



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I638833 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 10 月 21 日

(21)申請案號：100143903

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 11 月 30 日

(51)Int. Cl. : C07K16/46 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2010/11/30 日本

2010-266760

2011/05/31 日本

2011-121771

2011/10/31 日本

2011-238818

(71)申請人：中外製藥股份有限公司 (日本) CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
日本(72)發明人：根津淳一 NEZU, JUNICHI (JP)；石黑敬弘 ISHIGURO, TAKAHIRO (JP)；成田敦
NARITA, ATSUSHI (JP)；坂本昭久 SAKAMOTO, AKIHISA (JP)；川合由美子
KAWAI, YUMIKO (JP)；井川智之 IGAWA, TOMOYUKI (JP)；倉持太一
KURAMOCHI, TAICHI (JP)

(74)代理人：洪澄文

(56)參考文獻：

2007 年 04 月 05 日, Sebastian, M., et al., "Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer Patients with the Trifunctional Monoclonal Antibody Catumaxomab (Anti-EpCAM x Anti-CD3): a Phase I Study", Cancer Immunol. Immunother., 2007, Vol.56, Issue 10, P.1637-1644.

2006 年 10 月 12 日, McEarcher, J.A., et al., "Engineered Anti-CD70 Antibody with Multiple Effector Functions Exhibits in vitro and in vivo Antitumor Activities", Blood, 2007, Vol.109, No.3, P. 1185-1192

審查人員：林奕萍

申請專利範圍項數：44 項 圖式數：26 共 392 頁

(54)名稱

細胞傷害誘導治療劑

(57)摘要

本發明發現一種新的多胜肽聯合體，其維持 BiTE 具有之強抗腫瘤活性、及安全性之優異性質，且具有長血中半衰期，且藉由將抗原結合域取代能以各種細胞為標的帶來細胞傷害。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於使 T 細胞接近標的癌細胞，藉由 T 細胞對於標的癌細胞之細胞傷害活性而可治療癌症之多胜肽聯合體、該多胜肽聯合體之製造方法、及含有該多胜肽聯合體當做有效成分之細胞傷害誘導治療劑。又，關於含有該細胞傷害誘導治療劑當做有效成分之用於治療或預防各種癌症的醫藥組成物或使用該醫藥組成物之治療方法。

【先前技術】

迄今為止顯示優異抗腫瘤效果的多數治療用抗體，係以治療癌症為目的而以醫藥品的形式開發（非專利文獻 1）。該等治療用抗體已知係藉由抑制對於癌細胞增殖所必要之信號、誘發細胞死亡信號、或利用 ADCC (Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity；抗體依存性細胞傷害)、CDC (Complement Dependent Cytotoxicity；補體依存性細胞傷害)，而發揮對於癌細胞之抗腫瘤效果（非專利文獻 2）。藉由使抗體之 Fc 區域結合於存在於 NK 細胞或巨噬體等效應子細胞上的 Fc 受體，使得該等效應子細胞對於抗體所結合之標的癌細胞發揮之細胞傷害，為 ADCC。補體複合體會結合於抗體之構造中所存在之補體結合部位。藉由在抗體所結合之細胞之細胞膜上，存在於該複合體中之補體成分會形成孔，促進水或離子流入細胞內並引起細胞受破壞的細胞傷害，為 CDC。既有的治療用抗體雖認為具有優異的作用，但是藉由如此的抗體的投予獲得之

治療成績尚未令人滿意。而，希望能開發發揮更為強力的殺細胞活性的對抗癌症的治療抗體。

與上述動員 NK 細胞或巨噬體當做效應子細胞之 ADCC 其成為抗腫瘤效果的機制的抗體分別地，動員 T 細胞當做效應子細胞之細胞傷害其成為抗腫瘤效果之機制的抗體 T 細胞增援抗體(T cell recruiting antibody、TR 抗體)，亦從 1980 年代便已知(非專利文獻 3-5)。TR 抗體係對抗 T 細胞上之 T 細胞受體(TCR)複合體之構成次單元任一者的抗體，尤其是包含結合於 CD3 epsilon 鏈之抗體、及結合於標的癌細胞上之抗原的抗體的雙專一性 (bi-specific) 抗體。TR 抗體藉由同時結合於 CD3 epsilon 鏈與癌抗原，使得 T 細胞接近癌細胞。其結果，據認為會由於 T 細胞具有的細胞傷害作用而發揮對於癌細胞的抗腫瘤效果。

也已知有為 TR 抗體之一的稱為三功能(trifunctional)抗體的抗體(非專利文獻 6、7)。其係於各臂分別包含結合於癌抗原之 Fab 與結合於 CD3 epsilon 鏈之 Fab 的完整 IgG 型之雙專一性抗體。藉由將對抗 EpCAM 之三功能(trifunctional)抗體 catumaxomab 對於帶有 EpCAM 陽性之癌細胞的惡性腹水患者的腹腔內投予，顯示對於惡性腹水症有治療效果。EU 已認可以上述治療為目的之 catumaxomab 之用途。

再者，最近逐漸了解到稱為 BiTE(bispecific T-cell engager)之 TR 抗體顯示強力抗腫瘤作用(非專利文獻 8、9)。BiTE 係具有將對抗癌抗原之抗體之 scFv 與對抗 CD3

epsilon 鏈之抗體之 scFv 經由短的多胜肽連結子連結之分子型式的 TR 抗體。BiTE 據報告比起至今為止已知的各種 TR 抗體，具有更優異的抗腫瘤作用（非專利文獻 9、10）。亦即，BiTE 比起其他 TR 抗體，能在顯著低濃度、及低效應子細胞：癌細胞比率（ET 比）之下發揮抗腫瘤效果。又，亦顯示為了表現其效果，不需預先將效應子細胞以 IL-2 或 CD28 促效劑抗體等使活化。對抗 CD19 之 BiTEblinatumomab(MT103)，遠比在臨床上已知具有優異效果的 Rituxan，於體外顯示強力的對於癌細胞之傷害作用。再者，有人報告在最近實施的第一期臨床試驗、第二期臨床試驗顯示極優異之抗腫瘤效果（非專利文獻 11）。

Catumaxomab 於臨床顯示藥效並認可為當做治療藥，且包含 blinatumomab 在內的多數 BiTE 發揮強力抗腫瘤效果，因此啟示動員 T 細胞當做效應子細胞之 TR 抗體中，比起通常之 ADCC 當做其作用機制的抗體具有極高的當做抗腫瘤藥的潛力。

但是當三功能(trifunctional)抗體以癌抗原非依存地同時結合於 T 細胞與 NK 細胞或巨噬體等細胞時，已知會由於表現於該等細胞之受體交聯，而誘導癌抗原非依存性的各種細胞激素表現。如此的細胞激素表現的誘導，據認為與由於三功能(trifunctional)抗體之全身投予所致細胞激素風暴狀的副作用發生相關。實際上，於對於非小細胞肺癌患者進行 catumaxomab 全身投予的第一期臨床試驗中，5 μ g/body 之極低用量係最大容許投予量，據報告使

用比其更多的用量投予會引起各種嚴重的副作用(非專利文獻 12)。利用如此低用量 catumaxomab 之投予，畢竟達不到其有效血中濃度。亦即，如此低用量的 catumaxomab 的投予無法獲得期待的抗腫瘤作用。

另一方面，由於 BiTE 與 catumaxomab 不同，不具有對抗 Fc γ 受體之結合部位，所以，不會發生癌抗原非依存地表現於 T 細胞與 NK 細胞或巨噬體等之受體交聯的情形。是以，顯示當投予 catumaxomab 時觀察到的癌抗原非依存性的細胞激素的誘導並不會發生。但是 BiTE 係欠缺 Fc 區域之低分子量型之改變抗體分子，故比起通常使用於當做治療用抗體的 IgG 型抗體，會存在對於患者投予之 BiTE 的血中半衰期顯著短的問題。實際上，對於活體投予之 BiTE 之血中半衰期據顯示為數小時左右(非專利文獻 13、14)，於 blinatumomab 之臨床試驗係使用迷你泵浦持續進行靜脈內投予，而投予 blinatumomab。如此的投予對於患者不僅是便利性顯著不佳的投予法，而且也存在由於機器故障等造成的醫療事故的風險，不能稱得上是理想的治療方法。

【先前技術文獻】

【非專利文獻】

【非專利文獻 1】Clin Cancer Res. (2010) 16 (1), 11-20

【非專利文獻 2】Drug Des Devel Ther (2009) 3, 7-16

【非專利文獻 3】Nature (1985) 314 (6012), 628-31

【非專利文獻 4】Int J Cancer (1988) 41 (4), 609-15.

【非專利文獻 5】Proc Natl Acad Sci USA (1986) 83 (5),

1453-7

【非專利文獻 6】Cancer Treat Rev. (2010) 36 (6), 458-67

【非專利文獻 7】Expert Opin Biol Ther (2010) 10 (8),
1259-69

【非專利文獻 8】Proc Natl Acad Sci USA. (1995) 92 (15),
7021-5

【非專利文獻 9】Drug Discov Today (2005), 10 (18),
1237-44

【非專利文獻 10】Trends Biotechnol (2004) 22 (5),
238-44

【非專利文獻 11】Science (2008), 321 (5891), 974-7

【非專利文獻 12】Cancer Immunol Immunother (2007) 56
(10), 1637-44

【非專利文獻 13】Cancer Immunol Immunother. (2006)
55(5), 503-14

【非專利文獻 14】Cancer Immunol Immunother. (2009)
58(1), 95-109

【發明內容】

【發明欲解決之課題】

本發明係有鑑於上述情況而產生，目的在於提供使 T 細胞接近標的癌細胞，藉由 T 細胞對於標的癌細胞之細胞傷害活性而可治療癌症之多胜肽聯合體、該多胜肽聯合體之製造方法、及包含該多胜肽聯合體當做有效成分之細胞傷害誘導治療劑。又，目的在於提供包含該細胞傷害誘導

治療劑當做有效成分之用於治療或預防各種癌症的醫藥組成物或使用該醫藥組成物之治療方法。

【解決課題之方式】

本案發明人等發現維持 BiTE 具有的強力抗腫瘤活性、及不會癌抗原非依存地誘導細胞激素風暴等之安全性上的優異性質，而且具有長血中半衰期的新的多胜肽聯合體。再者發現：藉由將多胜肽聯合體中的抗原結合域取代，該多胜肽聯合體會以各種細胞當做標的而進行細胞傷害。本案發明人等基於該發現，解明本發明之多胜肽聯合體會傷害癌細胞。又，也發現藉由對於多胜肽聯合體導入 CH1/CL 界面組合控制及導入凸起配置於空隙中(Knob into Hole)(KiH)改變，能更加以良好效率進行細胞傷害。又，本案發明人等發現包含本發明之多胜肽聯合體當做有效成分之細胞傷害誘導治療劑，可治療或預防各種癌症。

亦即，本發明提供以下。

[1] 一種多胜肽聯合體，其係包含下列域(domain)；

(1)抗原結合域、

(2)包含對於 Fc γ 受體之結合活性低落的 Fc 區域的域、及

(3)T 細胞受體複合體結合域。

[2] 如 [1]之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體複合體結合域為 T 細胞受體結合域、。

[3] 如 [1]之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體複合體結合域為 CD3 結合域。

[4] 如 [1]至 [3]中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結

合域為二價之抗原結合域。

[5] 如[4]之多胜肽聯合體，其中，二價之抗原結合域為具有 $F(ab')_2$ 之構造的域。

[6] 如[5]之多胜肽聯合體，其中，具有 $F(ab')_2$ 之構造的域之構成重鏈恆定區之二個多胜肽係分別連結於構成 F_c 區域之二個多胜肽。

[7] 如[6]之多胜肽聯合體，其中，CD3 結合域連結於構成 F_c 區域之一個或二個 CH_3 。

[8] 如[7]之多胜肽聯合體，其中，構成 CD3 結合域之重鏈 F_v 片段連結於構成 F_c 區域的其中之一的 CH_3 ，構成 CD3 結合域之輕鏈 F_v 片段連結於構成 F_c 區域之其中另一 CH_3 。

