基,

[0074] -CDR3包含在位置95-102处的氨基酸残基,且

[0075] -FR4包含在位置103-113处的氨基酸残基。

[0076] 然而应注意,如本领域中对于VH结构域及VHH结构域所公知的,各CDR中的氨基酸残基的总数可能不同,且可能不对应于由Kabat编号指示的氨基酸残基的总数(即根据Kabat编号的一个或多个位置可能在实际序列中未被占据,或实际序列可能含有多于Kabat编号所允许数目的氨基酸残基)。这意味着一般而言,根据Kabat的编号可能对应或可能不对应于实际序列中氨基酸残基的实际编号。

[0077] 本领域中已知还有对VH结构域的氨基酸残基进行编号的其他系统,如Chothia编号系统。Chothia的氨基酸编号与Kabat相同,但其将对CDR区划分是基于抗体可变区结构中的环(loop)区来进行的,因此在CDR区所包含的氨基酸区域上会与Kabat的有所不同。此外还有AbM编码系统等。所述其他编码系统也可以类似地应用于VHH结构域。然而,除非另有说明,否则在本说明书、权利要求书及附图中,将遵循如上所述的根据Kabat且适于VHH结构域的编号,或者综合Kabat与Chothia的编号。

[0078] VHH结构域中的氨基酸残基的总数将通常在110至120范围内,常常介于112与115之间。然而应注意较小及较长序列也可适于本文所述的目的。

[0079] VHH结构域及含有其的多肽的其他结构特性及功能性质可总结如下:

[0080] VHH结构域(其已经天然“设计”以在不存在轻链可变结构域且不与轻链可变结构域相互作用的情况下与抗原功能性结合)可用作单一且相对较小的功能性抗原结合结构单元、结构域或多肽。此区分VHH结构域与常规4链抗体的VH及VL结构域,这些VH及VL结构域自身通常不适于作为单一抗原结合蛋白或免疫球蛋白单一可变结构域进行实际应用,但需要以某种形式或另一形式组合以提供功能性抗原结合单元(如以诸如Fab片段等常规抗体片段的形式;或以由与VL结构域共价连接的VH结构域组成的scFv的形式)。

[0081] 由于这些独特性质,使用VHH结构域一单独或作为较大多肽的一部分一提供许多优于使用常规VH及VL结构域、scFv或常规抗体片段(例如Fab-或F(ab')₂-片段)的显著优势:仅需要单一结构域以高亲和力及高选择性结合抗原,从而使得既不需要存在两个单独结构域,也不需要确保该两个结构域以适当空间构象及构型存在(例如scFv一般需要使用经特别设计的接头);VHH结构域可自单一基因表达且不需要翻译后折叠或修饰;VHH结构域

可容易地改造成多价及多特性格式(格式化);VHH结构域高度可溶且无聚集趋势;VHH结构域对热、pH、蛋白酶及其他变性剂或条件高度稳定,且因此可在制备、储存或运输中不使用冷冻设备,从而达成节约成本、时间及环境;VHH结构域易于制备且相对廉价,甚至在生产所需的规模上亦如此;VHH结构域与常规4链抗体及其抗原结合片段相比相对较小(大约15kDa或大小为常规IgG的1/10),因此相比于常规4链抗体及其抗原结合片段,显示较高的组织渗透性且可以较高剂量给药;VHH结构域可显示所谓腔结合性质(尤其由于与常规VH结构域相比其延长的CDR3环),从而可到达常规4链抗体及其抗原结合片段不可到达的靶及表位。

[0082] 获得结合特定抗原或表位的VHH的方法,先前已公开于以下文献中:R.van der Linden et al.,*Journal of Immunological Methods*,240(2000)185-195;Li et al.,*J Biol Chem.*,287(2012)13713-13721;Deffar et al.,*African Journal of Biotechnology* Vol.8(12),pp.2645-2652,17June,2009;W094/04678;US7790367,2006-09-14,METHOD FOR SCREENING A LIBRARY OF VHH POLYPEPTIDES,Casterman,Cecile,Hamers,Raymond;和US 7786047,2006-02-10,IMMUNOGLOBULINS DEVOID OF LIGHTCHAINS,Casterman,Cecile,Hamers,Raymond。

[0083] 此外,本领域技术人员还将了解,有可能将一个或多个上述CDR“移植”于其他“支架”(包括但不限于人支架或非免疫球蛋白支架)上。适于所述CDR移植的支架及技术在本领域中是已知的。

[0084] 如本文所用,术语“表位”或可互换使用的术语“抗原决定簇”指抗体的互补位所结合的抗原上的任何抗原决定簇。抗原决定簇通常包含分子的化学活性表面基团,例如氨基酸或糖侧链,并且通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。例如,表位通常以独特的空间构象包括至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个连续或非连续的氨基酸,其可以是“线性”表位或“构象”表位。参见,例如,*Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*,第66卷,G.E.Morris,Ed.(1996)。在线性表位中,蛋白质与相互作用分子(例如抗体)之间的所有相互作用的点沿着蛋白质的一级氨基酸序列线性存在。在构象表位中,相互作用的点跨越彼此分开的蛋白质氨基酸残基而存在。

[0085] 可使用本领域中熟知的许多表位定位技术鉴别给定抗原的表位。参见例如*Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*,第66卷,G.E.Morris,Ed.(1996)。举例而言,线性表位可通过例如以下方法来确定:在固体支持物上同时合成大量肽,其中这些肽对应于蛋白质分子的各部分,且使这些肽在仍然与支持物连接的情况下与抗体反应。这些技术在本领域中为已知的且描述于例如美国专利第4,708,871号;Geysen等人(1984)*Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 81:3998-4002;Geysen等人(1986)*Molec.Immunol.*23:709-715中。类似地,构象表位可通过诸如通过例如x射线结晶学及2维核磁共振确定氨基酸的空间构形加以鉴别。参见例如*Epitope Mapping Protocols*(同上)。

[0086] 可使用本领域技术人员已知的常规技术,就与相同表位的结合竞争性筛选抗体。例如,可进行竞争和交叉竞争研究,以获得彼此竞争或交叉竞争与抗原结合的抗体。基于它们的交叉竞争来获得结合相同表位的抗体的高通量方法描述于国际专利申请W003/48731中。因此,可使用本领域技术人员已知的常规技术,获得与本发明的抗体分子竞争结合KN044上的相同表位的抗体及其抗原结合片段。

[0087] 一般而言,术语“特异性”是指特定抗原结合分子或抗原结合蛋白(例如本发明的免疫球蛋白单一可变结构域)分子可结合的不同类型抗原或表位的数目。可基于抗原结合分子的亲和力和/或亲合力确定其特异性。由抗原与抗原结合蛋白的解离平衡常数(KD)所表示的亲和力,是表位与抗原结合蛋白上抗原结合位点之间结合强度的量度:KD值越小,表位与抗原结合分子之间的结合强度越强(或者,亲和力也可表示为缔合常数(KA),其为 $1/KD$)。如本领域技术人员将了解,取决于具体感兴趣的抗原,可以以已知方式测定亲和力。亲合力为抗原结合分子(例如免疫球蛋白、抗体、免疫球蛋白单一可变结构域或含有其的多肽)与相关抗原之间结合强度的量度。亲合力与以下两者有关:与其抗原结合分子上的抗原结合位点之间的亲和力,以及存在于抗原结合分子上的相关结合位点的数目。

[0088] 如本文所用,术语“针对KN044的结合分子”意指任何能够以高亲和力结合KN044的分子。针对KN044的结合分子可以包括针对KN044的如本文定义的抗体或其缀合物。针对KN044的结合分子还涵盖免疫球蛋白超家族抗体(IgSF)或CDR移植分子。

[0089] “针对KN044的结合分子”或者可以指结合KN044的单价分子(即与KN044的一个表位结合的分),以及二价或多价结合分子(即结合一个以上表位的结合分子)。本发明的“针对KN044的结合分子”可以包含至少一个结合KN044的免疫球蛋白单一可变结构域如VHH。在一些实施方案中,本发明的“针对KN044的结合分子”可以包含两个结合KN044的免疫球蛋白单一可变结构域如VHH。

[0090] 通常,本发明的针对KN044的结合分子将以如通过Biacore或KinExA或生物膜干涉技术(Biolayerinterferometry,BLI)测量的优选 10^{-7} 至 10^{-11} 摩尔/升(M)、更优选 10^{-8} 至 10^{-11} 摩尔/升、甚至更优选 10^{-9} 至 10^{-11} 、甚至更优选 10^{-10} 至 10^{-11} 或更低的解离常数(KD),和/或以至少 $10^7 M^{-1}$ 、优选至少 $10^8 M^{-1}$ 、更优选至少 $10^9 M^{-1}$,更优选至少 $10^{10} M^{-1}$ 、例如至少 $10^{11} M^{-1}$ 的缔合常数(KA)结合所要结合的抗原(即KN044)。抗原结合蛋白对抗原或表位的结合可以以已知的任何适合方式来测定,包括例如表面等离子体共振术(SPR)测定、Scatchard测定、生物膜干涉(Bio-Layer Interferometry,BLI)检测、和/或竞争性结合测定(例如放射免疫测定(RIA)、酶免疫测定(EIA)及夹心式竞争性测定。

[0091] 相比于其天然生物来源和/或获得该多肽或核酸分子的反应介质或培养基,当其已与至少一种在该来源或介质(培养基)中通常与之相关的其他组分(例如另一蛋白/多肽、另一核酸、另一生物组分或大分子或至少一种污染物、杂质或微量组分)分离时,多肽或核酸分子视为“基本上分离的”。特别地,多肽或核酸分子在其已纯化至少2倍、特别是至少10倍、更特别是至少100倍且多达1000倍或1000倍以上时被视为“基本上分离的”。经适合的技术(例如适合色谱技术,如聚丙烯酰胺凝胶电泳)确定,“基本上分离的”多肽或核酸分子优选基本上为均质的。

[0092] “亲和力成熟”的针对KN044的抗体,特别是VHH或结构域抗体,在一个或多个CDR中具有一个或多个变化,所述变化导致对KN044的亲和力相比于其各自的亲本针对KN044的抗体有所增加。亲和力成熟的针对KN044的抗体可通过例如由以下所述的本领域中已知的方法来制备: Marks等人,1992,Biotechnology 10:779-783或Barbas等人,1994,Proc.Nat.Acad.Sci,USA 91:3809-3813.; Shier等人,1995,Gene 169:147-155; Yelton等人,1995,Immunol.155:1994-2004; Jackson等人,1995,J.Immunol.154(7):3310-9;及Hawkins等人,1992,J.Mol.Biol.226(3):889896;KS Johnson及RE Hawkins,“Affinity

maturation of antibodies using phage display”, Oxford University Press 1996。

[0093] 如本文所用的术语“对象”意指哺乳动物,尤其灵长类动物,尤其是人。

[0094] 如本文所用的术语“抗药抗体”或“ADA”指与药物抗体的抗原性区域结合的抗体。这种抗原性区域可以是药物抗体的可变区、CDR、恒定区或糖结构。这种抗药抗体可在药物疗法过程中由于对象的免疫原性反应发生,这样的免疫原性反应可能会降低药物疗效或导致严重的不良反应。术语“药物抗体”指可施用至对象用于治疗疾病的抗体,例如,在本发明的实施方案中,药物抗体为KN044。

[0095] 本发明的针对KN044的结合分子

[0096] 在第一方面,本发明提供了一种针对KN044的结合分子,其包含至少一个能够结合KN044的免疫球蛋白单一可变结构域。在一些实施方案中,所述针对KN044的结合分子包含一个结合KN044的免疫球蛋白单一可变结构域。在一些实施方案中,所述针对KN044的结合分子包含两个或更多个结合KN044的免疫球蛋白单一可变结构域。在一些实施方式中,本发明所述的KN044包含示于SEQ ID NO:88的氨基酸序列。

[0097] 在一些实施方案中,所述至少一个免疫球蛋白单一可变结构域包含选自以下的CDR1、CDR2和CDR3:

[0098] (1) SEQ ID NO:1所示的CDR1,SEQ ID NO:2所示的CDR2,SEQ ID NO:3所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-19-3的CDR);

[0099] (2) SEQ ID NO:4所示的CDR1,SEQ ID NO:5所示的CDR2,SEQ ID NO:6所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-97的CDR);

[0100] (3) SEQ ID NO:7所示的CDR1,SEQ ID NO:8所示的CDR2,SEQ ID NO:9所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-125的CDR);

[0101] (4) SEQ ID NO:10所示的CDR1,SEQ ID NO:11所示的CDR2,SEQ ID NO:12所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-194的CDR);

[0102] (5) SEQ ID NO:13所示的CDR1,SEQ ID NO:14所示的CDR2,SEQ ID NO:15所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-200的CDR);

[0103] (6) SEQ ID NO:16所示的CDR1,SEQ ID NO:17所示的CDR2,SEQ ID NO:18所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-216的CDR);

[0104] (7) SEQ ID NO:19所示的CDR1,SEQ ID NO:20所示的CDR2,SEQ ID NO:21所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-220的CDR);

[0105] (8) SEQ ID NO:22所示的CDR1,SEQ ID NO:23所示的CDR2,SEQ ID NO:24所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-227的CDR);

[0106] (9) SEQ ID NO:25所示的CDR1,SEQ ID NO:26所示的CDR2,SEQ ID NO:27所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-235的CDR);

[0107] (10) SEQ ID NO:28所示的CDR1,SEQ ID NO:29所示的CDR2,SEQ ID NO:30所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-244的CDR);

[0108] (11) SEQ ID NO:31所示的CDR1,SEQ ID NO:32所示的CDR2,SEQ ID NO:33所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-249的CDR);

[0109] (12) SEQ ID NO:34所示的CDR1,SEQ ID NO:35所示的CDR2,SEQ ID NO:36所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-252的CDR);

[0110] (13) SEQ ID NO:37所示的CDR1,SEQ ID NO:38所示的CDR2,SEQ ID NO:39所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-264的CDR);

[0111] (14) SEQ ID NO:40所示的CDR1,SEQ ID NO:41所示的CDR2,SEQ ID NO:42所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-266的CDR);

[0112] (15) SEQ ID NO:43所示的CDR1,SEQ ID NO:44所示的CDR2,SEQ ID NO:45所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-268的CDR);

[0113] (16) SEQ ID NO:46所示的CDR1,SEQ ID NO:47所示的CDR2,SEQ ID NO:48所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-275的CDR);和

[0114] (17) SEQ ID NO:49所示的CDR1,SEQ ID NO:50所示的CDR2,SEQ ID NO:51所示的CDR3(对应于抗体株nKN044-280的CDR)。

[0115] 在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子中的至少一个免疫球蛋白单一可变结构域是VHH,例如,人源化的VHH。在一些具体实施方案中,所述VHH包含SEQ ID NO:52-68中任一氨基酸序列。在另一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子中的VHH包含与SEQ ID NO:52-68中任一具有至少80%、优选地至少90%、更优选地至少95%、甚至更优选地至少99%的序列相同性的氨基酸序列。或者,所述VHH的氨基酸序列与SEQ ID NO:52-68中任一相比包含一或多个氨基酸取代,优选保守氨基酸取代。例如,包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个保守氨基酸取代。

[0116] 在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子是经过亲和力成熟获得的。经亲和力成熟的针对KN044的结合分子可以在一个或多个CDR中具有一个或多个变化,所述变化导致对KN044的亲和力相比于亲本针对KN044的结合分子有所增加。

[0117] 在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子,除了至少一个能够特异性结合KN044的免疫球蛋白单一可变结构域外,还包含免疫球蛋白Fc区。在本发明的针对KN044的结合分子中包含免疫球蛋白Fc区可以使所述结合分子形成二聚体。可用于本发明的Fc区可以来自不同亚型的免疫球蛋白,例如,IgG(例如,IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚型)、IgA1、IgA2、IgD、IgE或IgM。

[0118] 在一些实施方案中,所述免疫球蛋白Fc区优选是人免疫球蛋白Fc区,更优选是人IgG1的Fc区。在一些具体实施方案中,所述免疫球蛋白Fc区的氨基酸序列示于SEQ ID NO:69。

[0119] 在一些实施方案中,所述免疫球蛋白Fc区优选是鼠免疫球蛋白Fc区,更优选是鼠IgG1的Fc区。在一些具体实施方案中,所述免疫球蛋白Fc区的氨基酸序列示于SEQ ID NO:70。

[0120] 在一些具体实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子中,所述免疫球蛋白Fc区(例如人IgG1的Fc区或鼠IgG1的Fc区)直接或通过接头(如肽接头)间接连接至所述免疫球蛋白单一可变结构域(如VHH)的C端。

[0121] 在另一方面,本发明的针对KN044的结合分子还涵盖能够与由SEQ ID NO:52-68中任一氨基酸序列组成的VHH结合KN044上的相同表位的针对KN044的抗体分子。

[0122] 本发明的所述针对KN044的结合分子结合KN044的KD值可以小于 1×10^{-7} M,优选小于 1×10^{-8} M、更优选小于 1×10^{-9} M、更优选小于 1×10^{-10} M、尤其更优选小于 1×10^{-11} M。

[0123] 在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子不阻断KN044与靶点(例如

CTLA4)之间的相互作用。

[0124] 在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子可阻断KN044与靶点(例如CTLA4)之间的相互作用。在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子用于作为KN044抗药抗体(ADA)检测的阳性抗体。

[0125] 在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子用于KN044的药代动力学检测。

[0126] 核酸、载体、宿主细胞

[0127] 在另一方面中,本发明涉及编码本发明的针对KN044的结合分子的核酸分子。本发明的核酸可为RNA、DNA或cDNA。根据本发明的一个实施方案,本发明的核酸是基本上分离的核酸。在一些具体实施方式中,编码本发明的针对KN044的结合分子的核酸分子包含SEQ ID NO:71-87中任一核苷酸序列。

[0128] 本发明的核酸也可呈载体形式,可存在于载体中和/或可为载体的一部分,该载体例如质粒、粘端质粒或YAC。载体可尤其为表达载体,即可提供针对KN044的结合分子体外和/或体内(即在适合宿主细胞、宿主有机体和/或表达系统中)表达的载体。该表达载体通常包含至少一种本发明的核酸,其可操作地连接至一个或多个适合的表达调控元件(例如启动子、增强子、终止子等)。针对在特定宿主中的表达对所述元件及其序列进行选择为本领域技术人员的常识。对本发明的针对KN044的结合分子的表达有用或必需的调控元件及其他元件的具体实例,例如启动子、增强子、终止子、整合因子、选择标记物、前导序列、报告基因。

[0129] 本发明的核酸可基于关于本文给出的本发明的多肽的氨基酸序列的信息通过已知的方式(例如通过自动DNA合成和/或重组DNA技术)制备或获得,和/或可从适合的天然来源加以分离。

[0130] 在另一方面中,本发明涉及表达或能够表达一种或多种本发明的针对KN044的结合分子和/或含有本发明的核酸或载体的宿主细胞。本发明的优选宿主细胞为细菌细胞、真菌细胞或哺乳动物细胞。

[0131] 适合的细菌细胞包括革兰氏阴性细菌菌株(例如大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌株、变形杆菌属(*Proteus*)菌株及假单胞菌属(*Pseudomonas*)菌株)及革兰氏阳性细菌菌株(例如芽孢杆菌属(*Bacillus*)菌株、链霉菌属(*Streptomyces*)菌株、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)菌株及乳球菌属(*Lactococcus*)菌株)的细胞。

[0132] 适合的真菌细胞包括木霉属(*Trichoderma*)、脉孢菌属(*Neurospora*)及曲菌属(*Aspergillus*)的物种的细胞;或者包括酵母属(*Saccharomyces*) (例如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*))、裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces*) (例如粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*))、毕赤酵母属(*Pichia*) (例如巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*))及嗜甲醇毕赤酵母(*Pichia methanolica*))及汉森酵母属(*Hansenula*)的物种的细胞。

[0133] 适合的哺乳动物细胞包括例如HEK293细胞、CHO细胞、BHK细胞、HeLa细胞、COS细胞等。

[0134] 然而,本发明也可使用两栖类细胞、昆虫细胞、植物细胞及本领域中用于表达异源蛋白的任何其他细胞。

[0135] 本发明还提供产生本发明的针对KN044的结合分子的方法,所述方法通常包含以下步骤:

[0136] -在允许表达本发明的针对KN044的结合分子的条件培养本发明的宿主细胞;及

[0137] -从培养物回收由所述宿主细胞表达的针对KN044的结合分子;及

[0138] -任选进一步纯化和/或修饰本发明的针对KN044的结合分子。

[0139] 在一个优选的实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子使用哺乳动物细胞产生。本发明的针对KN044的结合分子可以在哺乳动物细胞中获得高表达。例如,表达水平可达大约100mg/L、优选大约150mg/L、优选大约200mg/L、优选大约300mg/L、更优选大约400mg/L或更优选大约500mg/L或者更高。

[0140] 本发明的针对KN044的结合分子可在如上所述细胞中以细胞内方式(例如在细胞质中、在周质中或在包涵体中)产生,接着从宿主细胞分离且任选进一步纯化;或其可以细胞外方式(例如在培养宿主细胞的培养基中)产生,接着自培养基分离且任选进一步纯化。

[0141] 用于重组产生多肽的方法及试剂,例如特定适合表达载体、转化或转染方法、选择标记物、诱导蛋白表达的方法、培养条件等在本领域中是已知的。类似地,适用于制造本发明的针对KN044的结合分子的方法中的蛋白分离及纯化技术为本领域技术人员所公知。

[0142] 然而,本发明的针对KN044的结合分子也可以通过本领域已知的其它产生蛋白质的方法获得,例如化学合成,包括固相或液相合成。

[0143] 检测

[0144] 在另一方面,本发明提供了一种检测靶样品中KN044的存在和/或对样品中KN044定量的方法,所述方法包括:

[0145] a) 在针对KN044的结合分子与KN044之间能够形成复合物的条件下,使所述靶样品和对照样品分别与本发明的针对KN044的结合分子接触;

[0146] b) 检测复合物的形成,

[0147] 其中所述靶样品与对照样品之间复合物形成的差异指示靶样品中KN044的存在,优选地,所述对照样品含有预定量的KN044。

[0148] 在一些实施方案中,所述方法用于KN044的药代动力学检测,所述靶样品为血液样品,例如,血浆或血清。

[0149] 在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子可缀合有可用于检测或可被其他试剂检测到的荧光染料、化学物质、多肽、酶、同位素、标签等。在一个实施方案中,所述检测通过本领域已知的用于免疫检测的方法进行,如蛋白印迹或ELISA。

[0150] 在一些实施方案中,所述靶样品是通过不同方法制备的KN044产品。

[0151] 在另一方面,本发明提供一种用于靶样品中KN044的抗药抗体(ADA)检测的方法,所述方法包括:

[0152] a) 使KN044分别与靶样品和本发明的针对KN044的结合分子接触;

[0153] b) 检测复合物的形成,

[0154] 其中KN044与本发明的针对KN044的结合分子所形成的复合物用作靶样品中KN044的抗药抗体(ADA)检测的阳性对照,所述靶样品为施用了KN044的对象的血液样品,例如,血浆或血清。

[0155] 在一些实施方案中,本发明的KN044可缀合有可用于检测或可被其他试剂检测到

的荧光染料、化学物质、多肽、酶、同位素、标签等。在一个实施方案中,所述检测通过本领域已知的用于免疫检测的方法进行,如蛋白印迹或ELISA。

[0156] 在一些实施方案中,本发明的针对KN044的结合分子识别KN044中的VHH的框架区,因此可以广泛地识别与KN044的VHH的框架区相同、CDR不同的其他VHH,由此可以用于广泛的VHH的检测以及亲和纯化。

[0157] 试剂盒

[0158] 本发明的范围内还包括一种试剂盒,该试剂盒包括本发明的针对KN044的结合分子。试剂盒一般包括表明试剂盒内容物的预期用途(例如,用于检测KN044或其活性)的标签。术语标签包括在试剂盒上或与试剂盒一起提供的或以其他方式随试剂盒提供的任何书面的或记录的材料。

[0159] 另一方面,本发明的范围内还包括一种试剂盒,该试剂盒包括本发明的针对KN044的结合分子。试剂盒一般包括表明试剂盒内容物的预期用途(例如,用于KN044的抗药抗体(ADA)检测)的标签。术语标签包括在试剂盒上或与试剂盒一起提供的或以其他方式随试剂盒提供的任何书面的或记录的材料。

[0160] 药物组合物

[0161] 另一方面,本发明提供一种组合物,例如药物组合物,其含有与药学上可接受的载体配制在一起的一种或组合的本发明的针对KN044的结合分子。这样的组合物可以包含一种或组合的(例如两种或多种不同的)本发明的针对KN044的结合分子。例如,本发明的药物组合物可以含有结合靶抗原上的不同表位的抗体分子组合。

[0162] 本文使用的“药学上可接受的载体”包括生理学相容的任何和所有的溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。优选地,该载体适合于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊柱或表皮施用(如通过注射或输注)。根据施用途径,可将活性化合物即抗体分子包裹于一种材料中,以保护该化合物免受可使该化合物失活的酸和其他天然条件的作用。

[0163] 疾病预防和治疗

[0164] 在另一方面,本发明提供了本发明所述针对KN044的结合分子、核酸分子、宿主细胞及药物组合物在治疗与KN044相关的疾病中的用途和方法。可用本发明的针对KN044的结合分子治疗的KN044相关的疾病为由于施用KN044所引发的副作用,如细胞因子风暴,所述KN044用于在所述对象中预防和/或治疗与CTLA4相关的疾病,例如癌症或感染性疾病。本发明的针对KN044的结合分子或药物组合物用于中和KN044。

实施例

[0165] 下面将通过实施例的方式进一步说明本发明,但并不因此将本发明限制在所描述的实施例范围中。

[0166] 实施例1:针对KN044的重链单域抗体的筛选及亲和力检测

[0167] 1.1文库的构建:

[0168] 选取未经免疫过的14只骆驼分离其淋巴细胞,并摘取了5只骆驼的脾脏和8只骆驼的淋巴结,使用QIAGEN公司提供的RNA提取试剂盒提取淋巴细胞和组织总RNA,使用Super-Script III FIRST STRANDSUPERMIX试剂盒按照说明书将提取的RNA全部反转录为cDNA,用

巢式PCR扩增编码重链抗体的可变区的核酸片段。

[0169] 回收目标重链单域抗体核酸片段,并使用限制性内切酶(购自NEB)PstI及NotI将其克隆进入噬菌体展示用载体pMECS中。产物随后电转化至大肠杆菌电转感受态细胞TG1中,构建非免疫单域抗体噬菌体展示文库并对文库进行检定。通过梯度稀释铺板,计算库容的大小为 1.4×10^9 。为检测文库的插入率,随机挑选100个克隆测序检测,具有正确的外源片段插入的克隆为99个,正确率为99%。通过对测序克隆的DNA和氨基酸序列分别分析比对,证实所有序列完全不同,均为预期的骆驼VHH序列,其多样性为100%。

[0170] 1.2针对KN044的重链单域抗体淘选:

[0171] 以2 μ g/孔的量用重组蛋白KN044包被平板,4℃放置过夜。第二天用2%脱脂奶室温封闭2小时后,每孔加入100 μ l噬菌体(约 10^{10} – 10^{13} pfu,来自1.1双峰驼非免疫单域抗体展示文库),在室温下作用2小时。之后用PBST(PBS中含有0.05%吐温20)洗25遍,以洗掉不结合的噬菌体。最后用甘氨酸(100mM,pH 2.0)将与KN044特异性结合的噬菌体解离,并感染处于生长对数期的大肠杆菌TG1,产生并纯化噬菌体用于下一轮的筛选。上述筛选过程重复3轮,第4轮降低重组蛋白KN044的包被浓度至0.5 μ g/孔,其余操作同上。由此,富集阳性的克隆,从而利用噬菌体展示技术筛选抗体库中KN044特异抗体。