[9] 如[8]之多胜肽聯合體，其中，構成 CD3 結合域之重鏈 F_v 片段，有抗體之 CH_1 域連結，且輕鏈 F_v 片段有抗體之 CL 域連結。

[10] 如[6]之多胜肽聯合體，其中，CD3 結合域連結於構成 $F(ab')_2$ 之一個或二個 CL 。

[11] 如[6]之多胜肽聯合體，其中，CD3 結合域連結於構成 $F(ab')_2$ 之一個或二個 VH 。

[12] 如[6]之多胜肽聯合體，其中，CD3 結合域連結於構成 $F(ab')_2$ 之一個或二個 VL 。

[13] 如[1]至[12]中任一項之多胜肽聯合體，其中，CD3 結合域為 F_v 。

[14] 如[1]至[7]及[10]至[12]中任一項之多胜肽聯合體，其中，CD3 結合域為 Fab 。

[15] 如 [1] 至 [7] 及 [10] 至 [12] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，CD3 結合域為 scFv。

[16] 如 [1] 至 [15] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，CD3 結合域為一價。

[17] 如 [1] 至 [3] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域為一價之 scFv 及一價之 Fab。

[18] 如 [17] 之多胜肽聯合體，其中，一價之 scFv 以中間為構成 CD3 結合域之 scFv 而連結於構成 Fc 區域之一個多胜肽，一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之一個多胜肽，且該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結。

[19] 如 [1] 至 [3] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域為二價之 scFv。

[20] 如 [19] 之多胜肽聯合體，其中，一價之 scFv 以中間為構成 CD3 結合域之重鏈 Fv 片段而連結於構成 Fc 區域之一個多胜肽，另一個一價之 scFv 以中間為構成 CD3 結合域之輕鏈 Fv 片段而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽。

[21] 如 [19] 之多胜肽聯合體，其中，一價之 scFv 以中間為構成 CD3 結合域之 scFv 而連結於構成 Fc 區域之一個多胜肽，另一個一價之 scFv 連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽。

[22] 如 [1] 至 [3] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域、及 T 細胞受體複合體結合域各為一價之 Fab。

[23] 如 [22] 之多胜肽聯合體，其中，構成抗原結合域之一

價之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，且構成 T 細胞受體結合域之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結。

[24] 如 [22] 之多胜肽聯合體，其中，構成抗原結合域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，構成 T 細胞受體結合域之 Fab 之輕鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽，且該 Fab 之重鏈 Fv 片段與 CL 區域連結。

[25] 如 [22] 之多胜肽聯合體，其中，構成抗原結合域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，構成 T 細胞受體結合域之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CL 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CH1 區域連結。

[26] 如 [22] 之多胜肽聯合體，其中，構成 T 細胞受體結合域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，構成抗原結合域之 Fab 之輕鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽，該 Fab 之重鏈 Fv 片段與 CL 區域連結。

[27] 如 [22] 之多胜肽聯合體，其中，構成 T 細胞受體結合

域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，構成抗原結合域之 Fab 之重鏈 Fv 片段以中間為 CL 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CH1 區域連結。

[28] 如 [22] 之多胜肽聯合體，

其包含：

(1) 抗原結合域，其係結合於抗原之一價之 Fab 構造之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成前述 Fc 區域之其中之一之多胜肽，該 Fab 構造之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結；

及

(2) T 細胞受體複合體結合域，其係結合於 T 細胞受體複合體之一價之 Fab 構造之重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽，該 Fab 構造之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結；

且 CH1 區域與 CL 區域之電荷受控制，以使得抗原結合域中之重鏈 Fv 片段與抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段或 T 細胞受體結合域中之重鏈 Fv 片段與 T 細胞受體結合域中之輕鏈 Fv 片段進行組合。

[29] 如 [28] 之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有同種電荷。

[30] 如[28]之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及 T 細胞受體複合體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有同種電荷。

[31] 如[28]之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有同種電荷，且抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及 T 細胞受體複合體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有同種電荷。

[32] 如[29]或[31]之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及 T 細胞受體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有異種電荷。

[33] 如[30]或[31]之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有異種電荷。

[34] 如[22]至[33]中任一項之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體複合體結合域為 T 細胞受體結合域。

[35] 如[34]之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體結合域為 CD3 結合域。

[36] 如[32]或[33]之多胜肽聯合體，其中，CH1 區域之胺

基 酸 殘 基 及 CL 區 域 之 胺 基 酸 殘 基 係 從 由 以 下 (a)~(f) 表示之 1 組 或 2 組 以上之胺基酸殘基的群組構成的群組選出，且 CH1 區域之胺基酸殘基與 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有異種電荷；

(a) 為 CH1 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及為 CL 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 180 位之胺基酸殘基、

(b) 為 CH1 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及為 CL 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 131 位之胺基酸殘基

(c) 為 CH1 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及為 CL 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 164 位之胺基酸殘基

(d) 為 CH1 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及為 CL 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 138 位之胺基酸殘基

(e) 為 CH1 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及為 CL 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 123 位之胺基酸殘基

(f) 為 CH1 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 175 位之胺基酸殘基、及為 CL 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 160 位之胺基酸殘基。

[37] 如 [36] 之多胜肽聯合體，更從包含以下 (g) 表示之胺基酸殘基之群組的群組選出；

(g)為 CH1 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 213 位之胺基酸殘基、及為 CL 區域之胺基酸殘基且為 EU 編號 123 位之胺基酸殘基。

[38] 如 [36]或[37]之多胜肽聯合體，其中，前述具異種電荷之胺基酸殘基係選自於以下(X)或(Y)任一群組所含之胺基酸殘基；

(X)麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)；

(Y)離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

[39] 如 [36]至[38]中任一項之多胜肽聯合體，其中，前述具異種電荷之胺基酸殘基係為 CH1 區域之胺基酸殘基且 EU 編號 175 位之胺基酸殘基為 Lys、為 CL 區域之胺基酸殘基且 EU 編號 180 位、131 位及 160 位之胺基酸殘基均為 Glu。

[40] 如 [36]至[38]中任一項之多胜肽聯合體，其中，前述具異種電荷之胺基酸殘基係為 CH1 區域之胺基酸殘基且 EU 編號 147 位及 175 位之胺基酸殘基為 Glu、為 CL 區域之胺基酸殘基且 EU 編號 180 位、131 位及 160 位之胺基酸殘基均為 Lys。

[41] 如 [40]之多胜肽聯合體，其中，為 CH1 區域之胺基酸殘基且 EU 編號 213 位之胺基酸殘基為 Glu，為 CL 區域之胺基酸殘基且 EU 編號 123 位之胺基酸殘基為 Lys。

[42] 如 [1]至[41]中任一項之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域係對於 Fc γ I、Fc γ IIA、Fc γ IIB、Fc γ IIIA 及/或 Fc γ IIIB 任一 Fc γ 受體之結合活性降低的 Fc 區域。

[43] 如 [1]至[42]中任一項之多胜肽聯合體，其中，該 Fc

區域係構成序列編號：23 記載之 Fc 區域、序列編號：24 記載之 Fc 區域、序列編號：25 記載之 Fc 區域、或序列編號：26 記載之 Fc 區域之胺基酸經過突變之 Fc 區域。

[44] 如 [43] 之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域係構成 Fc 區域之胺基酸當中依照 EU 編號指定的下列任一胺基酸；

118 位至 260 位之胺基酸序列為序列編號：24 記載之序列、261 位至 447 位之胺基酸序列為序列編號：26 記載之序列。

[45] 如 [43] 之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域係構成 Fc 區域之胺基酸之中依照 EU 編號指定的下列任一胺基酸經過突變；

220 位、226 位、229 位、231 位、232 位、233 位、234 位、235 位、236 位、237 位、238 位、239 位、240 位、264 位、265 位、266 位、267 位、269 位、270 位、295 位、296 位、297 位、298 位、299 位、300 位、325 位、327 位、328 位、329 位、330 位、331 位、332 位。

[46] 如 [45] 之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域係構成序列編號：23 記載之 Fc 區域之胺基酸經過突變之 Fc 區域。

[47] 如 [46] 之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域係構成 Fc 區域之胺基酸之中依照 EU 編號指定之下列任一胺基酸取代為對應之 IgG2 或 IgG4 中的其 EU 編號對應的胺基酸；

233 位、234 位、235 位、236 位、237 位、327 位、330 位、331 位。

[48] 如 [46] 之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域係構成 Fc 區域之胺基酸之中依照 EU 編號指定之下列任一胺基酸經

過突變；

234 位、235 位、297 位。

[49] 如 [48] 之多胜肽聯合體，其中，234 位之胺基酸突變為丙胺酸、235 位之胺基酸突變為丙胺酸、及 / 或 297 位之胺基酸突變為丙胺酸。

[50] 如 [43] 至 [49] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，構成 Fc 區域之二個多胜肽序列彼此具有不同的序列。

[51] 如 [1] 至 [50] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，構成 Fc 區域之二個多胜肽的其中之一之多胜肽的胺基酸殘基當中，依照 EU 編號指定之 349 位之胺基酸突變為半胱胺酸、366 位之胺基酸突變為色胺酸，另一多胜肽之胺基酸殘基當中，依照 EU 編號指定的 356 位之胺基酸突變為半胱胺酸、366 位之胺基酸突變為絲胺酸、368 位之胺基酸突變為丙胺酸、407 位之胺基酸突變為纈胺酸。

[52] 如 [1] 至 [50] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，構成 Fc 區域之二個多胜肽其中之一之多胜肽之胺基酸殘基當中，依照 EU 編號指定之 356 位之胺基酸突變為離胺酸，另一多胜肽之胺基酸殘基當中，依照 EU 編號指定之 439 位之胺基酸突變為麩胺酸，且任一者的多胜肽的胺基酸殘基當中，依照 EU 編號指定之 435 位之胺基酸突變為精胺酸。

[53] 如 [51] 或 [52] 之多胜肽聯合體，其中，構成 Fc 區域之二個多胜肽之羧基末端所存在之序列 GK 缺損。

[54] 如 [1] 至 [53] 中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域結合於相同之抗原決定基。

[55] 如[54]之多胜肽聯合體，其中，相同之抗原決定基存在於由序列編號：2記載之胺基酸序列構成之蛋白質中。

[56] 如[54]之多胜肽聯合體，其中，相同之抗原決定基存在於由序列編號：4記載之胺基酸序列構成之蛋白質中。

[57] 如[1]至[53]中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域結合於彼此為不同的抗原決定基。

[58] 如[57]之多胜肽聯合體，其中，不同的抗原決定基存在於由序列編號：2記載之胺基酸序列構成的蛋白質中。

[59] 如[57]之多胜肽聯合體，其中，不同的抗原決定基存在於由序列編號：4記載之胺基酸序列構成的蛋白質中。

[60] 一種聚核苷酸，其係編碼為如[1]至[59]中任一項之多胜肽聯合體。

[61] 一種載體，其係包含如[60]之聚核苷酸。

[62] 一種細胞，其係保持如[61]之載體。

[63] 一種多胜肽聯合體之製造方法，其係包含培養如[62]之細胞並從培養上清液回收多胜肽聯合體的步驟。

[64] 一種細胞傷害誘導治療劑，其包含如[1]至[59]中任一項之多胜肽聯合體當做有效成分。

[65] 如[64]之細胞傷害誘導治療劑，其中，細胞傷害誘導治療劑為癌症治療劑。

[66] 如[65]之細胞傷害誘導治療劑，其中，該癌症為肝癌或肺癌。

[67] 一種癌症之治療或預防方法，其特徵為：對於需要治療的患者投予如[1]至[59]中任一項之多胜肽聯合體。

[68] 如[67]之癌症之治療或預防方法，其中該癌症為肝癌或肺癌。

又，本發明係關於包含本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法所製造之多胜肽聯合體之本發明之方法使用的套組。又，本發明係關於使用本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法所製造之多胜肽聯合體以製造細胞傷害誘導治療劑的用途。又，本發明係關於使用在本發明之方法的本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法所製造之多胜肽聯合體。

【發明之效果】

依照本發明，可以提供一種新的多胜肽聯合體，其維持 BiTE 所帶有的強抗腫瘤活性、不會以癌抗原非依存的誘導細胞激素風暴等的安全性上的優異性質，且血中半衰期長。藉由將本發明之多胜肽聯合體中的抗原結合域進行取代，並含有該多胜肽聯合體當做有效成分的細胞傷害誘導治療劑會以包含癌細胞在內的各種細胞為標靶而帶來細胞傷害，能夠治療或預防各種癌症。對於患者而言可成為不僅有安全性而且身體負擔小、便利性亦高的理想治療。

【實施方式】

【實施發明之形態】

以下定義係為容易理解本說明書中說明的本發明而提供。

抗體

本說明書中，抗體係指天然者或部分或完全合成所製

造之免疫球蛋白。抗體可從其天然存在之血漿或血清等天然資源或產生抗體之融合瘤細胞之培養上清液單離，或可使用基因重組等方法部分或完全合成。抗體例如免疫球蛋白之同種型(isotype)及此等同種型之次類(subclass)為較佳例。人類免疫球蛋白已知有 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgE、IgM9 種類型(同種型)。本發明之抗體在該等同種型之中，可含 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。

製作具有所望結合活性之抗體之方法於該技術領域之人士為公知。以下列舉製作屬於 GPI 固定子(anchor)型受體家族之 GPC3(Int J Cancer. (2003) 103 (4), 455-65) 結合之抗體(抗 GPC3 抗體)之方法。與 GPC3 以外之抗原結合的抗體也可依據下列例示適當製作。

抗 GPC3 抗體可使用公知方法以多株或單株抗體之形式取得。抗 GPC3 抗體，宜製作哺乳動物來源的單株抗體。哺乳動物來源的單株抗體，包含由融合瘤產生者，及以基因工程的方法以含抗體基因之表現載體轉形而得之寄主細胞所產生者等。

單株抗體產生融合瘤，可使用公知技術依例如以下方式製作。亦即，使用 GPC3 蛋白質當做感作抗原，依通常之免疫方法將哺乳動物免疫。將獲得之免疫細胞以通常的細胞融合法與公知之母細胞融合。其次依照通常之篩選法，篩選單株抗體產生細胞，可選擇產生抗 GPC3 抗體之融合瘤。

具體而言，單株抗體之製作係依例如以下所示方式實

行。首先，藉由表現在 RefSeq 註冊編號 NM_001164617.1(序列編號：1)揭示其核苷酸序列之 GPC3 基因，取得當做抗體取得之感作抗原使用的以 RefSeq 註冊編號 NP_001158089.1(序列編號：2)表示的 GPC3 蛋白質。亦即，藉由將編碼為 GPC3 之基因序列插入公知之表現載體，而將適當的寄主細胞轉形。從該寄主細胞中或培養上清液中以公知方法精製所望之人類 GPC3 蛋白質。為了從培養上清液中取得可溶型之 GPC3，例如可使以序列編號：2 表示之 GPC3 多胜肽序列當中，表現為了使 GPC3 留在細胞膜上使用之相當於 GPI 固定子序列之構成疏水性區之 564-580 胺基酸係缺失的蛋白質，以代替表現以序列編號：2 表示之 GPC3 蛋白質。又，經精製的天然 GPC3 蛋白質也同樣可當做感作抗原使用。

對於哺乳動物免疫時使用之感作抗原，可使用該精製 GPC3 蛋白質。GPC3 之部分胜肽也可當做感作抗原使用。於此時，該部分胜肽可利用人類 GPC3 之胺基酸序列以化學合成取得。又，也可將 GPC3 基因之一部分納入表現載體使表現而取得。再者，使用蛋白質分解酵素將 GPC3 蛋白質分解也可取得，但是當做部分胜肽使用之 GPC3 胜肽之區域及大小不限於特別之態樣。較佳區域可從序列編號：2 之胺基酸序列當中相當於 564-580 胺基酸之胺基酸序列選擇任意序列。構成當做感作抗原之胜肽的胺基酸的數目至少為 5 以上，例如 6 以上或 7 以上較佳。更具體而言，可將 8～50、較佳為 10～30 個殘基之胜肽當做感作抗原使用。

又，將 GPC3 蛋白質之所望之部分多胜肽或胜肽與不同的多胜肽融合成的融合蛋白質可利用為感作抗原。為了製造當做感作抗原使用之融合蛋白質，例如可適當利用抗體之 Fc 片段或胜肽標籤(tag)等。表現融合蛋白質之載體，可藉由將編碼為所望之二種或更多種多胜肽片段之基因於框架內(inframe)融合，並將該融合基因以前述方式插入表現載體而製作。融合蛋白質之製作方法記載於 Molecular Cloning 2nd ed. (Sambrook, J et al., Molecular Cloning 2nd ed., 9.47-9.58(1989)Cold Spring Harbor Lab. press)。可當做感作抗原使用之 GPC3 之取得方法及使用其之免疫方法，在 W02003/000883、W02004/022754、W02006/006693 等亦有具體記載。

以該感作抗原免疫之哺乳動物不限於特定動物，宜考慮與細胞融合使用之母細胞之間的適合性選擇。一般的嚙齒類動物，例如小鼠、大鼠、倉鼠、或兔、猴等較佳。

依公知方法將上述動物以感作抗原免疫。例如就一般方法而言，係藉由將感作抗原對於哺乳動物之腹腔內或皮下注射而投予以實施免疫。具體而言，將以 PBS(Phosphate-Buffered Saline)或生理食鹽水等以適當稀釋倍率稀釋過的感作抗原，視所望與通常的佐劑例如佛洛依德完全佐劑混合並乳化後，將該感作抗原對於哺乳動物每 4 至 21 日投予數次。又，感作抗原免疫時可以使用適當擔體。尤其使用小分子量之部分胜肽當做感作抗原時，有時以結合有白蛋白、血藍蛋白(keyhole limpet

hemocyanin)等擔體蛋白質的該感作抗原胜肽進行免疫為理想。

又，產生所望抗體之融合瘤可使用 DNA 免疫並依以下方式製作。DNA 免疫，係指在免疫動物中投予以能表現編碼為抗原蛋白質之基因的態樣構建之載體 DNA 的該免疫動物中，藉由感作抗原在該免疫動物之活體內表現，能提供免疫刺激之免疫方法。比起對於免疫動物投予蛋白質抗原之一般免疫方法，DNA 免疫可期待如下的優越性。

- 可維持如 GPC3 之膜蛋白質之構造而提供免疫刺激
- 無需精製免疫抗原

為了以 DNA 免疫獲得本發明之單株抗體，首先將表現 GPC3 蛋白質之 DNA 對於免疫動物投予。編碼為 GPC3 之 DNA 可利用 PCR 等公知方法合成。將獲得之 DNA 插入適當表現載體並對於免疫動物投予。表現載體例如可以理想地利用 pcDNA3.1 等市售表現載體。將載體對於活體投予之方法，可使用一般使用之方法。例如，可藉由將吸附有表現載體之金粒子以基因槍導入免疫動物個體之細胞內而實施 DNA 免疫。再者，認識 GPC3 之抗體之製作也可使用國際公開 W02003/104453 記載之方法製作。

以此方式將哺乳動物免疫，確認血清中與 GPC3 結合之抗體力價上升後，從哺乳動物採取免疫細胞以供細胞融合。較佳之免疫細胞尤佳為使用脾細胞。

與前述免疫細胞融合之細胞，可使用哺乳動物之骨髓瘤細胞。骨髓瘤細胞宜具有為了篩選的適當選擇標記。選

擇標記，係指能於特定培養條件下生存之(或無法生存)之形質。選擇標記中，次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase)缺損(以下簡稱為 HGPRT 缺損)、或胸腺嘧啶激酶缺損(以下簡稱為 TK 缺損)等為公知。具 HGPRT 或 TK 缺損之細胞，具有次黃嘌呤-胺基喋呤-胸腺嘧啶感受性(以下簡稱為 HAT 感受性)。HAT 感受性之細胞在 HAT 選擇培養基中無法合成 DNA 會死滅，但若與正常細胞融合則會利用正常細胞之補救合成路徑(salvage pathway)繼續合成 DNA，故能在 HAT 選擇培養基中增殖。

HGPRT 缺損或 TK 缺損之細胞，各可以含 6 硫鳥嘌呤(thioguanine)、8 氮雜鳥嘌呤(以下簡稱為 8AG)、或 5' 溴去氧尿嘧啶之培養基選擇。於 DNA 中納入該等嘧啶類似物之正常細胞會死滅。另一方面，未納入該等嘧啶類似物之該等酵素缺損之細胞，能在選擇培養基中生存。其他稱為 G418 耐受性之選擇標記，係利用新黴素耐受性基因提供對於 2-去氧鏈黴胺(streptomycin)系抗生物質(慶大黴素(gentamycin 類似體)之耐受性。對細胞融合為理想的各種骨髓瘤細胞為公知。

如此的骨髓瘤細胞例如可理想地使用 P3(P3x63Ag8.653)(J. Immunol.(1979)123 (4), 1548-1550) 、 P3x63Ag8U.1(Current Topics in Microbiology and Immunology(1978)81, 1-7)、NS-1(C. Eur. J. Immunol.(1976)6 (7), 511-519) 、

MPC-11(Cell(1976)8 (3), 405-415) 、
 SP2/0(Nature(1978)276 (5685), 269-270) 、 FO(J.
 Immunol. Methods(1980)35 (1-2), 1-21) 、
 S194/5.XX0.BU.1(J. Exp. Med.(1978)148 (1),
 313-323)、R210(Nature(1979)277 (5692), 131-133)等。

基本上可依照公知方法例如 Keller 與 Milstein 等人的方法(Methods Enzymol.(1981)73, 3-46)等，實施前述免疫細胞與骨髓瘤細胞之細胞融合。

更具體而言，可於例如細胞融合促進劑存在下於通常的營養培養液中實施前述細胞融合。融合促進劑可使用例如聚乙二醇(PEG)、仙台病毒(HVJ)等，為更提高融合效率，可視所望添加使用二甲基亞碲等輔助劑。

免疫細胞與骨髓瘤細胞之使用比例可任意設定。例如相對於骨髓瘤細胞將免疫細胞定為 1 至 10 倍較佳。前述細胞融合使用之培養液，例如適於前述骨髓瘤細胞株增殖之 RPMI1640 培養液、MEM 培養液、此外，可使用該種細胞培養使用之通常之培養液，再者，可理想地添加胎牛血清(FCS)等血清補液。

細胞融合係將前述免疫細胞與骨髓瘤細胞以既定量於前述培養液中充分混合，並且將預先加溫至約 37°C 之 PEG 溶液(例如平均分子量 1000 至 6000 左右)以通常 30 至 60%(w/v)之濃度添加。藉由將混合液緩慢混合，會形成所望之融合細胞(融合瘤)。接著，逐次添加上述列舉之適當培養液，反複實施離心並去除上清液之操作，可將對於融

合瘤之生長不利的細胞融合劑等除去。

以如此方式獲得之融合瘤，可藉由於通常之選擇培養液，例如 HAT 培養液(含次黃嘌呤、胺基喋呤、胸腺嘧啶之培養液)培養而選擇。為了使所望之融合瘤以外之細胞(非融合細胞)死滅，可使繼續進行使用上述 HAT 培養液之培養足夠時間(通常該足夠時間為數日至數週)。其次，以通常之極限稀釋法，實施產生所望抗體之融合瘤之篩選及單一選殖。

以如此方式獲得之融合瘤，可利用因應細胞融合使用之骨髓瘤具有之選擇標記的選擇培養液而選擇。例如具 HGPRT 或 TK 缺損之細胞，可藉由以 HAT 培養液(含次黃嘌呤、胺基喋呤及胸腺嘧啶之培養液)培養而選擇。亦即，當使用 HAT 感受性骨髓瘤細胞於細胞融合時，可在 HAT 培養液中將成功與正常細胞細胞融合的細胞選擇性增殖。為了使所望融合瘤以外之細胞(非融合細胞)死滅，可以繼續使用上述 HAT 培養液之培養足夠時間。具體而言，一般可藉由數日至數週的培養而選擇所望之融合瘤。其次可利用通常之極限稀釋法，實施產生所望之抗體的融合瘤的篩選及單一選殖。

所望之抗體之篩選及單一選殖，可依照基於公知抗原抗體反應之篩選方法而理想地實施。例如，結合於 GPC3 之單株抗體可以結合於在細胞表面表現的 GPC3。如此的單株抗體例如可藉由 FACS(fluorescence activated cell sorting)篩選。FACS 係將與螢光抗體接觸之細胞以雷射光