[0172] 1.3用酶联免疫方法(ELISA)筛选特异性单个阳性克隆:

[0173] 将以上淘选后获得的KN044结合阳性的噬菌体感染空白大肠杆菌并铺板。随后随机挑选单菌落,分别接种至2TY-AG,培养至OD600约0.8时,加入IPTG终浓度约1mM,25℃过夜诱导表达。单域抗体表达于大肠杆菌周质中,次日收获菌体,并加入TES用渗透压冲击法裂解菌体,上清液用于ELISA检测。用KN044包被平板4℃过夜,将获得的样品裂解上清液(对照组为空白大肠杆菌裂解上清液)加入,室温下反应2小时。洗涤之后加入二抗山羊抗HA标签HRP(购自abcam),室温反应2小时。洗涤之后加入TMB显色液,读取450nm和650nm波长吸光度值,450nm波长的吸光度值减去650nm波长的吸光度值为最终的吸光度值。当样品孔OD值大于对照孔OD值2倍以上时,判定为阳性克隆孔。将阳性克隆测序。

[0174] 表1.用酶联免疫方法(ELISA)筛选特异性单个阳性克隆结果

[0175]

克隆名称	OD
nKN044-19-3	0.159
nKN044-97	0.678
nKN044-125	1.172
nKN044-194	0.754
nKN044-200	0.981
nKN044-216	0.886
nKN044-220	1.591
nKN044-227	0.917
nKN044-235	1.268

[0176]

nKN044-244	1.056
nKN044-249	0.534
nKN044-252	0.76
nKN044-264	1.111
nKN044-266	0.968
nKN044-268	1.027
nKN044-275	0.791
nKN044-280	1.298
空白	0.03

[0177] 根据序列比对软件BioEdit分析各个克隆的氨基酸序列。把CDR1、CDR2、CDR3序列同源性>90%的克隆视为同一抗体株。最终共获得17株不同的抗体,结合检测结果见表1,序列见图1,并根据Kabat和Chothia的规则用框标出CDR区。

[0178] 1.4阳性克隆的原核表达以及纯化

[0179] 将1.3中筛选获得的阳性克隆单菌落在2TY-AG中培养过夜的种子液转接到50mL2TY-AG培养基中,37℃培养至OD₆₀₀约0.8时,加入IPTG终浓度约1mM,25℃过夜诱导表达。次日收获菌体,并用Tris缓冲液重悬并超声破碎菌体,使用IMAC层析利用单域抗体上的His标签对上清液中的单域抗体进行纯化,得到相应的目标蛋白。

[0180] 1.5原核表达的针对KN044的重链单域抗体对KN044的亲合力检测

[0181] 以0.5μg/孔的量用KN044包被平板,4℃放置过夜。加入1.4中获得的、带有His标签的候选单域抗体的梯度稀释系列,同时设空白对照组,室温下反应2小时。洗涤之后加入辣根过氧化物酶标记的兔抗His标签的二抗(streptavidin-HRP,SIGMA),室温反应1.5小时。洗涤之后加入显色液,读取450nm和650nm波长的吸光度值,450nm波长的吸光度值减去650nm波长的吸光度值为最终的吸光度值。应用软件SoftMax Pro v5.4进行数据处理和作图分析,通过四参数拟合,得到针对KN044的候选单域抗体与KN044的结合曲线及EC₅₀值,以反映这些候选单域抗体对KN044的亲和能力。

[0182] 结果见图2A和2B,其中纵坐标为OD值,横坐标为针对KN044的候选单域抗体的浓度(单位ng/mL)。结果表明这些针对KN044的候选单域抗体都能有效的结合KN044。

[0183] 实施例2:通过在哺乳动物细胞中表达制备针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白

[0184] 2.1制备表达针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白的载体

[0185] 设计引物进行PCR扩增KN044单域抗体VHH片段,与编码人和鼠IgG1-Fc的DNA片段融合(其中nKN044-19-3扩增的KN044单域抗体VHH片段分别与编码人和鼠IgG1-Fc的DNA片段融合,nKN044-97扩增的KN044单域抗体VHH片段与编码人IgG1-Fc的DNA片段融合),并克隆至常规哺乳动物表达载体,获得用于在哺乳动物中表达针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白和/或针对KN044的单域抗体-muFc融合蛋白的重组质粒。其中扩增不同VHH片段使用通用引物,与人IgG1-Fc的DNA片段融合使用的通用引物如下:

[0186] 上游引物cccACCGGTCAGGTGCAGCTGCAGGAGTC (SEQ ID NO:89)

[0187] 下游引物cccGGATCCTGAGGAGACGGTGACCTGG (SEQ ID NO:90)

[0188] 与鼠IgG1-Fc的DNA片段融合使用的通用引物如下:

[0189] 上游引物cccACCGGTCAGGTGCAGCTGCAGGAGTC (SEQ ID NO:91)

[0190] 下游引物cccGGATCCATGCTGCCTGAGGAGACGGTGACCTGG (SEQ ID NO:92)

[0191] 2.2制备针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白

[0192] 将2.1构建获得载体转染至HEK293细胞进行抗体的瞬时表达。将重组表达质粒用Freestyle293培养基稀释并加入转化所需聚乙烯亚胺(PEI)溶液,将每组质粒/PEI混合物分别加入HEK293细胞悬液中,放置在37℃,5%CO₂,130rpm培养。四小时后补加EX-CELL293培养基,130rpm悬浮培养。24小时后加3.8mM VPA,72小时后加入4g/L葡萄糖。培养5~6天后,收集瞬时表达培养上清液,通过Protein A亲和层析法,纯化目标针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白和/或针对KN044的单域抗体-muFc融合蛋白。通过SDS-PAGE以及SEC-HPLC检测所获得的蛋白质的纯度。各蛋白质表达情况和纯度分析见下表2:

[0193] 表2:所获得的针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白瞬转后一步纯化结果

[0194]

抗体	表达量 (mg/L)	SDS-PAGE纯度%	单体比例%
nKN044-19-3-Fc	358.5	>95%	98.97
nKN044-19-3-muFc	384	>95%	96.47
nKN044-97-Fc	93.6	>95%	95.69

[0195] 可见,针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白nKN044-19-3-Fc和nKN044-19-3-muFc表达量均在300mg/L以上,且经过Protein A亲和层析柱一步纯化后,获得了具有稳定浓度以及高纯度的目的蛋白质;nKN044-97-Fc表达量相对低一些,但纯度很高,满足实验需求。

[0196] 实施例3:鉴定针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白的功能

[0197] 3.1针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白与抗原KN044的结合曲线

[0198] 以0.5μg/孔的量用实施例2所得的针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白包被平板,同时设置阳性对照,4℃过夜。加入KN044-Biotin的梯度稀释系列,室温下反应2小时。洗涤之后加入辣根过氧化物酶标记链霉亲和素(streptavidin-HRP,SIGMA),室温反应1.5小时。洗涤之后加入显色液,读取450nm和650nm波长的吸光度值,450nm波长的吸光度值减去650nm波长的吸光度值为最终的吸光度值。应用软件SoftMax Pro v5.4进行数据处理和作图分析,通过四参数拟合,得到针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白与KN044的结合曲线及EC50值,以反映抗体对KN044的亲和能力。

[0199] 结果见图3,其中纵坐标为OD值,横坐标为KN044-Biotin蛋白的浓度(单位ng/mL);圆形、方形、正三角、倒三角分别代表针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白:nKN044-19-3-Fc、nKN044-19-3-muFc、nKN044-97-Fc、阳性对照。抗体nKN044-19-3-Fc和nKN044-19-3-muFc对KN044均有很高的亲和力,且与阳性对照相差不大;抗体nKN044-97-Fc对KN044没有结合。

[0200] 3.2竞争ELISA考察针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白对CTLA4和KN044相互作用的阻断效果

[0201] 以0.5μg/孔的量用CTLA4-muFc融合蛋白包被平板,同时设置阴性对照,4℃过夜。加入实施例2所得的融合蛋白nKN044-19-3-muFc的梯度稀释系列(对照组只是缓冲液)以及20ng/孔KN044(空白组不加入任何抗体或蛋白,只加入等体积缓冲液),室温下反应2小时。之后加入山羊抗人IgG(Fc特异性)-HRP(购自Sigma公司),室温反应2小时。洗涤之后加入显色液,读取450nm和650nm波长吸光度值,450nm波长的吸光度值减去650nm波长的吸光度值为最终的吸光度值。当样品OD值比对照OD值<0.8时,则认为抗体有阻断效果。结果显示,抗

体nKN044-19-3-muFc对CTLA4和KN044相互作用无阻断效应。

[0202] 3.3 Bridging ELISA验证针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白作为KN044抗药抗体(ADA)检测中的阳性抗体

[0203] 用KN044包被平板,4℃过夜。加入实施例2所得的融合蛋白nKN044-19-3-muFc的梯度稀释系列,稀释液分别为1%BSA-0.05%PBST、1X人空白血浆、1X食蟹猴空白血浆,同时设空白对照组,室温下反应2小时。之后加入KN044-Biotin,室温反应2小时。洗涤之后加入辣根过氧化物酶标记链霉亲和素(streptavidin-HRP,SIGMA),室温反应1.5小时。洗涤之后加入显色液,读取450nm和650nm波长吸光度值,450nm波长的吸光度值减去650nm波长的吸光度值为最终的吸光度值。应用软件SotfMax Pro v5.4进行数据处理和作图分析,通过四参数拟合,得到不同稀释液稀释后的抗体与KN044的结合曲线及EC50值,以反映不同稀释液中成分对抗体的中和作用。

[0204] 结果见表3。由结果可知,nKN044-19-3-Fc能够通过ADA bridging ELISA的方法检出,且保持较好的灵敏度。而其在未稀释的人空白血浆和食蟹猴空白血浆中仍然能被检出,且其灵敏度与在PBST稀释液中时基本一致。因此,抗体nKN044-19-3-Fc可以作为KN044抗药抗体(ADA)检测中的阳性抗体。

[0205] 表3.Bridging ELISA验证针对KN044的单域抗体-Fc融合蛋白作为KN044抗药抗体(ADA)检测中的阳性抗体的结果

[0206]

样品浓度 (ng/mL)	nKN044-19-3-muFc (1%BSA +PBST20)	nKN044-19-3-muFc (1X 人 空白血浆)	nKN044-19-3-muFc (1X 猴 空白血清)
12800	3.578	2.013	1.471
6400	3.503	1.266	0.8
3200	2.717	0.727	0.477

[0207]

1600	1.534	0.436	0.275
800	0.607	0.272	0.159
400	0.24	0.196	0.104
200	0.122	0.167	0.08
100	0.098	0.153	0.07
50	0.083	0.154	0.072
0	0.077	0.146	0.068

[0208] 序列表:

[0209] >SEQ ID NO:1

[0210] **GYTYTNYIMA**

[0211] >SEQ ID NO:2

[0212] **SIYIGSGSTNYADSVKG**

[0213] >SEQ ID NO:3

[0214] **TRDGRWY**

[0215] >SEQ ID NO:4

[0216] **GYTYRRRSMG**

[0217] >SEQ ID NO:5
[0218] **SISTDGTNYADSVKG**
[0219] >SEQ ID NO:6
[0220] **RSGLAASLLGSWYRY**
[0221] >SEQ ID NO:7
[0222] **GYSYRRRCMG**
[0223] >SEQ ID NO:8
[0224] **TINSGGGSTYYADSVKG**
[0225] >SEQ ID NO:9
[0226] **VRTMTLRYGNLTLRPDY**
[0227] >SEQ ID NO:10
[0228] **RYTIRSICMA**
[0229] >SEQ ID NO:11
[0230] **DIDRYGTTHVADSVKD**
[0231] >SEQ ID NO:12
[0232] **DSSRWCGAWWSPSSYNY**
[0233] >SEQ ID NO:13
[0234] **RYTPRMA**
[0235] >SEQ ID NO:14
[0236] **ELNFFGTATYADSVKG**
[0237] >SEQ ID NO:15
[0238] **GLRPGWWSLRLEPGAYNY**
[0239] >SEQ ID NO:16
[0240] **GFPFSWSSMN**
[0241] >SEQ ID NO:17
[0242] **SINRRGTVTVYADSVKG**
[0243] >SEQ ID NO:18
[0244] **ARRPETWYTDIWTPALFGT**
[0245] >SEQ ID NO:19
[0246] **GFTFAAPYYIS**
[0247] >SEQ ID NO:20
[0248] **SINTYNSVTYYADSVKG**
[0249] >SEQ ID NO:21
[0250] **GWLFRGSWTGPRNFRY**
[0251] >SEQ ID NO:22
[0252] **GYTNSISKMG**
[0253] >SEQ ID NO:23

[0254] **TIFTAGGSTYYADSVKG**
[0255] >SEQ ID NO:24
[0256] **ARPGWIWPTIKTMTRYEYNY**
[0257] >SEQ ID NO:25
[0258] **GYTYRRYCMG**
[0259] >SEQ ID NO:26
[0260] **RIGTYGTTWYADSVKG**
[0261] >SEQ ID NO:27
[0262] **DPGRYCRGDLLRTTLFAK**
[0263] >SEQ ID NO:28
[0264] **RNTYRNRWMG**
[0265] >SEQ ID NO:29
[0266] **RINIRSGRAYYADSVKG**
[0267] >SEQ ID NO:30
[0268] **SQSGGFFYGVLDRSYHY**
[0269] >SEQ ID NO:31
[0270] **GYTYSSNCIG**
[0271] >SEQ ID NO:32
[0272] **LTSSGNRTWVADSVKG**
[0273] >SEQ ID NO:33
[0274] **GPACSGVYWKWALRG**
[0275] >SEQ ID NO:34
[0276] **GYIYSRNWMG**
[0277] >SEQ ID NO:35
[0278] **SISVNGDNTHYADSVKG**
[0279] >SEQ ID NO:36
[0280] **YWPGGGGSAAWSFWGRIFNF**
[0281] >SEQ ID NO:37
[0282] **GYIYSNCMG**
[0283] >SEQ ID NO:38
[0284] **AIDRYGRATYADSVKG**
[0285] >SEQ ID NO:39
[0286] **ARWRASCVTLVRFTS**
[0287] >SEQ ID NO:40
[0288] **GYTLRTNYIG**
[0289] >SEQ ID NO:41
[0290] **AIYRGGGSTYYGSTYYADSVKG**

- [0291] >SEQ ID NO:42
[0292] **GRSPFPVAFGGAWYSAGRYPY**
[0293] >SEQ ID NO:43
[0294] **GYTYSTKRVA**
[0295] >SEQ ID NO:44
[0296] **TISATMGIPYADSVKG**
[0297] >SEQ ID NO:45
[0298] **GRPSRAAFLGYLRAAAYDY**
[0299] >SEQ ID NO:46
[0300] **SEYTRRSKRMG**
[0301] >SEQ ID NO:47
[0302] **AISSSGAFTYYADSVKG**
[0303] >SEQ ID NO:48
[0304] **GLRPGWWSLRLEPGAYNY**
[0305] >SEQ ID NO:49
[0306] **GSTYTNNYIA**
[0307] >SEQ ID NO:50
[0308] **TIDRRLGSTYYADSVRG**
[0309] >SEQ ID NO:51
[0310] **GRGRAWLSRVWYNY**
[0311] >SEQ ID NO:52 nKN044-19-3
[0312]
QVQLQESGGASVQAGGSLRLSCAAS**GYTYTNYIMA****WFRQYPGKEREGVAS****SIYIGSGSTNYADSVKG****RFTISQDNAKNTLY**
LQMNNLKPEDTAMYYCAA**TRDGRWY****FGQGTQVTSS**
[0313] >SEQ ID NO:53 nKN044-97
[0314]
QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAAS**GYTYRRRSMG****WFRQAPGKEREFVS****SISTDGTNYADSVKG****RFTIYRDNANTVY**
LQMNSLKPEDTAVYYCAS**RSGLAASLLGSWYRY****WGQGTQVTSS**
[0315] >SEQ ID NO:54 nKN044-125
[0316]
QVQLQESGGGSVQTGGSLRLSCVAS**GYSYRRRCMG****WFRQAPGKGLEWVS****TINSGGGSTYYADSVKG****RFTISHDSATSTV**
YLQMNNLKPEDTAMYHCAV**VRTMTLRYGNLTLRPDY****WGQGTQVTSS**
[0317] >SEQ ID NO:55 nKN044-194
[0318]
QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAAS**RYTIRSIICMA****WFRQAPGKERERVA****DIDRYGTTHVADSVKD****RFSISTDSAKNTLYL**
QMNNLKPEDAGMYCAA**DSSRWCGAWWSPSSYNY****WGQGTQVTSSAAA**
[0319] >SEQ ID NO:56 nKN044-200

[0320]

QVQLQESGGGPVQAGGSLRLSCAASRYTPRMAWFRQGP GKEREVVGELNFFGTATYADSVKGRFTISKDNTNNTLYLQ
MNALKPEDTAMYYCAA GLRPGWWSLRLEPGAYNYWGQGTQVTSS

[0321] >SEQ ID NO:57 nKN044-216

[0322]

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSWSSMNWVRQAPGKGM EWVSSINRRGTVTVYADSVKGRFTISRDN AKN
TVALQMNNLPEDTAVYYCARARRPETWYTDIWT PALFGTRGQGTQVTSS

[0323] >SEQ ID NO:58 nKN044-220

[0324]

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTFAAPYYISWVRQAPGKGLDWLSSINTYNSVTYADSVKGRFTITRQNGGRTW
NLQMNYLEPEDSGIYYCAAGWLFRGSWTGPRNFRYWGQGTQVTSS

[0325] >SEQ ID NO:59 nKN044-227

[0326]

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCTASGYTNSISKMGWFRQAPGKGRTEVATIFTAGGSTYADSVKGRFTISQDNAKNTLY
LQMNNLKPEDTAMYYCAVARPGWIWPTIKTMTRYEYNYWGQGTQVTSS

[0327] >SEQ ID NO:60nKN044-235

[0328]

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCTASGYTYRRYCMGWFRQAPGKEREGVARIGTYGTTWYADSVKGRFTISRDN AKNTV
YLQMNSLKPEDTAMYYCAADPGRYCRGDLRTTLFAK WGQGTQVTSS

[0329] >SEQ ID NO:61 nKN044-244

[0330]

QVQLQESGGGSVQPGGSLRLSCAASRNTYRNRWMGWFRQAPGKEREGVARINIRSGRAYYADSVKGRFTISRDN AKNT
LYLQMNSLKPEDTAMYYCAASQSGGFFYGVLDRSYHYWGPGTQVTSS

[0331] >SEQ ID NO:62 nKN044-249

[0332]

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTYSSNCIGWFRQAPGKGRNWVALTSSGNGRTWVADSVKGRFTISQDNAK N
TVYLQMNSLKPEDTGAYYCAAGPACSGVYWKWALRGWGQGTQVTSS

[0333] >SEQ ID NO:63 nKN044-252

[0334]

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYIYSRNWMGWFRQAPGKEREWVASISVNGDNTHYADSVKGRFTISQDAAK N
TVYLQMTSLKPEDTAMYYCAAYWPGGGGSAAWSFWGRIFNFRGQGTQVTSS

[0335] >SEQ ID NO:64 nKN044-264

[0336]

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCVASGYIYSNCMGWFRQAPGKEREGLAIDRYGRATYADSVKGRFTISRDN LKNTVSL
QMNSLKPEDTATYYCAARWRASCVTLVRFTSWGQGTQVTSS

[0337] >SEQ ID NO:65 nKN044-266

[0338]

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCVAAGYTLRTNYIGWFRQAPGKEREGVAIYRGGGSTYYGSTYADSVKGRFTISRDN A
KNTVYLEMNSLKPEDTAMYYCAAGRSPFPVAFGGAWYSAGRYPYWGQGTQVTSS

[0339] >SEQ ID NO:66 nKN044-268

[0340]

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTSTKRVAVFRQAPGKEREGVATISATMGIPYADSVKGRFTISRDNAKNTVYL
QMNNLKPEDTAMYYCAA[GRPSRAAFLGYLRAAAYDY]WGQGTQVTVSS

[0341] >SEQ ID NO:67 nKN044-275

[0342]

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASEYTRRSKRMGVFRQAPGKEREGVAISSSGAFTYYADSVKGRFTMSQDNTKNT
VYLQMNSLKPEDSAMYCAA[GLRPGWWSLRLEPGAYNY]WGQGTQVTVSS

[0343] >SEQ ID NO:68 nKN044-280

[0344]

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCTASGSTYNNYIAVFRQAPGKEREGVATIDRRLGSTYYADSVRGRTISQDKAKNTVYL
QMNSLKPEDTAMYYCAA[GRGRAWLSRVWYNY]WGQGTQVTVSS

[0345] >SEQ ID NO:69 IgG1-Fc

[0346]

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0347] >SEQ ID NO:70 IgG1- μ Fc

[0348]

MDPKSSDKTHTCPPCPAPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLPKVTCTVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST
FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEW
QWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK

[0349] >SEQ ID NO:71 nKN044-19-3

[0350]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGCCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTG
GATACACCTACACAAATTACATCATGGCTGGTTCCGCCAGTATCCAGGGAAGGAGCGCGAGGGGGTTCGCATCTATTTA
TATTGGTAGTGGTAGCACAACTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCCAAGACAACGCCAAGAACAC
CCTTTATCTGCAAATGAACAATCTGAAACCTGAGGACACTGCCATGTACTACTGTGCGGCGACGCGGGATGGTCGATGG
TACTTCGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0351] >SEQ ID NO:72 nKN044-97

[0352]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTG
GATACACCTACAGGCGCAGGTCTATGGGGTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGCGAGTTCGTCTCATCTATTA
GCACTGATGGTACCACAACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTACCGAGACAACGCAAAGAACACGG
TGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGTGCGTCGAGATCAGGACTTGCTGCCA
GCCTGTTGGGATCGTGGTATAGGTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0353] >SEQ ID NO:73 nKN044-125

[0354]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGCTCGGTGCAGACTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTG
GGTACTCGTATAGACGCCGCTGCATGGGCTGGTTCCGACAGGCTCCAGGGAAGGGGCTCGAGTGGGTCTCAACTATTA
ATAGTGGTGGTGGTAGCATACTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCAGCCATGACAGCGCCACGAGCA
CGGTCTATCTGCAAATGAATAATCTGAAACCTGAGGACACCGCTATGTACCACTGTGCGGTAGTTCGGACAATGACCCTT
AGGTACGGAAACCTTACGCTTCGACCCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0355] >SEQ ID NO:74 nKN044-194

[0356]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCA
GATACACTATTAGGAGTATCTGCATGGCCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGCGAGAGGGTTGCAGATATTG
ATAGATATGGAACCACTCACGTCGAGACTCCGTGAAGGACCGATTACGATCTCCACAGACAGCGCCAAGAACA
TGTATCTTCAAATGAACAACCTGAAACCGGAGGACGCTGGCATGTACTACTGTGCGGCAGACTCTTCTCGGTGGTGCG
GTGCCTGGTGGTCTCCCTCTAGTTATAATTATTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0357] >SEQ ID NO:75 nKN044-200

[0358]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCCCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTA
GATACACCCCCCGCATGGCCTGGTTCCGCCAGGGTCCAGGCAAGGAGCGCGAGGTGGTGGGTGAGCTCAATTTTTT
GGCACCGCAACCTACGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAAAGACAACACCAACAACACTCTATATCTGC
AAATGAACGCTCTGAAGCCTGAGGACACGGCCATGTACTACTGTGCGGCGGGTCTTCGACCAGGGTGGTGGTCACTG
CGCCTAGAACCTGGCGCGTATAACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0359] >SEQ ID NO:76 nKN044-216

[0360]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTTCAACCTGGGGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGG
ATTTCCCTTCAGTTGGTCCATGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGATGGAGTGGGTCTCATCTATTAA
CCGGCGGGGAAGTGTACAGTGTATGCAGACTCCGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACA
CAGTGGCTCTGCAAATGAACAACCTGCAACCTGAGGACACGGCCGTGTATTATTGTGCCAGAGCCCCGCCGGCCGAA
ACTTGGTACACTGATATATGGAATCCCGCACTCTTCGGTACAAGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0361] >SEQ ID NO:77 nKN044-220

[0362]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAACCTGGGGGGTCTCTGACTCTCTCCTGCGAAGCCTCTG
GATTCACCTTCGCCGCTCCCTACTACATCAGCTGGGTCCGCCAGGCGCCAGGGAAGGGCCTGGACTGGCTATCCAGCA
TTAATACTTACAATAGTGTACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCACGCGACAAAATGGCGGTCTG
CACGTGGAACCTACAGATGAATTACTTGGAGCCTGAAGACTCTGGTATTACTACTGTGCAGCAGGGTGGTGTTCCTG
GGTAGCTGGACCGGGCCCCGAAATTTTCGTTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0363] >SEQ ID NO:78nKN044-227

[0364]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTG
GGTACACCAACAGCATCAGTAAAATGGGTTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCGCACGGAGGTGCAACTATT
TTTACTGCGGGTGGCAGCACATACTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAAGACAACGCCAAGAAC
ACGTTGTATCTGCAAATGAACAACCTGAAACCTGAGGACACTGCCATGTACTACTGTGCGGTAGCTAGGCCGGGGTGG
ATATGGCCTACTATAAAGACTATGACCCGCTATGAGTATAACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0365] >SEQ ID NO:79 nKN044-235

[0366]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTG
GATATACCTACAGAAGATACTGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGCGAGGGGGTTCGCACGTATT
GGTACCTATGGTACCACATGGTACGAGATTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCGCGACAACGCCAAGAATACG
GTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACCGCCATGTACTACTGTGCGGCAGATCCAGGGAGATATTGTA
GGGGTGAATTACTTCGCACTACCTCTTCGCTAAGTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0367] >SEQ ID NO:80nKN044-244

[0368]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGCTCGGTGCAGCCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTAG
AAACACCTACAGAAATCGTTGGATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGCGAGGGGGTTCGCGCTATT
AATATACGCAGTGGACGGGCATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCCGAGACAACGCCAAGAAC
ACACTGTATCTCCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCCATGTACTACTGTGCGGCGTCCCAATCAGGGGGA
TTTTTTACGGCGTACTTGACACGCGATCGTATCATTACTGGGGCCCGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0369] >SEQ ID NO:81 nKN044-249

[0370]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTG
GCTACACCTACAGTAGCAACTGCATAGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCGCAACTGGGTTCGCGCTTACT
TCTAGTGGCAATGGACGCACATGGGTTGCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCCAAGACAACGCCAAGAAC
ACGGTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACTGGCGCGTACTATTGTGCGGCAGGCCCGGCTTGAGT
GGTGTTTACTGGAAATGGGCCCTTAGAGGCTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0371] >SEQ ID NO:82 nKN044-252

[0372]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTG
GATACATCTACAGTCGCAACTGGATGGGCTGGTTCCGCCAAGCTCCAGGGAAGGAGCGCGAGTGGGTTCGCGCTATTA
GTGTTAATGGTGACAACACACTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCCAAGACGCAGCCAAGAACA
CGGTGTATCTGCAAATGACCAGCCTGAAACCTGAGGACACTGCCATGTACTACTGTGCGGCATATTGGCCCGAGGGG
GGGGGAGTGCTGCCTGGTCTTTTGGGGGCGGATCTTTAACTTCCGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0373] >SEQ ID NO:83 nKN044-264