解析，並測定各個細胞發出之螢光，而可測定抗體對於細胞表面之結合的系統。

為了利用 FACS 篩選產生本發明之單株抗體的融合瘤，首先要製備表現 GPC3 之細胞。用於篩選之較佳細胞為使 GPC3 強制表現之哺乳動物細胞。藉由以當做寄主細胞之未經轉形之哺乳動物細胞為對照，可以選擇性檢測抗體對於細胞表面之 GPC3 的結合活性。亦即，藉由選擇產生未結合於寄主細胞而結合於 GPC3 強制表現細胞的抗體的融合瘤，可以取得產生 GPC3 單株抗體之融合瘤。

或抗體對於經固定化之 GPC3 表現細胞的結合活性可依據 ELISA 之原理評價。例如，將 GPC3 表現細胞固定化在 ELISA 平板的井。使融合瘤之培養上清液接觸井內之固定化細胞，以檢測結合於固定化細胞的抗體。單株抗體為小鼠來源時，與細胞結合之抗體可利用抗小鼠免疫球蛋白抗體檢測。該等篩選所選擇之產生具有對於抗原之結合能力的所望抗體的融合瘤，可利用極限稀釋法等選殖。

以此方式製作之產生單株抗體之融合瘤可在通常之培養液中繼代培養。而且，該融合瘤可於液態氮中長期保存。

將該融合瘤依照通常方法培養，可從其培養上清液取得所望之單株抗體。或可將融合瘤對於與其具適合性之哺乳動物投予使增殖，並從其腹水獲取單株抗體。前者之方法對於獲得高純度抗體為適當。

從該融合瘤等抗體產生細胞選殖的抗體基因所編碼之抗體也可適當利用。藉由將經選殖的抗體基因納入適當載

體並導入寄主，可以表現該基因所編碼的抗體。抗體基因之單離與對於載體之導入、及用於將寄主細胞轉形之方法，例如已由 Vandamme 等人確立 (Eur. J. Biochem. (1990)192 (3), 767-775)。下列所述重組抗體之製造方法亦為公知。

例如，可從產生抗 GPC3 抗體之融合瘤細胞取得編碼為抗 GPC3 抗體之可變區(V 區)之 cDNA。為此，通常首先從融合瘤萃取全體 RNA。用於從細胞萃取 mRNA 之方法，例如可利用如下方法。

— 胍(guanidine)超離心法(Biochemistry (1979) 18 (24), 5294-5299)

— AGPC 法(Anal. Biochem. (1987) 162 (1), 156-159)

萃取到的 mRNA 可使用 mRNA Purification Kit (GE Health care bioscience 製)等精製。或如 QuickPrep mRNA Purification Kit (GE Health care bioscience 製)等，也有用於從細胞直接萃取全體 mRNA 之市售套組。使用如此的套組，可從融合瘤取得 mRNA。從獲得之 mRNA 使用反轉錄酵素可合成編碼為抗體 V 區之 cDNA。cDNA 可利用 AMV Reverse Transcriptase First-strand cDNA Synthesis Kit(生化學工業社製)等合成。又，為了 cDNA 之合成及放大，可適當利用 SMART RACE cDNA 放大套組(Clontech 製)及使用 PCR 之 5' -RACE 法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) 85 (23), 8998-9002、Nucleic Acids Res. (1989) 17 (8), 2919-2932)。又，在如此的 cDNA 合成之過程中，

可在 cDNA 的兩末端導入後述適當的限制酶部位。

從獲得之 PCR 產物精製目的之 cDNA 片段，其次與載體 DNA 連結。以如此方式製作重組載體，並導入大腸菌等，選擇群落(colony)後，從形成有該群落之大腸菌製備所望之重組載體。並且針對該重組載體是否具有目的 cDNA 之鹼基序列，可使用公知之方法例如二去氧核苷酸鏈終結法等確認。

為了取得編碼為可變區之基因，利用使用可變區基因放大用引子之 5' -RACE 法係屬簡便。首先，以從融合瘤細胞萃取之 RNA 當做模板，合成 cDNA，獲得 5' -RACE cDNA 庫。5' -RACE cDNA 庫之合成可適當使用 SMART RACE cDNA 放大套組等市售套組。

以獲得之 5' -RACE cDNA 庫為模板，以 PCR 法將抗體基因放大。依據公知之抗體基因序列可設計小鼠抗體基因放大用之引子。此等引子為依免疫球蛋白之次類而各不相同的鹼基序列。因此，次類理想為預先使用 Iso Strip 小鼠單株抗體同種型決定套組(Roche diagnostics)等市售套組決定。

具體而言，當目的為取得例如編碼為小鼠 IgG 之基因時，可利用將編碼為當做重鏈之 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2a$ 、 $\gamma 2b$ 、 $\gamma 3$ 、當做輕鏈之 κ 鏈與 λ 鏈的基因放大的引子。為了放大 IgG 之可變區基因，一般係利用於 3' 側之引子黏合有相當於接近可變區之恆定區之部分的引子。另一方面，5' 側之引子係利用 5' RACE cDNA 庫製作套組所附帶的引子。

利用如此放大之 PCR 產物，可再構成由重鏈與輕鏈之組合而成的免疫球蛋白。以再構成之免疫球蛋白對於 GPC3 之結合活性當做指標，可以篩選所望之抗體。例如目的為取得對抗 GPC3 之抗體時，抗體對於 GPC3 之結合，更佳為專一性的。與 GPC3 結合之抗體可藉由例如以下方式篩選；

- (1)使從融合瘤獲得之含有由 cDNA 編碼之 V 區的抗體接觸 GPC3 表現細胞之步驟、
- (2)檢測 GPC3 表現細胞與抗體之間的結合之步驟、及
- (3)選擇與 GPC3 表現細胞結合之抗體之步驟。

檢測抗體與 GPC3 表現細胞之間的結合的方法為公知。具體而言，可利用先前所述 FACS 等方法，檢測抗體與 GPC3 表現細胞間之結合。為了評價抗體之結合活性，可適當利用 GPC3 表現細胞之固定標本。

以結合活性為指標之抗體之篩選方法，亦宜使用利用噬菌體載體之淘選法。從多株抗體表現細胞群，以重鏈與輕鏈之次類之庫的形式取得抗體基因時，利用噬菌體載體之篩選方法係屬有利。編碼為重鏈與輕鏈之可變區之基因，可藉由以適當連結子序列連結，而形成單鏈 Fv(scFv)。藉由將編碼為 scFv 之基因插入噬菌體載體，可取得於表面表現 scFv 之噬菌體。該噬菌體與所望抗原接觸後，藉由回收與抗原結合之噬菌體，可以回收編碼為具目的結合活性之 scFv 的 DNA。該操作可視需要反複實施，而將具所望之結合活性之 scFv 濃縮。

獲得編碼為目的抗 GPC3 抗體之 V 區的 cDNA 後，將該

cDNA 以認識插入於該 cDNA 之兩末端的限制酶部位之限制酶消化者。較佳之限制酶，係認識構成抗體基因之鹼基序列中出現頻度低之鹼基序列並消化。再者，為了將 1 副本的消化片段以正確方向插入載體，宜插入提供附著末端之限制酶。藉由將以上述方式經消化之編碼為抗 GPC3 抗體之 V 區的 cDNA 插入適當表現載體，可以取得抗體表現載體。此時，若將編碼為抗體恆定區 (C 區) 之基因、與編碼為前述 V 區之基因於框架內融合，則可取得嵌合抗體。在此，嵌合抗體係指恆定區與可變區之來源不同者。因此，除了小鼠—人類等的異種嵌合抗體，人類—人類同種嵌合抗體也包含在本發明之嵌合抗體。藉由預先在具恆定區之表現載體插入前述 V 區基因，可以構建嵌合抗體表現載體。具體而言，可於例如保持有編碼為所望之抗體恆定區 (C 區) 之 DNA 的表現載體之 5' 側，適當配置消化前述 V 區基因之限制酶之限制酶認識序列。藉由將以相同組合之限制酶消化過的兩者於框架內融合，可以構建嵌合抗體表現載體。

為了製造抗 GPC3 單株抗體，可以將抗體基因於由表現控制區控制之下表現的方式納入表現載體。用於表現抗體之表現控制區，例如包含增強子或啟動子。又，也可在胺基末端附加適當的信號序列，以使表現的抗體分泌到細胞外。後面記載之實施例係使用具胺基酸序列 MGWSCIILFLVATATGVHS (序列編號：72) 之胜肽當做信號序列，但是也可加成其他適當的信號序列。將表現的多胜肽在上述序列之羧基末端部分切斷，切斷的多胜肽可以成熟

多胜肽之形式分泌到細胞外。其次，藉由以該表現載體將適當的寄主細胞轉形，可以取得表現編碼為抗 GPC3 抗體之 DNA 的重組細胞。

為了表現抗體基因，可將編碼為抗體重鏈(H 鏈)及輕鏈(L 鏈)之 DNA 納入分別的表現載體。藉由納入有 H 鏈與 L 鏈之載體，對於相同寄主細胞同時轉形(co-transfect)，可以表現具備 H 鏈與 L 鏈之抗體分子。或可將編碼為 H 鏈及 L 鏈之 DNA 納入單一的表現載體，而將寄主細胞轉形（參照國際公開 WO 94/11523）。

用以藉由將經單離之抗體基因導入適當寄主而製作抗體之寄主細胞與表現載體的多數組合為公知。該等表現系均可應用於單離本發明之抗原結合域或 CD3 結合域。真核細胞當做寄主細胞時，可適當使用動物細胞、植物細胞、或真菌細胞。具體而言，動物細胞例如以下細胞。

(1)哺乳類細胞、：CHO、COS、骨髓瘤、BHK(baby hamster kidney)、Hela、Vero 等

(2)兩生類細胞：非洲爪蟾卵母細胞等

(3)昆蟲細胞：sf9、sf21、Tn5 等

或植物細胞以煙草(*Nicotiana tabacum*)等煙草(*Nicotiana*)屬來源之細胞而得之抗體基因表現系為公知。植物細胞之轉形可以適當利用癒傷組織培養之細胞。

又，真菌細胞可以利用如下的細胞。

酵母：啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)等糖化酵母(*Saccharomyces*)屬、甲醇同化酵母(*Pichia pastoris*)等

Pichia 屬

絲狀菌：黑麴黴 (*Aspergillus niger*) 等麴菌 (*Aspergillus*) 屬

又，利用原核細胞之抗體基因之表現系亦為公知。例如使用細菌細胞時，可以適當利用大腸菌 (*E. coli*)、枯草菌等細菌細胞。於該等細胞中，以轉形導入含有目的抗體基因之表現載體。藉由將經轉形之細胞於體外培養，可從該轉形細胞之培養物獲取所望之抗體。

重組抗體之產生，除了上述寄主細胞，尚可利用基因轉殖動物。亦即，從導入有編碼為所望抗體之基因的動物，可獲取該抗體。例如，抗體基因藉由於框架內插入編碼為乳汁中固有產生之蛋白質的基因內部，可以構建融合基因。乳汁中分泌之蛋白質，例如可利用山羊 β 酪蛋白等。將含有插入有抗體基因之融合基因的 DNA 片段注入山羊胚，並將該經注入之胚胎導入雌山羊體內。從接受胚胎的山羊產生之基因轉殖山羊（或其子孫）所產之乳汁，可以取得所望之抗體與乳汁蛋白質之融合蛋白質。又，為了增加從基因轉殖山羊產生之含所望之抗體之乳汁量，可對於基因轉殖山羊投予荷爾蒙 (Bio/Technology (1994), 12 (7), 699-702)。

本說明書記載之多胜肽聯合體對於人類投予時，該聯合體中之抗原結合域，可適當採用以降低對於人類之異種抗原性等為目的經人為改變過的基因重組型抗體來源的抗原結合域。基因重組型抗體例如包含人類化 (Humanized)

抗體等。該等改變抗體可使用公知方法適當製造。

本說明書記載之用於製作多胜肽聯合體中的抗原結合域所使用之抗體之可變區，通常由插入在 4 個框架區 (FR) 的 3 個互補性決定區 (complementarity-determining region ; CDR) 構成。CDR 係實質上決定抗體之結合專一性之區域。CDR 之胺基酸序列富有多樣性。另一方面，構成 FR 之胺基酸序列，即使在具有不同之結合專一性的抗體之間也常會顯示高度同一性。所以，一般可利用 CDR 之移植而將某抗體之結合專一性移植到其他抗體。

人類化抗體也稱為再構成 (reshaped) 人類抗體。具體而言，將人類以外之動物例如小鼠抗體之 CDR 移植到人類抗體而成之人類化抗體等為公知。為了獲得人類化抗體之一般基因重組方法亦為已知。具體而言，就將小鼠抗體之 CDR 移植到人類 FR 的方法而言，例如 Overlap Extension PCR 為公知。於 Overlap Extension PCR，係對於用於合成人類抗體 FR 之引子中，附加編碼為待移植之小鼠抗體之 CDR 的鹼基序列。引子各準備 4 個 FR。一般將小鼠 CDR 移植到人類 FR 時，選擇與小鼠之 FR 具高同一性之人類 FR 時，對於維持 CDR 機能為有利。亦即，一般較佳為利用與相鄰於待移植之小鼠 CDR 的 FR 之胺基酸序列為高同一性之胺基酸序列構成之人類 FR。

又，連結之鹼基序列可設計為彼此於框架內連接。藉由各引子，可個別合成人類 FR。其結果，可獲得於各 FR 附加有編碼為小鼠 CDR 之 DNA 的產物。各產物之編碼為小

鼠 CDR 之鹼基序列，可設計成彼此重疊。接著，使以人類抗體基因為模板而合成之產物之重疊的 CDR 部分彼此黏合，進行互補鏈合成反應。利用該反應，人類 FR 經由小鼠 CDR 之序列而連結。

最後，將連結有 3 個 CDR 與 4 個 FR 之 V 區基因，利用黏合在其 5' 末端與 3' 末端並附加有適當之限制酶認識序列的引子，將其全長放大。藉由將以上述方式獲得之 DNA 與編碼為人類抗體 C 區之 DNA 以於框架內融合之方式插入於表現載體中，藉此可製作人類型抗體表現用載體。將該重組載體導入寄主並樹立重組細胞後，培養該重組細胞，使編碼為該人類化抗體之 DNA 表現，藉此使該培養細胞之培養物中產生該人類化抗體（參照歐洲專利公開 EP 239400、國際公開 W01996/002576）。

以定性或定量測定以上述方式製作之人類化抗體對於抗原之結合活性並進行評價，可以理想地選擇當經由 CDR 連結時該 CDR 會形成良好之抗原結合部位的人類抗體之 FR。視需要，可以將 FR 之胺基酸殘基取代，使再構成人類抗體之 CDR 能形成適當的抗原結合部位。例如，應用將小鼠 CDR 移植到人類 FR 時使用之 PCR 法，可對於 FR 導入胺基酸序列之突變。具體而言，可對於與 FR 黏合之引子導入部分的鹼基序列的突變。以如此的引子合成之 FR，導入有鹼基序列之突變。以上述方法測定並評價將胺基酸取代過的突變型抗體對於抗原之結合活性，可以選擇具所望性質之突變 FR 序列（Sato, K. et al., Cancer Res, 1993, 53,

851-856)。

又，可以將具有人類抗體基因所有曲目的基因轉殖動物(參照國際公開 W01993/012227、W01992/003918、W01994/002602、W01994/025585、W01996/034096、W01996/033735)當做免疫動物，以 DNA 免疫取得所望之人類抗體。

再者，使用人類抗體庫以淘選取得人類抗體之技術亦為已知。例如，將人類抗體之 V 區以單鏈抗體(scFv)之形式，以噬菌體呈現法使表現在噬菌體之表面。可以選擇表現與抗原結合之 scFv 的噬菌體。藉由解析選擇之噬菌體之基因，可以決定編碼為與抗原結合之人類抗體之 V 區的 DNA 序列。決定與抗原結合之 scFv 之 DNA 序列後，將該 V 區序列與所望之人類抗體 C 區之序列於框架內融合後插入適當表現載體，可以製作表現載體。將該表現載體導入上述列舉之適當表現細胞中，並使編碼為該人類抗體之基因表現，可取得該人類抗體。該等方法已為公知(參照國際公開 W01992/001047、W01992/020791、W01993/006213、W01993/011236、W01993/019172、W01995/001438、W01995/015388)。

抗原結合域

本說明書中，「抗原結合域」係指含抗原之一部分或全部專一性結合且互補之區而成之抗體之部分。抗原之分子量大時，抗體可以僅結合於抗原之特定部分。該特定部分稱為抗原決定基。抗原結合域可由一或多數抗體之可變

域提供。較佳為，抗原結合域包含抗體輕鏈可變區(VL)與抗體重鏈可變區(VH)。如此之抗原結合域，例如「scFv(single chain Fv)」、「單鏈抗體(single chain antibody)」、「Fv」、「scFv2(single chain Fv 2)」、「Fab」或「F(ab')₂」等。

本發明之多胜肽聯合體中的抗原結合域，可以與相同之抗原決定基結合。在此，相同之抗原決定基，可存在於由序列編號：2 或序列編號：4 記載之胺基酸序列構成之蛋白質中。或本發明之多胜肽聯合體中的抗原結合域，可以與互不相同的抗原決定基結合。在此，不同之抗原決定基可存在於由序列編號：2 或序列編號：4 記載之胺基酸序列構成的蛋白質中。

專一性

專一性係指專一性結合之分子中其中之一的分子對於其一或多數之結合對象的分子以外之分子未顯示任何顯著結合之狀態。又，抗原結合域也可用在對於某抗原中所含之多數抗原決定基當中特定抗原決定基為專一性的情形。又，抗原結合域所結合之抗原決定基包含在多數不同抗原時，具該抗原結合域之多胜肽聯合體可以與含該抗原決定基之各種抗原結合。

抗原

本說明書中，抗原不特別限定，可為不含 CD3 的任意抗原。抗原，例如受體、癌抗原、MHC 抗原、分化抗原等。受體例如：造血因子受體家族、細胞激素受體家族、酪胺酸

激酶型受體家族、絲胺酸/蘇胺酸激酶型受體家族、TNF 受體家族、G 蛋白質共軛型受體家族、GPI 固定子型受體家族、酪胺酸磷酸解酶型受體家族、黏著因子家族、荷爾蒙受體家族等受體家族所屬之受體等。該等受體家族所屬之受體及其特徵，記載於多數文獻，例如 Cooke BA., King RJB., van der Molen HJ. ed. *New Comprehensive Biochemistry Vol.18B "Hormones and their Actions Part II"* pp.1-46 (1988) Elsevier Science Publishers BV.、或宮坂昌之監修，細胞工程別冊手冊系列「黏著因子手冊」(1994)(秀潤社，東京，日本)等的評論，此外 Patthy(Cell (1990) 61 (1), 13-14)、Ullrich 等(Cell (1990) 61 (2), 203-212)、Massague(e 上面有尖重音記號)(Cell (1992) 69 (6), 1067-1070)、Miyajima 等(Annu. Rev. Immunol. (1992) 10, 295-331)、Taga 等(FASEB J. (1992) 6, 3387-3396)、Fantl 等(Annu. Rev. Biochem. (1993), 62, 453-481)、Smith 等(Cell (1994) 76 (6) 959-962)、Flower DR. Biochim. Biophys. Acta, Flower(Biochim. Biophys. Acta (1999) 1422 (3) 207-234 等。

上述受體家族所屬之具體受體，例如人類或小鼠紅血球生成素(EPO)受體(Blood (1990) 76 (1), 31-35、Cell (1989) 57 (2), 277-285)、人類或小鼠顆粒球群落刺激因子(G-CSF)受體(Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (1990) 87 (22), 8702-8706、mG-CSFR、Cell (1990) 61 (2), 341-350)、人類或小鼠血小板生成素(TPO)受體(Proc

Natl Acad Sci U S A. (1992) 89 (12), 5640-5644、EMBO J. (1993) 12(7), 2645-53)、人類或小鼠胰島素受體 (Nature (1985) 313 (6005), 756-761)、人類或小鼠 Flt-3 配體受體 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (1994) 91 (2), 459-463)、人類或小鼠血小板來源增殖因子 (PDGF) 受體 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (1988) 85 (10) 3435-3439)、人類或小鼠干擾素 (IFN)- α 、 β 受體 (Cell (1990) 60 (2), 225-234. 及 Cell (1994) 77 (3), 391-400)、人類或小鼠瘦體素 (leptin) 受體、人類或小鼠成長荷爾蒙 (GH) 受體、人類或小鼠介白素 (IL)-10 受體、人類或小鼠胰島素狀增殖因子 (IGF)-I 受體、人類或小鼠白血病抑制因子 (LIF) 受體、人類或小鼠毛狀體神經營養因子 (CNTF) 受體等。

癌抗原係伴隨細胞之惡化而表現之抗原，也稱為腫瘤專一性抗原。又，細胞癌化時，出現在細胞表面或蛋白質分子上的異常糖鏈也是癌抗原，也稱為癌糖鏈抗原。癌抗原例如以當做上述受體之 GPI 固定子型受體家族所屬之肝癌在內的數種癌症中有表現 GPC3 (Int J Cancer. (2003) 103 (4), 455-65)、在包含肺癌在內的多數癌症中表現 EpCAM (Proc Natl Acad Sci U S A. (1989) 86 (1), 27-31) (其聚核苷酸序列記載於 RefSeq 註冊編號 NM_002354.2 (序列編號：3)，多胜肽序列記載於 RefSeq 註冊編號 NP_002345.2 (序列編號：4)。)、EGFR、CA19-9、CA15-3、系列 SSEA-1 (SLX) 等。

MHC 抗原主要分類為 MHC class I 抗原與 MHC class II 抗原，MHC class I 抗原包含 HLA-A、-B、-C、-E、-F、-G、-H，MHC class II 抗原包含 HLA-DR、-DQ、-DP。

分化抗原可包含 CD1、CD2、CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、CD13、CD14、CD15s、CD16、CD18、CD19、CD20、CD21、CD23、CD25、CD28、CD29、CD30、CD32、CD33、CD34、CD35、CD38、CD40、CD41a、CD41b、CD42a、CD42b、CD43、CD44、CD45、CD45RO、CD48、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD51、CD54、CD55、CD56、CD57、CD58、CD61、CD62E、CD62L、CD62P、CD64、CD69、CD71、CD73、CD95、CD102、CD106、CD122、CD126、CDw130。

抗原決定基

意指抗原中所存在之抗原決定基的抗原決定基，意指本說明書揭示之多胜肽聯合體中之抗原結合域所結合之抗原上之部位。是以，例如抗原決定基可由其構造定義。又，也可利用認識該抗原決定基之多胜肽聯合體中對於抗原之結合活性將該抗原決定基定義。抗原為胜肽或多胜肽時，可以利用構成抗原決定基之胺基酸殘基指定抗原決定基。又，抗原決定基為糖鏈時，也可依特定之糖鏈構造指定抗原決定基。

直線狀抗原決定基，係含有認識胺基酸一次序列之抗原決定基的抗原決定基。直線狀抗原決定基典型上在固有序列含至少 3 個，且最普通為至少 5 個，例如約 8～約 10

個、6~20 個胺基酸。

立體構造抗原決定基係與直線狀抗原決定基為對照，為含抗原決定基之胺基酸之一次序列並非所認識之抗原決定基之單一規定成分之抗原決定基(例如，胺基酸之一次序列不一定由規定抗原決定基之抗體所認識之抗原決定基)。立體構造抗原決定基可能包含相對於直線狀抗原決定基為增大之數目之胺基酸。關於立體構造抗原決定基之認識，抗體係認識胜肽或蛋白質之三維構造。例如當蛋白質分子折疊並形成三維構造時，形成立體構造抗原決定基之某胺基酸及/或多胜肽主鏈成為並排，且抗體可認識抗原決定基。決定抗原決定基之立體構造之方法，例如包含 X 射線結晶學、二維核磁共振分光學及部位專一性旋轉標定及電磁場磁性共振分光學，但不限於該等。例如，參照 Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology (1996)、第 66 卷、Morris(編)。

以下例示確認含對於 GPC3 之抗原結合域之待驗多胜肽聯合體對於抗原決定基之結合的確認方法，但是確認含對於 GPC3 以外之抗原的抗原結合域的待驗多胜肽聯合體其對於抗原決定基之結合之確認方法，也可依據下列例示適當實施。

例如含對於 GPC3 之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體，其認識 GPC3 分子中存在之線狀抗原決定基之情事，例如可以如下方式確認。為了上述目的，合成由構成 GPC3 之細胞外域的胺基酸序列構成線狀胜肽。該胜肽可以化學合