[0374]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTCGGTACAGGCGGGGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTG
GATACATCTACAGTAACTGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGCGAGGGGGCTCGCTGCTATTGATC
GTTATGGTTCGTGCGACGTACGCGGACTCCGTGAAGGGACGATTACCATCTCCAGAGACAACCTCAAGAACACGGTGT
CTCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACTGCCACTTACTACTGTGCGGCAGCCCGATGGCGTGCTAGCTGCG
TAACCTTGGTTCGCTTTACTTCTTGGGGTTCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0375] >SEQ ID NO:84 nKN044-266

[0376]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCGCTG
GATACACCCTCCGTACCAACTACATCGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGCGAGGGGGTTCGCGCTATT
TACCGTGGTGGTGGTAGTACATACTATGGTAGTACATACTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCCGAGA
CAACGCCAAGAACACGGTGTATCTGGAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACTGCCATGTACTACTGTGCGGCAG
GTCGATCCCCTTTCCCGTGGCGTTCCGTGGTGCCTGGTATTCCGCGGGGAGATATCCCTACTGGGGCCAGGGGACCC
AGGTCACCGTCTCCTCA

[0377] >SEQ ID NO:85 nKN044-268

[0378]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTG
GATACACCTACAGTACCAAAAGGGTGGCCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGCGAGGGAGTCGCAACTATT
TCTGCTACTATGGGTATCCCGATCTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCCGAGACAACGCCAAGAACA
CGGTGTATCTGCAAATGAACAACCTGAAACCTGAGGACACTGCCATGTACTACTGTGCGGCAGGCCGTCACGCG
CCGCTTTTCTTGGTTACCTCAGAGCCGCAGCATATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0379] >SEQ ID NO:86 nKN044-275

[0380]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTCGGTGCAGGCTGGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTG
AATACACCCGCAGAAGTAAGCGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCCGGGAAGGAGCGCGAGGGGGTTCGAGCAAT
TTCGAGCAGCGGTGCATTACATACTATGCCGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATGTCCCAAGACAACACCAAGAA
CACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCCGAGGACAGTGCCATGTACTACTGTGCGGCGGGTCTTCGACCAGG
GTGGTGGTCACTGCGCCTAGAACCTGGCGCGTATACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0381] >SEQ ID NO:87 nKN044-280

[0382]

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGGGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTACTGCCTCTGG
AAGCACCTATACTAACAATTACATCGCCTGGTTCCGCCAGGCGCCAGGAAAGGAGCGCGAGGGGGTTCGCAACGATTG
ATCGTCGTCTTGGCAGCACGTACTATGCCGACTCCGTGAGGGGGCCGATTACCATCTCCCAAGACAAGGCCAAGAACA
CGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACTGCCATGTACTACTGTGCGGCGGGGCGCGGTCTGCCT
GGCTTTCGCGTGTTTGGTATAATTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[0383] >SEQ ID NO:88 KN044

[0384]

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYIYSAYCMGWFRQAPGKLEGVAIIYIGGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL
QMNSLRAEDTAVYYCAADVIPTETCLGGSWSGPGFYWGQGLTVTVSSGAPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYIYS
AYCMGWFRQAPGKLEGVAIIYIGGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADVIPTETCLGGS
WSGPGFYWGQGLTVTVSSGSEPKSSDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

[0385] >SEQ ID NO:89 上游引物

[0386] **cccACCGGTCAGGTGCAGCTGCAGGAGTC**

[0387] >SEQ ID NO:90 下游引物

[0388] **cccGGATCCTGAGGAGACGGTGACCTGG**

[0389] >SEQ ID NO:91 上游引物

[0390] **cccACCGGTCAGGTGCAGCTGCAGGAGTC**

[0391] >SEQ ID NO:92 下游引物

[0392] **cccGGATCCATGCTGCCTGAGGAGACGGTGACCTGG**

SEQUENCE LISTING

<110> 苏州康宁杰瑞生物科技有限公司

<120> 针对KN044的单域抗体

<130> I2019TC3040CB

<150> 201810392284.1

<151> 2018-04-27

<160> 92

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 1

Gly Tyr Thr Tyr Thr Asn Tyr Ile Met Ala

1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 2

Ser Ile Tyr Ile Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 3

Thr Arg Asp Gly Arg Trp Tyr

1 5

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 4

Gly Tyr Thr Tyr Arg Arg Arg Ser Met Gly

1 5 10

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 5

Ser Ile Ser Thr Asp Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 6

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 6

Arg Ser Gly Leu Ala Ala Ser Leu Leu Gly Ser Trp Tyr Arg Tyr

1 5 10 15

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 7

Gly Tyr Ser Tyr Arg Arg Arg Cys Met Gly

1 5 10

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 8

Thr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 9

Val Arg Thr Met Thr Leu Arg Tyr Gly Asn Leu Thr Leu Arg Pro Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 10

Arg Tyr Thr Ile Arg Ser Ile Cys Met Ala

1 5 10

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 11

Asp Ile Asp Arg Tyr Gly Thr Thr His Val Ala Asp Ser Val Lys Asp

1 5 10 15

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 12

Asp Ser Ser Arg Trp Cys Gly Ala Trp Trp Ser Pro Ser Ser Tyr Asn

1 5 10 15

Tyr

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 13

Arg Tyr Thr Pro Arg Met Ala

1 5

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 14

Glu Leu Asn Phe Phe Gly Thr Ala Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 15

Gly Leu Arg Pro Gly Trp Trp Ser Leu Arg Leu Glu Pro Gly Ala Tyr

1 5 10 15

Asn Tyr

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 16

Gly Phe Pro Phe Ser Trp Ser Ser Met Asn

1 5 10

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 17

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

1 5 10 15

Gly

<210> 18

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 18

Ala Arg Arg Pro Glu Thr Trp Tyr Thr Asp Ile Trp Thr Pro Ala Leu

1 5 10 15

Phe Gly Thr

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 19

Gly Phe Thr Phe Ala Ala Pro Tyr Tyr Ile Ser

1 5 10

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 20

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly
<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Artificial Sequence
<400> 21
Gly Trp Leu Phe Arg Gly Ser Trp Thr Gly Pro Arg Asn Phe Arg Tyr
1 5 10 15
<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Artificial Sequence
<400> 22
Gly Tyr Thr Asn Ser Ile Ser Lys Met Gly
1 5 10
<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Artificial Sequence
<400> 23
Thr Ile Phe Thr Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 24
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Artificial Sequence
<400> 24
Ala Arg Pro Gly Trp Ile Trp Pro Thr Ile Lys Thr Met Thr Arg Tyr
1 5 10 15

Glu Tyr Asn Tyr

20

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 25

Gly Tyr Thr Tyr Arg Arg Tyr Cys Met Gly

1 5 10

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 26

Arg Ile Gly Thr Tyr Gly Thr Thr Trp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 27

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 27

Asp Pro Gly Arg Tyr Cys Arg Gly Asp Leu Leu Arg Thr Thr Leu Phe

1 5 10 15

Ala Lys

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 28

Arg Asn Thr Tyr Arg Asn Arg Trp Met Gly

1 5 10

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 29

Arg Ile Asn Ile Arg Ser Gly Arg Ala Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 30

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 30

Ser Gln Ser Gly Gly Phe Phe Tyr Gly Val Leu Asp Thr Arg Ser Tyr

1 5 10 15

His Tyr

<210> 31

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 31

Gly Tyr Thr Tyr Ser Ser Asn Cys Ile Gly

1 5 10

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 32

Leu Thr Ser Ser Gly Asn Gly Arg Thr Trp Val Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 33

Gly Pro Ala Cys Ser Gly Val Tyr Trp Lys Trp Ala Leu Arg Gly

1 5 10 15

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 34

Gly Tyr Ile Tyr Ser Arg Asn Trp Met Gly

1 5 10

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 35

Ser Ile Ser Val Asn Gly Asp Asn Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 36

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 36

Tyr Trp Pro Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ala Trp Ser Phe Trp Gly Arg

1 5 10 15

Ile Phe Asn Phe

20

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 37

Gly Tyr Ile Tyr Ser Asn Cys Met Gly

1 5

<210> 38

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 38

Ala Ile Asp Arg Tyr Gly Arg Ala Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 39

Ala Arg Trp Arg Ala Ser Cys Val Thr Leu Val Arg Phe Thr Ser

1 5 10 15

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 40

Gly Tyr Thr Leu Arg Thr Asn Tyr Ile Gly

1 5 10

<210> 41

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 41

Ala Ile Tyr Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Tyr

1 5 10 15

Ala Asp Ser Val Lys Gly

20

<210> 42

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 42

Gly Arg Ser Pro Phe Pro Val Ala Phe Gly Gly Ala Trp Tyr Ser Ala

1 5 10 15

Gly Arg Tyr Pro Tyr

20

<210> 43

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 43

Gly Tyr Thr Tyr Ser Thr Lys Arg Val Ala

1 5 10

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 44

Thr Ile Ser Ala Thr Met Gly Ile Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 45

Gly Arg Pro Ser Arg Ala Ala Phe Leu Gly Tyr Leu Arg Ala Ala Ala

1 5 10 15

Tyr Asp Tyr

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 46

Ser Glu Tyr Thr Arg Arg Ser Lys Arg Met Gly

1 5 10

<210> 47

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 47

Ala Ile Ser Ser Ser Gly Ala Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 48

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 48

Gly Leu Arg Pro Gly Trp Trp Ser Leu Arg Leu Glu Pro Gly Ala Tyr

1 5 10 15

Asn Tyr

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 49

Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Asn Tyr Ile Ala

1 5 10

<210> 50

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 50

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

1 5 10 15

Gly

<210> 51

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 51

Gly Arg Gly Arg Ala Trp Leu Ser Arg Val Trp Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 52

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-19-3

<400> 52

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Ala Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Tyr Thr Asn Tyr

20 25 30

Ile Met Ala Trp Phe Arg Gln Tyr Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

$\langle 220 \rangle$

<223> nKN044-125

<400> 54

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Gln	Thr	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Val	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Arg	Arg	Arg
			20						25				30		
Cys	Met	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Thr	Ile	Asn	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	His	Asp	Ser	Ala	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	His	Cys
				85					90					95	
Ala	Val	Val	Arg	Thr	Met	Thr	Leu	Arg	Tyr	Gly	Asn	Leu	Thr	Leu	Arg
			100						105				110		
Pro	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser		
		115					120					125			

<210> 55

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-194

<400> 55

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

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

<210> 56

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-200

<400> 56

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Tyr Thr Pro Arg Met Ala
 20 25 30

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

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

Thr Ile Ser Lys Asp Asn Thr Asn Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 65 70 75 80

Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Leu
 85 90 95

Arg Pro Gly Trp Trp Ser Leu Arg Leu Glu Pro Gly Ala Tyr Asn Tyr
 100 105 110

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

<210> 57

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-216

<400> 57

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

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

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

Ser Ser Ile Asn Arg Arg Gly Thr Val Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ala		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Asn Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
85	90	95
Ala Arg Ala Arg Arg Pro Glu Thr Trp Tyr Thr Asp Ile Trp Thr Pro		
100	105	110
Ala Leu Phe Gly Thr Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser		
115	120	125
<210> 58		
<211> 126		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> nKN044-220		
<400> 58		
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Thr Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ala Ala Pro		15
20	25	30
Tyr Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp		
35	40	45
Leu Ser Ser Ile Asn Thr Tyr Asn Ser Val Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser		
50	55	60
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Gln Asn Gly Gly Arg Thr Trp		
65	70	75
Asn Leu Gln Met Asn Tyr Leu Glu Pro Glu Asp Ser Gly Ile Tyr Tyr		80
85	90	95
Cys Ala Ala Gly Trp Leu Phe Arg Gly Ser Trp Thr Gly Pro Arg Asn		
100	105	110
Phe Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser		
115	120	125
<210> 59		
<211> 129		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> nKN044-227		
<400> 59		

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Asn Ser Ile Ser
 20 25 30
 Lys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Thr Glu Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Phe Thr Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Val Ala Arg Pro Gly Trp Ile Trp Pro Thr Ile Lys Thr Met Thr
 100 105 110
 Arg Tyr Glu Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 115 120 125

Ser

<210> 60

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-235

<400> 60

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

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

62 <210>

 $\langle 211 \rangle$ 124

<212> PRT

⟨213⟩ Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

⟨223⟩ nKN044-249

<400> 62

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

<400> 64

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

<210> 65

<211> 135

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-266

<400> 65

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Gln	Ala	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Val	Ala	Ala	Gly	Tyr	Thr	Leu	Arg	Thr	Asn
			20						25					30	
Tyr	Ile	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Gly	Val
			35						40					45	
Ala	Ala	Ile	Tyr	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Thr	Tyr
			50						55					60	
Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala
65						70					75				80
Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Glu	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr
						85					90				95
Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Gly	Arg	Ser	Pro	Phe	Pro	Val	Ala	Phe
						100					105				110
Gly	Gly	Ala	Trp	Tyr	Ser	Ala	Gly	Arg	Tyr	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
						115								120	125

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 66

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-268

<400> 66

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Tyr Ser Thr Lys
20 25 30
Arg Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45
Ala Thr Ile Ser Ala Thr Met Gly Ile Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Gly Arg Pro Ser Arg Ala Ala Phe Leu Gly Tyr Leu Arg Ala
100 105 110
Ala Ala Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 67

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-275

<400> 67

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Tyr Thr Arg Arg Ser Lys
20 25 30
Arg Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Ser Ser Gly Ala Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Gln Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys		80
	85	90
Ala Ala Gly Leu Arg Pro Gly Trp Trp Ser Leu Arg Leu Glu Pro Gly		95
	100	105
Ala Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser		110
	115	120
		125
<210> 68		
<211> 123		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> nKN044-280		
<400> 68		
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Thr Asn Asn		15
	20	25
Tyr Ile Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val		30
	35	40
Ala Thr Ile Asp Arg Arg Leu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		45
	50	55
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Thr Val Tyr		60
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys		80
	85	90
Ala Ala Gly Arg Gly Arg Ala Trp Leu Ser Arg Val Trp Tyr Asn Tyr		95
	100	105
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser		110
	115	120
<210> 69		
<211> 232		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> IgG1-Fc		
<400> 69		