成。或，利用 GPC3 之 cDNA 中編碼為相當於細胞外域的胺基酸序列的區域，以基因工程的方法獲得。其次，評價由構成細胞外域之胺基酸序列構成的線狀胜肽、及含對於 GPC3 之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體之間的結合活性。例如，可藉由經固定化之線狀胜肽為抗原之 ELISA，而評價該多胜肽聯合體對於該胜肽之結合活性。或，基於該多胜肽聯合體對於 GPC3 表現細胞之結合中，由於線狀胜肽所致之抑制的水平，解明對於線狀胜肽之結合活性。由於該等試驗，可以解明該多胜肽聯合體對於線狀胜肽之結合活性。

又，含對於 GPC3 之抗原結合域的驗多胜肽聯合體認識立體構造抗原決定基之情事，可如以下方式確認。為了上述目的，製備表現 GPC3 之細胞。例如含對於 GPC3 之抗原結合域之待驗多胜肽聯合體當接觸 GPC3 表現細胞時會強力結合於該細胞，另一方面，該多胜肽聯合體對於由構成經固定化之 GPC3 之細胞外域的胺基酸序列構成線狀胜肽實質上不結合時等。在此，實質上不結合，係指為對於人類 GPC3 表現細胞之結合活性之 80%以下、通常 50%以下、較佳為 30%以下、尤佳為 15%以下之結合活性。

測定含對於 GPC3 之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體對於 GPC3 表現細胞之結合活性之方法，例如 Antibodies A Laboratory Manual 記載之方法(Ed Harlow, David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988) 359-420)。亦即，可依照以 GPC3 表現細胞當做抗原之 ELISA 或

FACS(fluorescence activated cell sorting)之原理評價。

ELISA 格式中，含對於 GPC3 之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體對於 GPC3 表現細胞之結合活性，可藉由比較酵素反應所生成之信號水平而定量的評價。亦即於固定化有 GPC3 表現細胞之 ELISA 平板添加待驗多胜肽聯合體，並且利用認識待驗多胜肽聯合體之酵素標識抗體而檢測與細胞結合之待驗多胜肽聯合體。或者，於 FACS，製作待驗多胜肽聯合體之稀釋系列，並藉由決定對於 GPC3 表現細胞之抗體結合力價(titer)，可比較待驗多胜肽聯合體對於 GPC3 表現細胞之結合活性。

待驗多胜肽聯合體對於懸浮於緩衝液等之細胞表面上表現的抗原的結合，可利用流式細胞計數儀檢測。流式細胞計數儀例如已知有以下裝置。

FACSCanto™ II

FACSAria™

FACSArray™

FACSVantage™ SE

FACSCalibur™ (均為 BD Biosciences 公司之商品名)

EPICS ALTRA HyPerSort

Cytomics FC 500

EPICS XL-MCL ADC EPICS XL ADC

Cell Lab Quanta / Cell Lab Quanta SC(均為 Beckman Coulter 公司之商品名)

例如，就含對於 GPC3 之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體對於抗原之結合活性之理想測定方法，例如以下方法。首先，以認識與表現 GPC3 之細胞反應之待驗多胜肽聯合體的經 FITC 標記的二次抗體染色。將待驗多胜肽聯合體以適當的緩衝液稀釋，將該聯合體製備為所望濃度後使用。例如，可使用 $10\ \mu\text{g/ml}$ 至 $10\ \text{ng/ml}$ 之間的任一濃度。其次，利用 FACSCalibur(BD 公司)測定螢光強度及細胞數。抗體對於該細胞之結合量，係反映在使用 CELL QUEST Software(BD 公司)解析而得之螢光強度，亦即幾何平均值(Geometric Mean)。亦即，由該幾何平均值，可測定由待驗多胜肽聯合體之結合量表示之待驗多胜肽聯合體之結合活性。

含對於 GPC3 之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體，與多胜肽聯合體共有抗原決定基之情事，可藉由兩者對於相同抗原決定基之彼此競爭而確認。多胜肽聯合體間之彼此競爭，可利用交叉阻斷試驗等檢測。例如彼此競爭 ELISA 分析係較佳的交叉阻斷試驗。

具體而言，交叉阻斷試驗中，係在微滴定平板的井上塗覆的 GPC3 蛋白質，於成為候選的彼此競爭多胜肽聯合體存在下、或不存在下預備溫育後，添加待驗多胜肽聯合體。與井中之 GPC3 蛋白質結合之待驗多胜肽聯合體之量，間接相關於與對於相同抗原決定基之結合成為彼此競爭的候選者的彼此競爭多胜肽聯合體之結合能力。亦即，若競合多胜肽聯合體對於相同抗原決定基之親和性愈大，則待驗多

胜肽聯合體對於塗覆有 GPC3 蛋白質之井之結合活性愈低。

經由 GPC3 蛋白質而與井結合之待驗多胜肽聯合體之量，可藉由預先標記多胜肽聯合體而輕易測定。例如，經生物素標記的多胜肽聯合體，可利用抗生物素過氧化酶接合體以及適當基質而測定。利用過氧化酶等酵素標記之交叉阻斷試驗，特別稱為彼此競爭 ELISA 分析。多胜肽聯合體能以可檢測或測定之其他標記物質標記。具體而言，放射標記或螢光標記等為公知。

與於候選的彼此競爭多胜肽聯合體不存在下實施之對照試驗所得之結合活性比較，彼此競爭多胜肽聯合體若能阻斷含對於 GPC3 之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體之結合至少 20%、較佳為至少 20—50%、更佳為至少 50%，則該待驗多胜肽聯合體與彼此競爭多胜肽聯合體係實質上結合於相同抗原決定基，或對於相同抗原決定基之結合為彼此競爭的多胜肽聯合體。

含對於 GPC3 之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體所結合之抗原決定基之構造在鑑定時，待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體共有抗原決定基之情形，可藉由比較兩者之多胜肽聯合體對於在構成該抗原決定基之胜肽導入有胺基酸突變之胜肽的結合活性而評價。

如此測定結合活性之方法，例如可藉由比較前述 ELISA 格式中，待驗多胜肽聯合體及對照多胜肽聯合體對於導入有突變的線狀胜肽的結合活性而測定。就 ELISA 以外之方法而言，也可藉由將對於結合於管柱之該突變胜肽的結合

活性，以使待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體流下該管柱後溶出到溶出液中之多胜肽聯合體進行定量而測定。使突變胜肽例如與 GST 之融合胜肽吸附於管柱之方法為公知。

又，當鑑定的抗原決定基為立體抗原決定基時，待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體共有抗原決定基之情事，可藉由以下方法評價。首先，製備表現 GPC3 之細胞以及表現對於抗原決定基導入有突變之 GPC3 的細胞。對於該等細胞懸浮於 PBS 等適當緩衝液而成的細胞懸浮液添加待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體。其次，對於經適當緩衝液洗滌的細胞懸浮液，添加能夠認識待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體的經 FITC 標記的抗體。利用 FACSCalibur(BD 公司)測定標記抗體所染色之細胞之螢光強度及細胞數。將待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體之濃度以適當緩衝液適當稀釋以製備為所望濃度後使用。例如可使用 $10\ \mu\text{g/ml}$ 至 $10\ \text{ng/ml}$ 之間的任一濃度。標記抗體對於該細胞之結合量，反映於使用 CELL QUEST Software(BD 公司)解析所獲得之螢光強度，亦即幾何平均值。亦即藉由獲得該幾何平均值，可以測定以標記抗體之結合量所代表之待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體之結合活性。

本方法中，例如「實質上不結合於突變 GPC3 表現細胞」之情事，可藉由以下方法判斷。首先，將已對於表現突變 GPC3 之細胞結合之待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體

以標記抗體染色。接著，檢測細胞之螢光強度。螢光檢測使用 FACSCalibur 當做流式細胞計數儀時，獲得之螢光強度可以使用 CELL QUEST Software 解析。從多胜肽聯合體存在下及非存在下之幾何平均值，將其比較值(Δ 幾何平均)依下列計算式計算，可以求得多胜肽聯合體之結合所致之螢光強度之增加比例。

$$\Delta \text{ 幾何平均值} = \frac{\text{幾何平均值 (多胜肽聯合體存在下)}}{\text{幾何平均值 (多胜肽聯合體非存在下)}}$$

將由解析獲得之反映待驗多胜肽聯合體對於突變 GPC3 表現細胞之結合量的幾何平均比較值(突變 GPC3 分子 Δ 幾何平均值)，與反映待驗多胜肽聯合體對於 GPC3 表現細胞之結合量的 Δ 幾何平均值比較值進行比較。於該情形，求取對於突變 GPC3 表現細胞及 GPC3 表現細胞之 Δ 幾何平均比較值時使用之待驗多胜肽聯合體之濃度調整為彼此相同或實質上為相同濃度尤佳。可利用預先確認認識 GPC3 中之抗原決定基的多胜肽聯合體當做對照多胜肽聯合體。

待驗多胜肽聯合體對於突變 GPC3 表現細胞之 Δ 幾何平均比較值，若比起待驗多胜肽聯合體對於 GPC3 表現細胞之 Δ 幾何平均比較值之至少 80%、較佳為 50%、更佳為 30%、尤佳為 15%還小，則判定為「實質上不結合於突變 GPC3 表現細胞」。求取幾何平均值(Geometric Mean)之計算式，記載於 CELL QUEST Software User's Guide(BD biosciences 公司)。若比較比較值而其實質上可視為相同之程度，則可評價待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體

之抗原決定基為相同。

Fv(可變片段(variable fragment))

本說明書中，稱為「Fv(variable fragment)」的用語，係指由抗體之輕鏈可變區(VL(light chain variable region))與抗體之重鏈可變區(VH(heavy chain variable region))的配對構成的抗體而來的抗原結合域的最小單位。1988年 Skerra 與 Pluckthun 發現藉由在細菌的信號序列的下游插入有抗體之基因的大腸菌中誘導該基因表現，可以於均勻且保持活性的狀態從大腸菌之胞外質區分製備(Science (1988) 240 (4855), 1038-1041)。從胞外質區分製備的 Fv，係 VH 與 VL 以對於抗原具結合之態樣組合。

本說明書中，Fv 例如以下之包含(1)二價之抗原結合域、(2)構成 IgG1、IgG2a、IgG3 或 IgG4 之 Fc 區域之胺基酸當中含不具對於 Fc γ 受體之結合活性之 Fc 區域的域、及(3)至少一價之 CD3 結合域之多胜肽聯合體中，輕鏈 Fv 片段及重鏈 Fv 片段含以具對於抗原 CD3 之結合的態樣組合並且構成 CD3 結合域之一組 Fv 亦為較佳；

二價之 scFv 當中，一價之 scFv 以中間為構成 CD3 結合域之重鏈 Fv 片段而連結於構成 Fc 區域之其中一個多胜肽，另一個一價之 scFv 以中間為構成 CD3 結合域之輕鏈 Fv 片段而連結於構成 Fc 區域之另一多胜肽而成的二價之抗原結合域為二價之 scFv。

scFv、單鏈抗體、或 sc(Fv)₂

本說明書中，「scFv」、「單鏈抗體」、或「sc(Fv)₂」的用語係指在單一多胜肽鏈內，包含來自於重鏈及輕鏈兩者的可變區但是欠缺恆定區之抗體片段。一般而言，單鏈抗體更包含可形成能進行抗原結合的所望之構造的 VH 域與 VL 域之間的多胜肽連結子。單鏈抗體於 The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 113 卷，Rosenburg、及、Moore 編，Springer-Verlag, New York, 269~315(1994)中，由 Pluckthun 詳細考察。同樣地，參照國際專利申請案公開 W01988/001649 及美國專利第 4,946,778 號及美國專利第 5,260,203 號。特定態樣中，單鏈抗體也可為雙專一性、及/或人類化。

scFv 係構成 Fv 之 VH 與 VL 以胜肽連結子連結成的抗原結合域(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85 (16), 5879-5883)。利用該胜肽連結子，VH 與 VL 可以保持在接近的狀態。

sc(Fv)₂ 係二個 VL 與二個 VH 之 4 個可變區以胜肽連結子等連結子連結成構成單鏈的單鏈抗體(J Immunol. Methods (1999) 231 (1-2), 177-189)。該二個 VH 與 VL 也可來自不同的單株抗體。例如 Journal of Immunology (1994) 152 (11), 5368-5374 揭示在相同抗原中存在認識二種抗原決定基之雙專一性(bispecific sc(Fv)₂)。sc(Fv)₂ 可以利用該技術領域人士公知之方法製作。例如，可藉由將 scFv 以胜肽連結子等連結子連結而製作。