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 His Tyr Thr Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230
 <210> 70
 <211> 230
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IgG1- μ F
 <400> 70
 Met Asp Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15

Ala	Pro	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
			20					25					30		
Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro	Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
		35					40					45			
Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp
		50				55					60				
Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn
65					70					75					80
Ser	Thr	Phe	Arg	Ser	Val	Ser	Glu	Leu	Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp
			85						90					95	
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Arg	Val	Asn	Ser	Ala	Ala	Phe	Pro
		100						105					110		
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Arg	Pro	Lys	Ala
		115						120				125			
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Lys	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Asp
		130						135				140			
Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Met	Ile	Thr	Asp	Phe	Phe	Pro	Glu	Asp	Ile
145					150					155					160
Thr	Val	Glu	Trp	Gln	Trp	Asn	Gly	Gln	Pro	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asn
			165						170					175	
Thr	Gln	Pro	Ile	Met	Asn	Thr	Asn	Gly	Ser	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Lys
			180					185					190		
Leu	Asn	Val	Gln	Lys	Ser	Asn	Trp	Glu	Ala	Gly	Asn	Thr	Phe	Thr	Cys
		195						200					205		
Ser	Val	Leu	His	Glu	Gly	Leu	His	Asn	His	His	Thr	Glu	Lys	Ser	Leu
		210					215					220			
Ser	His	Ser	Pro	Gly	Lys										
225					230										
<210>	71														
<211>	348														
<212>	PRT														
<213>	Artificial Sequence														
<220>															
<223>	nKN044-19-3														
<400>	71														
Cys	Ala	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Cys
			20						25					30	

Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly		
35	40	45
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr		
50	55	60
Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala		
65	70	75
Cys Ala Cys Cys Thr Ala Cys Ala Cys Ala Ala Thr Thr Ala Cys		
85	90	95
Ala Thr Cys Ala Thr Gly Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys		
100	105	110
Gly Cys Cys Ala Gly Thr Ala Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala		
115	120	125
Gly Gly Ala Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Thr Cys		
130	135	140
Gly Cys Ala Thr Cys Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr Thr Gly		
145	150	155
Gly Thr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Cys Ala Cys Ala Ala Ala		
165	170	175
Cys Thr Ala Thr Gly Cys Cys Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly		
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala		
195	200	205
Thr Cys Thr Cys Cys Cys Ala Ala Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys		
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Thr Thr Ala Thr		
225	230	235
Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala Ala Thr Cys		
245	250	255
Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys		
260	265	270
Thr Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr		
275	280	285
Gly Cys Gly Gly Cys Gly Ala Cys Gly Cys Gly Gly Gly Ala Thr Gly		
290	295	300
Gly Thr Cys Gly Ala Thr Gly Gly Thr Ala Cys Thr Thr Cys Gly Gly		
305	310	315
Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys		
325	330	335
Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala		

54

	245		250		255
Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Thr Gly Cys					
	260		265		270
Cys Gly Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Gly Cys Gly					
	275		280		285
Thr Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys Ala Gly Gly Ala Cys Thr Thr Gly					
	290		295		300
Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Thr Thr Gly Gly Gly					
305		310		315	320
Ala Thr Cys Gly Thr Gly Gly Thr Ala Thr Ala Gly Gly Thr Ala Cys					
	325		330		335
Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys					
	340		345		350
Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys					
	355		360		365
Ala					
<210> 73					
<211> 378					
<212> PRT					
<213> Artificial Sequence					
<220>					
<223> nKN044-125					
<400> 73					
Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly					
1	5		10		15
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Cys					
	20		25		30
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly					
	35		40		45
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr					
	50		55		60
Gly Thr Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Gly Thr Ala					
65		70		75	80
Cys Thr Cys Gly Thr Ala Thr Ala Gly Ala Cys Gly Cys Cys Gly Cys					
	85		90		95
Thr Gly Cys Ala Thr Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys					
	100		105		110
Gly Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala					
	115		120		125

Gly Gly Gly Gly Cys Thr Cys Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys			
130	135	140	
Thr Cys Ala Ala Cys Thr Ala Thr Thr Ala Ala Thr Ala Gly Thr Gly			
145	150	155	160
Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Cys Ala Cys Ala Thr Ala			
165	170	175	
Cys Thr Ala Thr Gly Cys Cys Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly			
180	185	190	
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala			
195	200	205	
Thr Cys Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly Ala Cys Ala Gly Cys Gly Cys			
210	215	220	
Cys Ala Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Gly Gly Thr Cys Thr Ala Thr			
225	230	235	240
Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Ala Thr Cys			
245	250	255	
Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys			
260	265	270	
Cys Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly Thr			
275	280	285	
Gly Cys Gly Gly Thr Ala Gly Thr Thr Cys Gly Gly Ala Cys Ala Ala			
290	295	300	
Thr Gly Ala Cys Cys Cys Thr Thr Ala Gly Gly Thr Ala Cys Gly Gly			
305	310	315	320
Ala Ala Ala Cys Cys Thr Thr Ala Cys Gly Cys Thr Thr Cys Gly Ala			
325	330	335	
Cys Cys Cys Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys			
340	345	350	
Ala Gly Gly Gly Ala Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys			
355	360	365	
Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala			
370	375		

<210> 74

<211> 375

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-194

<400> 74

Cys	Ala	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys
			20					25					30		
Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly
		35					40					45			
Thr	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr
	50					55				60					
Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Ala
65					70				75					80	
Cys	Ala	Cys	Thr	Ala	Thr	Thr	Ala	Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Ala	Thr	Cys
			85					90					95		
Thr	Gly	Cys	Ala	Thr	Gly	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys
			100					105					110		
Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala
		115					120					125			
Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Gly	Cys	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Thr	Thr
	130					135					140				
Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Ala	Thr	Thr	Gly	Ala	Thr	Ala	Gly	Ala	Thr
145					150				155					160	
Ala	Thr	Gly	Gly	Ala	Ala	Cys	Cys	Ala	Cys	Thr	Cys	Ala	Cys	Gly	Thr
			165					170					175		
Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Gly
		180						185				190			
Gly	Ala	Cys	Cys	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Gly	Cys	Ala	Thr	Cys	Thr
		195					200					205			
Cys	Cys	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Cys	Cys	Ala	Ala
	210					215					220				
Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Thr	Ala	Thr	Cys	Thr	Thr
225					230				235					240	
Cys	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala
			245					250					255		
Ala	Ala	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly
		260					265					270			
Cys	Ala	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Thr	Gly	Cys	Gly
		275					280					285			
Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Thr	Cys	Thr	Cys	Gly	Gly	Thr
	290					295					300				
Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Gly	Thr	Gly

305	310	315	320
Gly Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr Cys Thr Ala Gly Thr Thr Ala Thr			
	325	330	335
Ala Ala Thr Thr Ala Thr Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly			
	340	345	350
Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr			
	355	360	365
Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala			
	370	375	
<210> 75			
<211> 369			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> nKN044-200			
<400> 75			
Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly			
1	5	10	15
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Cys Cys			
	20	25	30
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly			
	35	40	45
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr			
	50	55	60
Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Ala Gly Ala Thr Ala			
65	70	75	80
Cys Ala Cys Cys Cys Cys Cys Cys Gly Cys Ala Thr Gly Gly Cys Cys			
	85	90	95
Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Thr Cys			
	100	105	110
Cys Ala Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Gly Cys Gly Cys Gly Ala			
	115	120	125
Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Gly Thr Gly Ala Gly Cys Thr Cys			
	130	135	140
Ala Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Gly Gly Cys Ala Cys Cys Gly			
145	150	155	160
Cys Ala Ala Cys Cys Thr Ala Cys Gly Cys Ala Gly Ala Cys Thr Cys			
	165	170	175
Cys Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys			

180	185	190
Ala Cys Cys Ala Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Ala Gly Ala Cys Ala		
195	200	205
Ala Cys Ala Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala Cys Ala Cys Thr Cys Thr		
210	215	220
Ala Thr Ala Thr Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys		
225	230	235
Gly Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly		
245	250	255
Ala Cys Ala Cys Gly Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala		
260	265	270
Cys Thr Gly Thr Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Gly Thr Cys Thr Thr		
275	280	285
Cys Gly Ala Cys Cys Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr		
290	295	300
Cys Ala Cys Thr Gly Cys Gly Cys Cys Thr Ala Gly Ala Ala Cys Cys		
305	310	315
Thr Gly Gly Cys Gly Cys Gly Thr Ala Thr Ala Ala Cys Thr Ala Cys		
325	330	335
Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys		
340	345	350
Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys		
355	360	365

Ala

<210> 76

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-216

<400> 76

Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr		
20	25	30
Gly Gly Thr Thr Cys Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly		
35	40	45
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr		
50	55	60

Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr			
65	70	75	80
Thr Cys Cys Cys Thr Thr Cys Ala Gly Thr Thr Gly Gly Thr Cys Gly			
	85	90	95
Thr Cys Cys Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys			
	100	105	110
Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala			
	115	120	125
Gly Gly Gly Gly Ala Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys			
	130	135	140
Thr Cys Ala Thr Cys Thr Ala Thr Thr Ala Ala Cys Cys Gly Gly Cys			
145	150	155	160
Gly Gly Gly Gly Ala Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys Ala Gly Thr			
	165	170	175
Gly Thr Ala Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Ala			
	180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala			
	195	200	205
Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys			
	210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Thr			
225	230	235	240
Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala Ala Cys Cys			
	245	250	255
Thr Gly Cys Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys			
	260	265	270
Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Thr Thr Gly Thr			
	275	280	285
Gly Cys Cys Ala Gly Ala Gly Cys Cys Cys Gly Cys Cys Gly Gly Cys			
	290	295	300
Cys Gly Gly Ala Ala Ala Cys Thr Thr Gly Gly Thr Ala Cys Ala Cys			
305	310	315	320
Thr Gly Ala Thr Ala Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr Cys Cys Cys			
	325	330	335
Gly Cys Ala Cys Thr Cys Thr Thr Cys Gly Gly Thr Ala Cys Ala Ala			
	340	345	350
Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala			
	355	360	365
Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala			

	245		250		255
Ala Cys Thr Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala					
	260		265		270
Cys Thr Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Thr Thr Ala Cys Thr Ala Cys					
	275		280		285
Thr Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Cys					
	290		295		300
Thr Gly Thr Thr Cys Cys Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly					
305		310		315	320
Gly Ala Cys Cys Gly Gly Gly Cys Cys Cys Cys Gly Ala Ala Ala Thr					
	325		330		335
Thr Thr Thr Cys Gly Thr Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys					
	340		345		350
Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys					
	355		360		365
Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala					
	370		375		
<210> 78					
<211> 387					
<212> PRT					
<213> Artificial Sequence					
<220>					
<223> nKN044-227					
<400> 78					
Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly					
1	5		10		15
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Cys					
	20		25		30
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly					
	35		40		45
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr					
	50		55		60
Gly Thr Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Gly Thr Ala					
65		70		75	80
Cys Ala Cys Cys Ala Ala Cys Ala Gly Cys Ala Thr Cys Ala Gly Thr					
	85		90		95
Ala Ala Ala Ala Thr Gly Gly Gly Thr Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys					
	100		105		110
Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala					

115	120	125
Gly Gly Gly Gly Cys Gly Cys	Ala Cys Gly Gly	Ala Gly Gly Thr Cys
130	135	140
Gly Cys Ala Ala Cys Thr	Ala Thr Thr Thr	Thr Thr Ala Cys Thr Gly
145	150	155
Cys Gly Gly Gly Thr Gly Gly	Cys Ala Gly Cys Ala Cys	Ala Thr Ala
165	170	175
Cys Thr Ala Thr Gly Cys Cys	Gly Ala Cys Thr Cys Cys	Gly Thr Gly
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys	Gly Ala Thr Thr Cys	Ala Cys Cys Ala
195	200	205
Thr Cys Thr Cys Cys Cys	Ala Ala Gly Ala Cys	Ala Ala Cys Gly Cys
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala	Cys Ala Cys Gly Thr Thr	Gly Thr Ala Thr
225	230	235
Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala	Thr Gly Ala Ala Cys	Ala Ala Cys Cys
245	250	255
Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys	Thr Gly Ala Gly Gly	Ala Cys Ala Cys
260	265	270
Thr Gly Cys Cys Ala Thr	Gly Thr Ala Cys Thr	Ala Cys Thr Gly Thr
275	280	285
Gly Cys Gly Gly Thr Ala	Gly Cys Thr Ala Gly	Gly Cys Cys Gly Gly
290	295	300
Gly Cys Thr Gly Gly Ala Thr	Ala Thr Gly Gly Cys	Cys Cys Thr Ala Cys
305	310	315
Thr Ala Thr Ala Ala Ala	Gly Ala Cys Thr Ala	Thr Gly Ala Cys Cys
325	330	335
Cys Gly Cys Thr Ala Thr	Gly Ala Gly Thr Ala	Thr Ala Ala Cys Thr
340	345	350
Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly	Cys Cys Ala Gly Gly	Gly Gly Ala Cys
355	360	365
Cys Cys Ala Gly Gly Thr	Cys Ala Cys Cys Gly	Thr Cys Thr Cys Cys
370	375	380
Thr Cys Ala		
385		
<210> 79		
<211> 378		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		

<220>

<223> nKN044-235

<400> 79

Cys	Ala	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly
1				5				10						15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys
			20					25					30		
Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly
			35					40					45		
Thr	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr
			50					55					60		
Gly	Thr	Ala	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Thr	Ala
65							70						75		80
Thr	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Thr	Ala	Cys
							85						90		95
Thr	Gly	Cys	Ala	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys
			100					105					110		
Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala
			115					120					125		
Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Gly	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys
			130					135					140		
Gly	Cys	Ala	Cys	Gly	Thr	Ala	Thr	Thr	Gly	Gly	Thr	Ala	Cys	Cys	Thr
145							150					155			160
Ala	Thr	Gly	Gly	Thr	Ala	Cys	Cys	Ala	Cys	Ala	Thr	Gly	Gly	Thr	Ala
							165						170		175
Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Gly
			180					185					190		
Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Ala	Thr	Cys	Thr
			195					200					205		
Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys	Gly	Cys	Cys	Ala	Ala
			210					215					220		
Gly	Ala	Ala	Thr	Ala	Cys	Gly	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala	Thr	Cys	Thr	Gly
225							230					235			240
Cys	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala
							245						250		255
Ala	Ala	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Cys	Cys	Gly	Cys
							260						265		270
Cys	Ala	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Thr	Gly	Cys	Gly
			275					280					285		

Gly Cys Ala Gly Ala Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Gly Ala Thr
 290 295 300
 Ala Thr Thr Gly Thr Ala Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ala Cys Thr Thr
 305 310 315 320
 Ala Cys Thr Thr Cys Gly Cys Ala Cys Thr Ala Cys Cys Cys Thr Cys
 325 330 335
 Thr Thr Cys Gly Cys Thr Ala Ala Gly Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys
 340 345 350
 Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys
 355 360 365
 Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala
 370 375
 <210> 80
 <211> 381
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> nKN044-244
 <400> 80
 Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Cys
 20 25 30
 Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly
 35 40 45
 Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr
 50 55 60
 Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Ala Gly Ala Ala Ala
 65 70 75 80
 Cys Ala Cys Cys Thr Ala Cys Ala Gly Ala Ala Ala Thr Cys Gly Thr
 85 90 95
 Thr Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys
 100 105 110
 Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala
 115 120 125
 Gly Gly Ala Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Thr Cys
 130 135 140
 Gly Cys Gly Cys Gly Thr Ala Thr Thr Ala Ala Thr Ala Thr Ala Cys
 145 150 155 160

Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Gly Gly Cys Ala Thr Ala																	
Cys Thr Ala Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly																	
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala																	
Thr Cys Thr Cys Cys Cys Gly Ala Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys																	
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Ala Cys Thr Gly Thr Ala Thr																	
Cys Thr Cys Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala Gly Cys Cys																	
Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys																	
Gly Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr																	
Gly Cys Gly Gly Cys Gly Thr Cys Cys Cys Ala Ala Thr Cys Ala Gly																	
Gly Gly Gly Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Cys Gly Gly																	
Cys Gly Thr Ala Cys Thr Thr Gly Ala Cys Ala Cys Gly Cys Gly Ala																	
Thr Cys Gly Thr Ala Thr Cys Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly																	
Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr																	
Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala																	
<210> 81																	
<211> 372																	
<212> PRT																	
<213> Artificial Sequence																	
<220>																	
<223> nKN044-249																	
<400> 81																	
Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly																	
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Cys																	

Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly		
35	40	45
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr		
50	55	60
Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Cys Thr Ala		
65	70	75
Cys Ala Cys Cys Thr Ala Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Ala Ala Cys		
85	90	95
Thr Gly Cys Ala Thr Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys		
100	105	110
Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Ala Ala Ala		
115	120	125
Gly Gly Gly Gly Cys Gly Cys Ala Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Cys		
130	135	140
Gly Cys Gly Cys Thr Thr Ala Cys Thr Thr Cys Thr Ala Gly Thr Gly		
145	150	155
Gly Cys Ala Ala Thr Gly Gly Ala Cys Gly Cys Ala Cys Ala Thr Gly		
165	170	175
Gly Gly Thr Thr Gly Cys Cys Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly		
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala		
195	200	205
Thr Cys Thr Cys Cys Cys Ala Ala Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys		
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Ala Thr		
225	230	235
Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala Gly Cys Cys		
245	250	255
Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys		
260	265	270
Thr Gly Gly Cys Gly Cys Gly Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Gly Thr		
275	280	285
Gly Cys Gly Gly Cys Ala Gly Gly Cys Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr		
290	295	300
Gly Thr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Gly Thr Thr Thr Ala Cys Thr Gly		
305	310	315
Gly Ala Ala Ala Thr Gly Gly Gly Cys Cys Cys Thr Thr Ala Gly Ala		
325	330	335
Gly Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala		

	340		345		350
Cys Cys Cys	Ala Gly Gly Thr	Cys Ala Cys Cys Gly Thr	Cys Thr Cys		
	355		360		365
Cys Thr Cys	Ala				
	370				
<210>	82				
<211>	387				
<212>	PRT				
<213>	Artificial Sequence				
<220>					
<223>	nKN044-252				
<400>	82				
Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly					
1	5	10	15		
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Cys					
	20	25	30		
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly					
	35	40	45		
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr					
	50	55	60		
Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala					
65	70	75	80		
Cys Ala Thr Cys Thr Ala Cys Ala Gly Thr Cys Gly Cys Ala Ala Cys					
	85	90	95		
Thr Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys					
	100	105	110		
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala					
	115	120	125		
Gly Gly Ala Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys					
	130	135	140		
Gly Cys Ala Thr Cys Thr Ala Thr Thr Ala Gly Thr Gly Thr Thr Ala					
145	150	155	160		
Ala Thr Gly Gly Thr Gly Ala Cys Ala Ala Cys Ala Cys Ala Cys Ala					
	165	170	175		
Cys Thr Ala Thr Gly Cys Cys Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly					
	180	185	190		
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala					
	195	200	205		
Thr Cys Thr Cys Cys Cys Ala Ala Gly Ala Cys Gly Cys Ala Gly Cys					

210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Ala Thr		
225	230	235
Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Cys Cys Ala Gly Cys Cys		240
	245	250
Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys		255
	260	265
Thr Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr		270
	275	280
Gly Cys Gly Gly Cys Ala Thr Ala Thr Thr Gly Gly Cys Cys Cys Gly		285
290	295	300
Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Thr Gly Cys		
305	310	315
Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Thr Thr Thr Thr Thr Gly Gly		320
	325	330
Gly Gly Gly Cys Gly Gly Ala Thr Cys Thr Thr Thr Ala Ala Cys Thr		335
	340	345
Thr Cys Cys Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys		350
	355	360
Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys		365
370	375	380
Thr Cys Ala		
385		
<210> 83		
<211> 366		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> nKN044-264		
<400> 83		
Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Cys		15
	20	25
Gly Gly Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly		30
	35	40
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr		45
	50	55
Gly Thr Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala		60

65	70	75	80
Cys Ala Thr Cys Thr	Ala Cys Ala Gly Thr	Ala Ala Cys Thr	Gly Cys
	85	90	95
Ala Thr Gly Gly Gly	Cys Thr Gly Gly Thr	Thr Cys Cys Gly	Cys Cys
	100	105	110
Ala Gly Gly Cys Thr	Cys Cys Ala Gly Gly	Gly Ala Ala Gly	Gly Ala
	115	120	125
Gly Cys Gly Cys Gly	Ala Gly Gly Gly Cys	Thr Cys Gly Cys	Thr
	130	135	140
Gly Cys Thr Ala Thr	Thr Gly Ala Thr Cys	Gly Thr Thr Ala	Thr Gly
145	150	155	160
Gly Thr Cys Gly Thr	Gly Cys Gly Ala Cys	Gly Thr Ala Cys	Gly Cys
	165	170	175
Gly Gly Ala Cys Thr	Cys Cys Gly Thr Gly	Ala Ala Gly Gly	Gly Ala
	180	185	190
Cys Gly Ala Thr Thr	Cys Ala Cys Cys Ala	Thr Cys Thr Cys	Cys Ala
	195	200	205
Gly Ala Gly Ala Cys	Ala Ala Cys Cys Thr	Cys Ala Ala Gly	Ala Ala
	210	215	220
Cys Ala Cys Gly Gly	Thr Gly Thr Cys Thr	Cys Thr Gly Cys	Ala Ala
225	230	235	240
Ala Thr Gly Ala Ala	Cys Ala Gly Cys Cys	Thr Gly Ala Ala	Ala Cys
	245	250	255
Cys Thr Gly Ala Gly	Gly Ala Cys Ala Cys	Thr Gly Cys Cys	Ala Cys
	260	265	270
Thr Thr Ala Cys Thr	Ala Cys Thr Gly Thr	Gly Cys Gly Gly	Cys Ala
	275	280	285
Gly Cys Cys Cys Gly	Ala Thr Gly Gly Cys	Gly Thr Gly Cys	Thr Ala
	290	295	300
Gly Cys Thr Gly Cys	Gly Thr Ala Ala Cys	Cys Thr Thr Gly	Gly Thr
305	310	315	320
Thr Cys Gly Cys Thr	Thr Thr Ala Cys Thr	Thr Cys Thr Thr	Gly Gly
	325	330	335
Gly Gly Thr Cys Ala	Gly Gly Gly Gly Ala	Cys Cys Cys Ala	Gly Gly
	340	345	350
Thr Cys Ala Cys Cys	Gly Thr Cys Thr Cys	Cys Thr Cys Ala	
	355	360	365

<210> 84

<211> 405

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-266

<400> 84

Cys	Ala	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys
			20					25					30		
Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly
			35					40					45		
Thr	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr
			50					55					60		
Gly	Thr	Gly	Thr	Ala	Gly	Cys	Cys	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Thr	Ala
65					70					75					80
Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Thr	Ala	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys
					85					90					95
Thr	Ala	Cys	Ala	Thr	Cys	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys
			100							105				110	
Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala
			115							120				125	
Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Gly	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys
			130					135						140	
Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Ala	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly
145						150					155				160
Gly	Thr	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Thr	Ala	Gly	Thr	Ala	Cys	Ala	Thr	Ala
						165					170				175
Cys	Thr	Ala	Thr	Gly	Gly	Thr	Ala	Gly	Thr	Ala	Cys	Ala	Thr	Ala	Cys
						180					185				190
Thr	Ala	Thr	Gly	Cys	Cys	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Ala
						195					200				205
Ala	Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Ala	Thr
						210					215				220
Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Ala	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys	Gly	Cys	Cys
225						230					235				240
Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Cys	Gly	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala	Thr	Cys
						245					250				255
Thr	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr
						260					265				270

Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Thr
 275 280 285
 Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr Gly
 290 295 300
 Cys Gly Gly Cys Ala Gly Gly Thr Cys Gly Ala Thr Cys Cys Cys Cys
 305 310 315 320
 Thr Thr Thr Cys Cys Cys Cys Gly Thr Gly Gly Cys Gly Thr Thr Cys
 325 330 335
 Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Thr
 340 345 350
 Cys Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ala Thr Ala Thr Cys Cys
 355 360 365
 Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly
 370 375 380
 Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr
 385 390 395 400
 Cys Cys Thr Cys Ala
 405

<210> 85

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> nKN044-268

<400> 85

Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Cys
 20 25 30
 Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly
 35 40 45
 Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr
 50 55 60
 Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala
 65 70 75 80
 Cys Ala Cys Cys Thr Ala Cys Ala Gly Thr Ala Cys Cys Ala Ala Ala
 85 90 95
 Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys
 100 105 110

Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Ala		
115	120	125
Gly Gly Ala Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Thr Cys		
130	135	140
Gly Cys Ala Ala Cys Thr Ala Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Ala		
145	150	155
Cys Thr Ala Thr Gly Gly Gly Thr Ala Thr Cys Cys Cys Gly Ala Thr		
165	170	175
Cys Thr Ala Thr Gly Cys Cys Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly		
180	185	190
Ala Ala Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala		
195	200	205
Thr Cys Thr Cys Cys Cys Gly Ala Gly Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys		
210	215	220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Ala Thr		
225	230	235
Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala Ala Cys Cys		
245	250	255
Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys		
260	265	270
Thr Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr		
275	280	285
Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly Thr Cys Cys Gly Thr		
290	295	300
Cys Ala Cys Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys Thr Thr Thr Thr Cys Thr		
305	310	315
Thr Gly Gly Thr Thr Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Cys		
325	330	335
Gly Cys Ala Gly Cys Ala Thr Ala Thr Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr		
340	345	350
Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala		
355	360	365
Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala		
370	375	380
<210> 86		
<211> 381		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		

<223> nKN044-275

<400> 86

Cys	Ala	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly
1				5				10					15		
Ala	Gly	Thr	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys
			20					25					30		
Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly
			35					40					45		
Thr	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Ala	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Thr	Cys	Cys	Thr
			50					55					60		
Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Cys	Thr	Gly	Ala	Ala	Thr	Ala
65								70					75		80
Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Ala	Gly	Thr	Ala	Ala	Gly
			85										90		95
Cys	Gly	Cys	Ala	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys
			100												
								105					110		
Gly	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala
			115												
								120					125		
Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Gly	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys
			130					135					140		
Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Ala	Ala	Thr	Thr	Thr	Cys	Gly	Ala	Gly	Cys	Ala
145								150					155		160
Gly	Cys	Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Ala	Thr	Ala
			165										170		175
Cys	Thr	Ala	Thr	Gly	Cys	Cys	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly
			180												
								185					190		
Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Ala
			195										200		205
Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Cys	Ala	Ala	Cys	Ala	Cys
			210										215		220
Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Cys	Gly	Gly	Thr	Gly	Thr	Ala	Thr
225													230		235
Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys
			245										250		255
Thr	Gly	Ala	Ala	Ala	Cys	Cys	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Gly
			260										265		270
Thr	Gly	Cys	Cys	Ala	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Thr
			275										280		285
Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys	Thr	Thr	Cys	Gly	Ala	Cys

290	295	300
Cys Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Cys Ala Cys Thr		
305	310	315
Gly Cys Gly Cys Cys Thr Ala Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys		320
	325	330
Gly Cys Gly Thr Ala Thr Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly		335
	340	345
Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr		350
	355	360
Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala		365
370	375	380
<210> 87		
<211> 369		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> nKN044-280		
<400> 87		
Cys Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly		
1	5	10
Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr		15
	20	25
Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly		30
	35	40
Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr		45
	50	55
Gly Thr Ala Cys Thr Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly		60
65	70	75
Cys Ala Cys Cys Thr Ala Thr Ala Cys Thr Ala Ala Cys Ala Ala Thr		80
	85	90
Thr Ala Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Cys		95
	100	105
Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly Ala Ala Ala		110
	115	120
Gly Gly Ala Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Thr Cys		125
	130	135
Gly Cys Ala Ala Cys Gly Ala Thr Thr Gly Ala Thr Cys Gly Thr Cys		140
145	150	155
Gly Thr Cys Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Ala Cys Gly Thr Ala		160