本說明書中，構成 sc(Fv)₂ 之抗原結合域之構成，例

如二個 VH 及二個 VL 以單鏈多胜肽之 N 末端側為基點，而依 VH、VL、VH、VL([VH]連結子[VL]連結子[VH]連結子[VL])之順序排列為特徵的抗體，但二個 VH 與 2 個 VL 之順序不特別限於上述構成，可以任意順序排列。例如以下順序之構成。

[VL]連結子[VH]連結子[VH]連結子[VL]

[VH]連結子[VL]連結子[VL]連結子[VH]

[VH]連結子[VH]連結子[VL]連結子[VL]

[VL]連結子[VL]連結子[VH]連結子[VH]

[VL]連結子[VH]連結子[VL]連結子[VH]

針對 sc(Fv)₂ 之分子形態，在 WO2006/132352 已有詳細記載，該技術領域之人士可依據此等記載製作用於製作本說明書揭示之多胜肽聯合體用的適當所望之 sc(Fv)₂。

又，本發明之多胜肽聯合體也可接合 PEG 等擔體高分子或抗癌劑等有機化合物。又，可以插入糖鏈附加序列並且適當附加使糖鏈獲得所望之效果。

結合抗體可變區之連結子，可使用能以基因工程導入之任意胜肽連結子、或合成化合物連結子(例如參照 Protein Engineering, 9 (3), 299-305, 1996)揭示之連結子等，但本發明中以胜肽連結子較佳。胜肽連結子之長度不特別限定，可以視目的由該技術領域之人士適當選擇，但較佳長度為 5 個胺基酸以上(上限不特別限定，但通常為 30 個胺基酸以下，較佳為 20 個胺基酸以下)，尤佳為 15 個胺基酸。sc(Fv)₂ 含有 3 個胜肽連結子時，可全部使

用同長度之胜肽連結子，也可使用不同長度之胜肽連結子。

例如為胜肽連結子時：

Ser

Gly · Ser

Gly · Gly · Ser

Ser · Gly · Gly

Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：5)

Ser · Gly · Gly · Gly(序列編號：6)

Gly · Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：7)

Ser · Gly · Gly · Gly · Gly(序列編號：8)

Gly · Gly · Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：9)

Ser · Gly · Gly · Gly · Gly · Gly(序列編號：10)

Gly · Gly · Gly · Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：11)

Ser · Gly · Gly · Gly · Gly · Gly · Gly(序列編號：12)

(Gly · Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：7))_n

(Ser · Gly · Gly · Gly · Gly(序列編號：8))_n

[_n 為 1 以上之整數]等。惟，該技術領域之人士可因應目的適當選擇胜肽連結子之長度或序列。

合成化學物連結子(化學交聯劑)為胜肽交聯通常可用之交聯劑，例如 N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)、二琥珀醯亞胺基辛二酸酯(DSS)、雙(磺基琥珀醯亞胺基)辛二酸酯(BS3)、二硫代雙(琥珀醯亞胺基丙酸酯)(DSP)、二硫代雙(磺基琥珀醯亞胺基丙酸酯)(DTSSP)、乙二醇雙(琥珀醯亞胺基琥珀酸酯)(EGS)、乙二醇雙(磺基琥珀醯亞胺基琥珀酸

酯)(磺基-EGS)、二琥珀醯亞胺基酒石酸鹽(DST)、二磺基琥珀醯亞胺基酒石酸鹽(磺基-DST)、雙[2-(琥珀醯亞胺氧基羰氧基)乙基]砒(BSOICES)、雙[2-(磺基琥珀醯亞胺氧基羰氧基)乙基]砒(磺基-BSOICES)等，該等交聯劑有市售。

結合 4 個抗體可變區時，通常需要 3 個連結子，但可全部使用相同連結子也可使用不同的連結子。

Fab、F(ab')₂、或 Fab'

「Fab」由一條輕鏈、及一條重鏈之 CH1 區域及可變區構成。Fab 分子之重鏈無法與其他重鏈分子形成雙硫鍵。

「F(ab')₂」及「Fab'」，係指將免疫球蛋白(單株抗體)以蛋白質分解酵素胃蛋白酶或木瓜酶等處理以製造，在鉸鏈區中之 2 條 H 鏈間存在之雙硫鍵的前後消化而生成之抗體片段。例如可製造將 IgG 以木瓜酶處理，將鉸鏈區中之 2 條 H 鏈間存在之雙硫鍵之上游切斷而由 VL(L 鏈可變區)與 CL(L 鏈恆定區)構成的 L 鏈、及由 VH(H 鏈可變區)與 CH_γ1(H 鏈恆定區中之 γ1 區)構成之 H 鏈片段在 C 末端區以雙硫鍵結合之相同的 2 個抗體片段。該等 2 個相同的抗體片段分別稱為 Fab'。

「F(ab')₂」包含二條輕鏈、及鏈間之雙硫鍵以形成於 2 條重鏈間之方式含有 CH1 域及 CH2 域之一部分恆定區之二條重鏈。構成本說明書揭示之多胜肽聯合體之 F(ab')₂，可藉由將具所望之抗原結合域的全長單株抗體等以胃蛋白酶等蛋白質分解酵素予以部分消化後，使 Fc 片段吸附於 PROTEIN A 管柱而去除以理想地取得。該蛋白質

分解酵素只要是藉由適當設定 pH 等酵素之反應條件而消化全長抗體以限制地產生 $F(ab')_2$ 者即不特別限定，例如胃蛋白酶或無花果蛋白酶(ficin)等。

Fc 區域

構成本說明書揭示之多胜肽聯合體的 Fc 區域，當將單株抗體等抗體以胃蛋白酶等蛋白質分解酵素予以部分消化後，使片段吸附於 PROTEIN A 管柱、或 PROTEIN G 管柱後，以適當溶出緩衝液等使溶出可以理想地取得。該蛋白質分解酵素只要是藉由適當設定 pH 等酵素之反應條件而能消化單株抗體等抗體者即不特別限定，例如胃蛋白酶或無花果蛋白酶(ficin)等。

本說明書記載之多胜肽聯合體中，包含構成 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 之 Fc 區域的胺基酸當中對於 $Fc\gamma$ 受體之結合活性降低的 Fc 區域。

抗體同種型係由恆定區之構造決定。IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 之各同種型之恆定區，各稱為 $C\gamma 1$ 、 $C\gamma 2$ 、 $C\gamma 3$ 、 $C\gamma 4$ 。構成人類 $C\gamma 1$ 、 $C\gamma 2$ 、 $C\gamma 3$ 、 $C\gamma 4$ 之 Fc 區域的多胜肽的胺基酸序列例如序列編號：23、24、25、26。構成各胺基酸序列之胺基酸殘基、與 kabat 之 EU 編號(本說明書也稱為 EU INDEX)之間的關係如圖 18 所示。

Fc 區域，係指包含二條輕鏈及以鏈間之雙硫鍵形成在 2 條重鏈間之方式包含 CH1 域及 CH2 域間之恆定區之一部分的二條重鏈的 $F(ab')_2$ 以外的區。構成本說明書揭示之多胜肽聯合體之 Fc 區域，可藉由將 IgG1、IgG2、IgG3、

IgG4 單株抗體等以胃蛋白酶等蛋白質分解酵素部分消化後，使吸附於 PROTEIN A 管柱之區分再溶出而理想地取得。該蛋白質分解酵素只要是藉由適當設定 pH 等酵素之反應條件而消化全長抗體以限制地產生 $F(ab')_2$ 者即不特別限定，例如胃蛋白酶或無花果蛋白酶(ficin)等。

Fc γ 受體

Fc γ 受體係指能結合於 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 單株抗體之 Fc 區域的受體，也意指實質上由 Fc γ 受體基因所編碼之蛋白質之家族的各成員。人類中，該家族包含：含同功型(isoform)Fc γ RIa、Fc γ RIb 及 Fc γ RIc 之 Fc γ RI(CD64)；同功型 Fc γ RIIa(含同種異型(allotype)H131 及 R131)、Fc γ RIIb(含 Fc γ RIIb-1 及 Fc γ RIIb-2)及含 Fc γ RIIC 之 Fc γ RII(CD32)；及含同功型 Fc γ RIIIA(含同種異型 V158 及 F158)及 Fc γ RIIIB(含同種異型 Fc γ RIIIB-NA1 及 Fc γ RIIIB-NA2)之 Fc γ RIII(CD16)，及各種未發現的人類 Fc γ R 類或 Fc γ R 同功型或同種異型，但不限於該等。Fc γ R 包含人類、小鼠、大鼠、兔及猴來源，但不限於該等，可為各種生物來源。小鼠 Fc γ R 類，包含 Fc γ RI(CD64)、Fc γ RII(CD32)、Fc γ RIII(CD16)及 Fc γ RIII-2(CD16-2)、及各種未發現的小鼠 Fc γ R 類或 Fc γ R 同功型或同種異型，但不限於該等。如此的 Fc γ 受體，較佳例有人類 Fc γ I(CD64)、Fc γ IIA(CD32)、Fc γ IIB(CD32)、Fc γ IIIA(CD16)及 / 或 Fc γ IIIB(CD16)。Fc γ I 之聚核苷酸序列及胺基酸序列各

記載於序列編號：13(NM_000566.3)及 14(NP_000557.1)，Fc γ IIA 之聚核苷酸序列及胺基酸序列各記載於序列編號：15(BC020823.1)及 16(AAH20823.1)，Fc γ IIB 之聚核苷酸序列及胺基酸序列各記載於序列編號：17(BC146678.1)及 18(AAI46679.1)，Fc γ IIIA 之聚核苷酸序列及胺基酸序列各記載於序列編號：19(BC033678.1)及 20(AAH33678.1)，Fc γ IIIB 之聚核苷酸序列及胺基酸序列各記載於序列編號：21(BC128562.1)及 22(AAI28563.1)(括弧內代表 RefSeq 註冊編號)。Fc γ 受體是否對於 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 單株抗體之 Fc 區域具結合活性，除了上述記載之 FACS 或 ELISA 格式以外，可利用 ALPHA 篩選 (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay) 或利用表面等離子共振 (SPR) 現象之 BIACORE 法等確認 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103 (11), 4005-4010)。

又，「Fc 配體」或「效應子配體」係指與抗體之 Fc 區域結合而形成 Fc/Fc 配體複合體之任意生物來源的分子，較佳為多胜肽。Fc 配體對於 Fc 之結合，較佳為誘發 1 或更多的效應子機能。Fc 配體包含 Fc 受體、Fc γ R、Fc α R、Fc ϵ R、FcRn、C1q、C3、甘露聚糖結合凝集素、甘露糖受體、葡萄球菌之 PROTEIN A、葡萄球菌之蛋白質 G 及病毒之 Fc γ R，但不限於該等。Fc 配體也包含與 Fc γ R 相同之 Fc 受體之家族 Fc 受體相同體 (FcRH)(Davis et al., (2002) Immunological Reviews 190, 123-136)。Fc 配體也包含與 Fc 結合之未曾發現的分子。

對於 $\text{Fc}\gamma$ 受體之結合活性

Fc 區域對於 $\text{Fc}\gamma$ I、 $\text{Fc}\gamma$ IIA、 $\text{Fc}\gamma$ IIB、 $\text{Fc}\gamma$ IIIA 及 / 或 $\text{Fc}\gamma$ IIIB 中任一 $\text{Fc}\gamma$ 受體之結合活性降低之情事，除可藉由上述記載之 FACS 或 ELISA 格式，也可利用 ALPHA 篩選 (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay) 或利用表面等離子共振 (SPR) 現象之 BIACORE 法等確認 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103 (11), 4005-4010)。