	165		170		175
Cys Thr Ala Thr Gly Cys Cys Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly					
	180		185		190
Ala Gly Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala					
	195		200		205
Thr Cys Thr Cys Cys Cys Ala Ala Gly Ala Cys Ala Ala Gly Gly Cys					
	210		215		220
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Ala Thr					
225		230		235	240
Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala Gly Cys Cys					
	245		250		255
Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys					
	260		265		270
Thr Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Thr					
	275		280		285
Gly Cys Gly Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Cys Gly Gly Thr Cys					
	290		295		300
Gly Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Cys Thr Thr Thr Cys Gly Cys Gly					
305		310		315	320
Thr Gly Thr Thr Thr Gly Gly Thr Ala Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys					
	325		330		335
Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Cys					
	340		345		350
Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys					
	355		360		365

Ala

<210> 88

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> KN044

<400> 88

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly															
1				5					10					15	
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ile Tyr Ser Ala Tyr															
			20					25					30		
Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Gly Val															
			35				40						45		

Ala Ala Ile Tyr Ile Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90
Ala Ala Asp Val Ile Pro Thr Glu Thr Cys Leu Gly Gly Ser Trp Ser		
100	105	110
Gly Pro Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	125
Gly Ala Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln		
130	135	140
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ile Tyr		
145	150	155
Ser Ala Tyr Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
	165	170
Glu Gly Val Ala Ala Ile Tyr Ile Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala		
180	185	190
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn		
195	200	205
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val		
210	215	220
Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Val Ile Pro Thr Glu Thr Cys Leu Gly Gly		
225	230	235
Ser Trp Ser Gly Pro Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr		
	245	250
Val Ser Ser Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys		
260	265	270
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu		
275	280	285
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
290	295	300
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys		
305	310	315
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
	325	330
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu		
340	345	350
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		

355	360	365
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro	Ala Pro Ile Glu Lys Thr	Ile Ser Lys
370	375	380
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu	Pro Gln Val Tyr Thr	Leu Pro Pro Ser
385	390	395
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn	Gln Val Ser Leu Thr	Cys Leu Val Lys
405	410	415
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile	Ala Val Glu Trp Glu	Ser Asn Gly Gln
420	425	430
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr	Thr Pro Pro Val Leu	Asp Ser Asp Gly
435	440	445
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys	Leu Thr Val Asp Lys	Ser Arg Trp Gln
450	455	460
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys	Ser Val Met His Glu	Ala Leu His Asn
465	470	475
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu	Ser Leu Ser Pro Gly	Lys
485	490	

<210> 89

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 89

cccaccgggtc aggtgcagct gcaggagtc 29

<210> 90

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 90

cccgatcct gaggagacgg tgacctgg 28

<210> 91

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 91
cccaccggtc aggtgcagct gcaggagtc 29
<210> 92
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Artificial Sequence
<400> 92
cccgatcca tgctgcctga ggagacgggtg acctgg 36

17 个 dAb 的氨基酸序列（根据 Kabat 和 Chothia 的规则用框标出 CDR）

>nKN044-97

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTYRRRSMGWFRQAPGKEREFVSSISTDGTNYADSVKGRFTIYRDNANTVY
LQMNSLKPEDTAVYYCASRSLAASLLGSWYRYWGQGTQVTSS

>nKN044-125

QVQLQESGGGSVQTGGSLRLSCVASGYSYRRRCMGWFRQAPGKLEWVSTINSGGGSTYYADSVKGRFTISHDSATSTV
YLQMNNLKPEDTAMYHCAVVRTMTLRYGNLTLRPDYWGQGTQVTSS

>nKN044-19-3

QVQLQESGGASVQAGGSLRLSCAASGYTYTNYIMAWFRQYPGKEREGVASIYIGSGSTNYADSVKGRFTISQDNAKNTLY
LQMNNLKPEDTAMYYCAATRDGRWYFGQGTQVTSS

>nKN044-266

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCVAAGYTLRTNYIGWFRQAPGKEREGVAIYRGGGSTYYGSTYYADSVKGRFTISRDN
KNTVYLEMNSLKPEDTAMYYCAAGRSPFPVAFGGAWYSAGRYPYWGQGTQVTSS

>nKN044-200

QVQLQESGGGPVQAGGSLRLSCAASRYTPRMAWFRQGPGKEREVGELNFFGTATYADSVKGRFTISKDNTNNTLYLQ
MNALKPEDTAMYYCAAGLRPGWWSLRLEPGAYNYWGQGTQVTSS

>nKN044-275

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASEYTRRSKRMGWFRQAPGKEREGVAISSSGAFTYYADSVKGRFTMSQDNTKNT
VYLQMNSLKPEDSAMYCAAGLRPGWWSLRLEPGAYNYWGQGTQVTSS

>nKN044-280

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCTASGSTYTNNYIAWFRQAPGKEREGVATIDRRLGSTYYADSVRGRTISQDKAKNTVYL
QMNSLKPEDTAMYYCAAGRGRWLSRVWYNYWGQGTQVTSS

>nKN044-244

QVQLQESGGGSVQPGGSLRLSCAASRNTYRNRWMGWFRQAPGKEREGVARIINIRSGRAYYADSVKGRFTISRDNANT
LYLQMNSLKPEDTAMYYCAASQSGGFFYGVLDRSYHYWGPQTQVTSS

>nKN044-268

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTYSTKRVAWFRQAPGKEREGVATISATMGIPYADSVKGRFTISRDNANTVYL
QMNNLKPEDTAMYYCAAGRPSRAAFLGYLRAAAYDYWGQGTQVTSS

>nKN044-227

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCTASGYTNSISKMGWFRQAPGKGRTEVATIFTAGGSTYYADSVKGRFTISQDNAKNTLY
LQMNNLKPEDTAMYYCAVARPGWIWPTIKMTTRYEYNYWGQGTQVTSS

图1

>nKN044-235

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCTASGYTYRRYCMGWFRQAPGKEREGVARIPTYGTTWYADSVKGRFTISRDNKNTV
YLQMNSLKPEDTAMYYCAADPGRYCRGDLLRTTLFAKWGQGTQVTVSS

>nKN044-194

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASRYTIRSICMAWFRQAPGKERERVAIDIDRYGTTTHVADSVKDRFSISTDSAKNTLYL
QMNNLKPEDAGMYYCAADSSRWCGAWWSPSSYNYWGQGTQVTVSSAAA

>nKN044-264

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCVASGYIYSNCMGWFRQAPGKEREGLAIDRYGRATYADSVKGRFTISRDNLKNTVSL
QMNSLKPEDTATYYCAARWRASCVTLRFTSWGQGTQVTVSS

>nKN044-252

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYIYSRNWMGWFRQAPGKEREWVASISVNGDNTHYADSVKGRFTISQDAAKN
TVYLQMTSLKPEDTAMYYCAAYWPGGGGSAAWSFWGRIFNFRGQGTQVTVSS

>nKN044-249

QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTYSSNCIGWFRQAPGKGRNWVALTSSGNGRTWVADSVKGRFTISQDNAKN
TVYLQMNSLKPEDTGAYYCAAGPACSGVYWKWALRGWGQGTQVTVSS

>nKN044-216

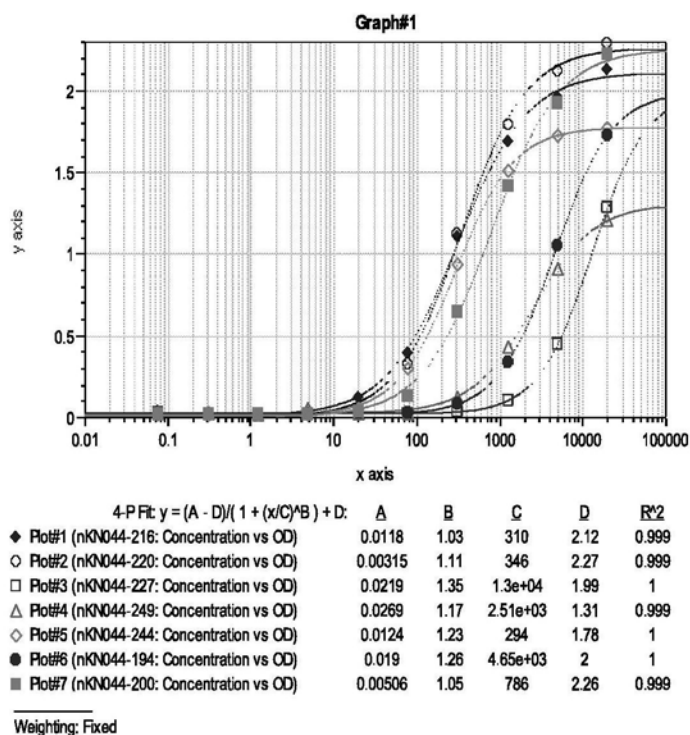
QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSWSSMNWVRQAPGKGMWVSSINRRGTVTVYADSVKGRFTISRDNKNTV
TVALQMNNLQPEDTAVYYCARARRPETWYTDIWTPLFGTRGQGTQVTVSS

>nKN044-220

QVQLQESGGGLVQPGGSLTSCVSGFTFAAPYYISWVRQAPGKGLDWLSSINTYNSVTYYADSVKGRFTITRQNGGRTW
NLQMNYLEPEDSGIYYCAAGWLFRGSWTGPRNFRYWGQGTQVTVSS

图1 (续)

A



B

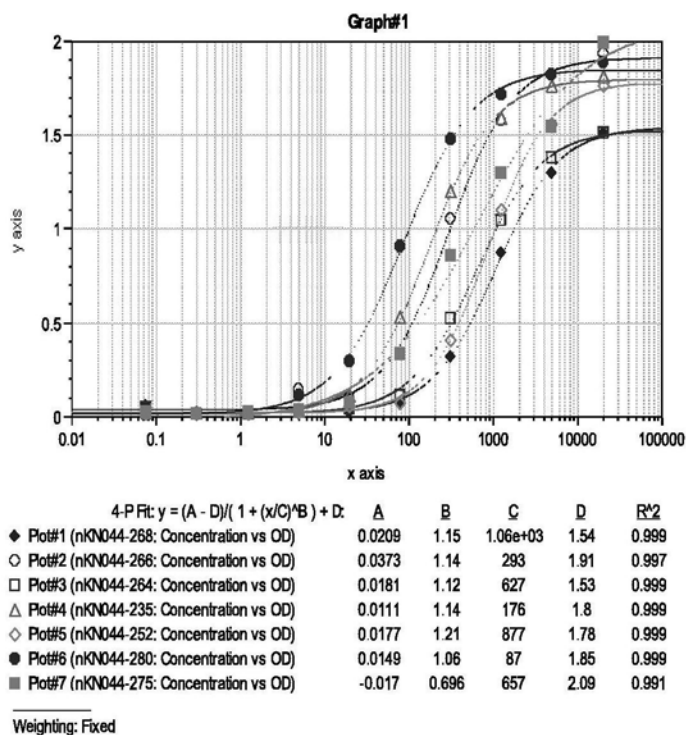


图2

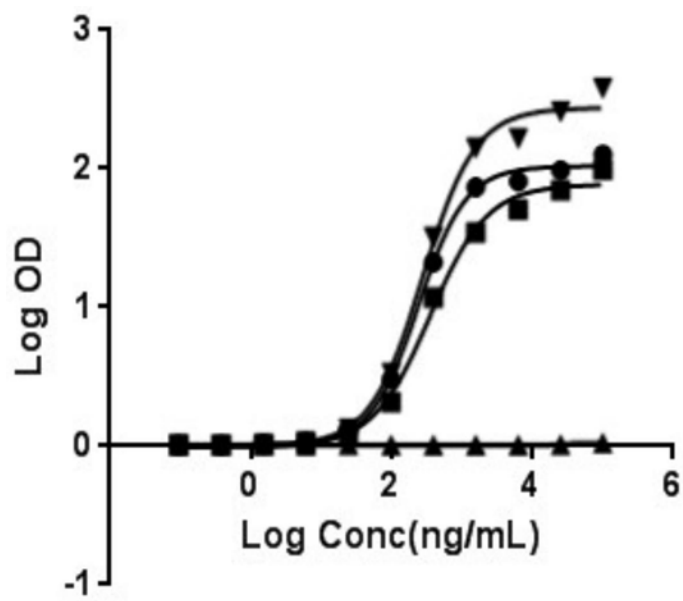


图3

专利名称(译)	针对KN044的单域抗体		
公开(公告)号	CN110407942A	公开(公告)日	2019-11-05
申请号	CN201910341560.6	申请日	2019-04-26
[标]申请(专利权)人(译)	苏州康宁杰瑞生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州康宁杰瑞生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州康宁杰瑞生物科技有限公司		
[标]发明人	徐霆 逢敏洁 许志戎 李倩 汪晶晶		
发明人	徐霆 逢敏洁 许志戎 李倩 汪晶晶		
IPC分类号	C07K16/42 C12N15/13 C12P21/02 G01N33/53 A61K39/395 A61P35/00 A61P31/00		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P31/00 A61P35/00 C07K16/4258 C07K2317/569 C07K2317/76 C07K2317/92 G01N33/536		
代理人(译)	王子楠		
优先权	201810392284.1 2018-04-27 CN		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及医药生物领域，公开了针对KN044的单域抗体。具体而言，本发明公开了一种衍生自所述单域抗体的针对KN044的结合分子及其用途，特别是在检测KN044、用作KN044的抗药抗体(ADA)检测的阳性抗体、减少由于施用KN044所引发的副作用中的用途。