ALPHA 篩選，係使用捐出者與接受者 2 個珠粒的 ALPHA 技術，依據下列原理實施。結合於捐出者珠粒的分子，會與結合於接受者珠粒之分子於生物學上交互作用，僅有 2 個珠粒於接近狀態時，檢測到發光信號。由雷射激發之捐出者珠粒內的光敏化劑，會將周邊的氧變換為激發狀態之單線態氧 (singlet)。單線態氧會往捐出者珠粒周邊擴散，當到達接近的接受者珠粒時，會引起珠粒內之化學發光反應，最終發出光。當結合於捐出者珠粒之分子與結合於接受者珠粒之分子無交互作用時，捐出者珠粒產生之單線態氧不會到達接受者珠粒，故不會引起化學發光反應。

例如，經生物素標記之多胜肽聯合體結合於捐出者珠粒，且於接受者珠粒有以谷胱甘肽 S 轉移酶 (GST) 標籤化之 $\text{Fc}\gamma$ 受體結合。於不存在彼此競爭之具突變 Fc 區域之多胜肽聯合體時，具野生型 Fc 區域之多胜肽聯合體會與 $\text{Fc}\gamma$ 受體交互作用，產生 520-620 nm 之信號。具未經標籤化之突變 Fc 區域的多胜肽聯合體，會與具野生型 Fc 區域之多

胜肽聯合體彼此競爭 $\text{Fc}\gamma$ 受體間之交互作用。彼此競爭之結果，可藉由定量表現的螢光減少而決定相對的結合親和性。抗體等多胜肽聯合體使用 Sulfo-NHS-生物素等予以生物素化之方法為公知。就將 $\text{Fc}\gamma$ 受體以 GST 標籤化之方法，可適當採用將編碼為 $\text{Fc}\gamma$ 受體之聚核苷酸與編碼為 GST 之聚核苷酸於框架內融合成的融合基因保持於可表現之載體之細胞等中表現，並使用谷胱甘肽管柱精製之方法等。獲得之信號例如可使用 GRAPHPAD PRISM(GraphPad 公司、San Diego)等軟體，利用非線形迴歸解析，並擬合於單部位彼此競爭(one-site competition)模型而適當解析。

若將觀察交互作用之物質的其中之一(配體)固定在感應晶片的金薄膜上，並從感應晶片的背側照光使在金薄膜與玻璃的境界面發生全反射，則一部分反射光會形成反射強度降低的部分(SPR 信號)。若觀察交互作用之物質的其中另一者(分析物)流到感應晶片之表面並且配體與分析物結合，則經固定化的配體分子的質量會增加，且感應晶片表面之溶媒之折射率會改變。由於該折射率之改變，SPR 信號之位置會偏移(反之，若結合解離，會回到信號的位置)。Biacore 系統取上述偏移量，亦即在感應晶片表面之質量變化為縱軸，表示質量之時間變化當做測定數據(傳感圖)。從傳感圖的曲線可以求取動力學：結合速度常數(k_a)與解離速度常數(k_d)，從該常數之比可求取親和性(KD)。BIACORE 法也可適用抑制測定法。抑制測定法例如記載於

Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103 (11), 4005-4010。

本說明書中，對於 Fc γ 受體之結合活性降低，係例如基於上述解析方法，比起當為對照之多胜肽聯合體之彼此競爭活性，待驗多胜肽聯合體之彼此競爭活性顯示 50%以下、較佳為 45%以下、40%以下、35%以下、30%以下、20%以下、15%以下、尤佳為 10%以下、9%以下、8%以下、7%以下、6%以下、5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1%以下之結合活性。

當做對照之多胜肽聯合體，可以適當使用具 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 單株抗體之 Fc 區域的多胜肽聯合體。該 Fc 區域之構造，記載於序列編號：23(RefSeq 註冊編號 AAC82527.1 之 N 末端加成 A)、24(RefSeq 註冊編號 AAB59393.1 之 N 末端加成 A)、25(RefSeq 註冊編號 CAA27268.1 之 N 末端加成 A)、26(RefSeq 註冊編號 AAB59394.1 之 N 末端加成 A)。又，當使用具某特定同種型之抗體之 Fc 區域之突變體的多胜肽聯合體當做待驗物質時，藉由以具該特定同種型之抗體之 Fc 區域的多胜肽聯合體當做對照，可以驗證該突變體具有之突變對於 Fc γ 受體之結合活性的效果。如上述，可以適當製作已驗證對於 Fc γ 受體之結合活性降低之具 Fc 區域之突變體之多胜肽聯合體。

如此的突變體，例如依 EU 編號於特定胺基酸 231A-238S 缺失(WO 2009/011941)、C226S、C229S、P238S、(C220S)(J. Rheumatol (2007) 34, 11)、C226S、C229S(Hum. Antibod. Hybridomas (1990) 1(1), 47-54)、

C226S、C229S、E233P、L234V、L235A(Blood (2007) 109, 1185-1192)等突變體為公知。

亦即，構成特定同種型之抗體之Fc區域的胺基酸，依EU編號指定之下列任一胺基酸；220位、226位、229位、231位、232位、233位、234位、235位、236位、237位、238位、239位、240位、264位、265位、266位、267位、269位、270位、295位、296位、297位、298位、299位、300位、325位、327位、328位、329位、330位、331位、332位經取代之具Fc區域之多胜肽聯合體為理想。Fc區域之起源抗體之同種型不特別限定，可以適當利用以IgG1、IgG2、IgG3或IgG4單株抗體為起源之Fc區域，但較佳為使用以IgG1抗體為起源之Fc區域。

例如，構成IgG1抗體之Fc區域的胺基酸當中，具施有依EU編號指定之下列任一取代(數字代表依EU編號指定之胺基酸殘基之位置，位於數字前之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基，位於數字後之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基)；

(a)L234F、L235E、P331S、

(b)C226S、C229S、P238S、

(c)C226S、C229S、

(d)C226S、C229S、E233P、L234V、L235A

之Fc區域、或具231位至238位之胺基酸序列缺失之Fc區域的多胜肽聯合體也可適當使用。

又，構成IgG2抗體之Fc區域之胺基酸當中，施以依

EU 編號指定之下列任一取代(數字代表依 EU 編號指定之胺基酸殘基之位置，位於數字前之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基，位於數字後之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基)；

(e)H268Q、V309L、A330S、P331S

(f)V234A

(g)G237A

(h)V234A、G237A

(i)A235E、G237A

(j)V234A、A235E、G237A

之具有 Fc 區域的多胜肽聯合體也可適當使用。

又，構成 IgG3 抗體之 Fc 區域之胺基酸當中，施有依 EU 編號指定下列任一取代(數字代表依 EU 編號指定之胺基酸殘基之位置，位於數字前之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基，位於數字後之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基)；

(k)F241A

(l)D265A

(m)V264A

之具 Fc 區域的多胜肽聯合體也可適當使用。

又，構成 IgG4 抗體之 Fc 區域之胺基酸當中，施有依 EU 編號指定下列任一取代(數字代表依 EU 編號指定之胺基酸殘基之位置，位於數字前之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基，位於數字後之單字母胺基酸記號代表取

代前之胺基酸殘基)；

(n)L235A、G237A、E318A

(o)L235E

(p)F234A、L235A

的具 Fc 區域的多胜肽聯合體也可適當使用。

其他較佳例，例如構成 IgG1 抗體之 Fc 區域之胺基酸當中，依 EU 編號指定之下列任一胺基酸；233 位、234 位、235 位、236 位、237 位、327 位、330 位、331 位取代為對應的 IgG2 或 IgG4 中其 EU 編號所對應之胺基酸的具 Fc 區域的多胜肽聯合體。

其他較佳例，例如構成 IgG1 抗體之 Fc 區域之胺基酸當中，依 EU 編號指定之下列任一或更多胺基酸；234 位、235 位、297 位取代為其他胺基酸之 Fc 區域的多胜肽聯合體。取代後存在之胺基酸種類不特別限定，但具有 234 位、235 位、297 位中任一或更多胺基酸取代為丙胺酸之具 Fc 區域的多胜肽聯合體尤佳。

其他較佳例，例如構成 IgG1 抗體之 Fc 區域之胺基酸當中，依 EU 編號指定之下列任一胺基酸；265 位取代為其他胺基酸之具 Fc 區域之多胜肽聯合體。取代後存在之胺基酸之種類不特別限定，但以 265 位之胺基酸取代為丙胺酸之具 Fc 區域的多胜肽聯合體尤佳。

以雙專一性抗體為起源之 Fc 區域

本說明書中，就對於 Fc γ 受體之結合活性降低之 Fc 區域而言，可以適當使用以雙專一性抗體(bispecific 抗

體)為起源之 Fc 區域。雙專一性抗體，可係具二種不同的專一性的抗體。IgG 型雙專一性抗體可藉由融合 2 種產生 IgG 抗體之融合瘤而產生的雜交融合瘤 (hybrid hybridoma(quadroma) 分泌 (Milstein C et al. Nature (1983) 305, 537-540)。

又，IgG 型雙專一性抗體係藉由將構成目的之二種 IgG 之 L 鏈及 H 鏈的基因共計四種基因導入細胞並使其共表現而分泌。但該等方法產生之 IgG 之 H 鏈與 L 鏈之組合理論上有 10 種。從 10 種 IgG 精製出由目的組合之 H 鏈 L 鏈構成的 IgG 有困難。再者，目的組合者的分泌量在理論上顯著降低，故需要大規模培養，製造上成本會更增加。

此時藉由對於構成 H 鏈之 Fc 區域的 CH3 區域施以適當胺基酸取代，可以優先分泌針對 H 鏈為異組合的 IgG。具體而言，將其中之一的 H 鏈的 CH3 區域存在的胺基酸側鏈取代為較大側鏈(knob(「突起」之意))，將另一 H 鏈 CH3 區域存在之胺基酸側鏈取代為較小側鏈(hole(「空隙」之意))，能使突起配置在空隙內，而促進異種 H 鏈形成及抑制同種 H 鏈形成之方法(WO1996/027011、Ridgway JB et al., Protein Engineering (1996) 9, 617-621、Merchant AM et al. Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681)。

又，關於 L 鏈比起 H 鏈可變區，L 鏈可變區之多樣性較低，因此期待可獲得能賦予兩 H 鏈結合能力的共通 L 鏈。藉由將該共通 L 鏈與兩 H 鏈基因導入細胞並使 IgG 表現，可以良好效率表現雙專一性 IgG(Nature Biotechnology

(1998) 16, 677-681)。但是，任意選擇二種抗體時，含相同 L 鏈之可能性低，難以實行上述構想，也有人提出選擇對應於任意不同之 H 鏈顯示高結合能力之共通 L 鏈的方法 (W02004/065611)。

又，將由多胜肽組合、或多胜肽構成之異種多聚體之組合之控制方法利用在構成 Fc 區域之二個多胜肽的組合，而製作雙專一性抗體之技術也為已知。即，可採用藉由將形成構成 Fc 區域之二個多胜肽內的界面的胺基酸殘基改變，抑制具相同序列之構成 Fc 區域之多胜肽之組合，而控制為構形成序列不同之二個 Fc 區域的多胜肽聯合體形成之方法，可採用在雙專一性抗體之製作 (W02006/106905)。

本發明之含 Fc 區域之域，可適當使用以上述雙專一性抗體為起源之構成 Fc 區域之二個多胜肽。更具體而言，係構成 Fc 區域之二條多胜肽，可使用如下特徵之兩條多胜肽：其中之一之多胜肽的胺基酸序列當中，依 EU 編號指定之 349 位之胺基酸為半胱胺酸、366 位之胺基酸為色胺酸，另一多胜肽之胺基酸序列當中，依 EU 編號指定之 356 位之胺基酸為半胱胺酸、366 位之胺基酸為絲胺酸，368 位之胺基酸為丙胺酸，407 位之胺基酸為纈胺酸。

於另一態樣中，本發明之含 Fc 區域之域，可使用如以下特徵之兩個多胜肽：構成 Fc 區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 409 位之胺基酸為天冬胺酸，另一多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號

指定之 399 位之胺基酸為離胺酸。上述態樣中，409 位之胺基酸從天冬胺酸換成麩胺酸、399 位之胺基酸從離胺酸換成精胺酸亦可。又，也可於 399 位之離胺酸再追加 360 位之天冬胺酸或 392 位之天冬胺酸。

另一態樣中，本發明之含 Fc 區域之域，可使用如以下特徵之兩個多胜肽：構成 Fc 區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 370 位之胺基酸為麩胺酸，另一多胜肽之胺基酸序列當依 EU 編號指定之 357 位之胺基酸為離胺酸。

又另一態樣中，本發明之含 Fc 區域之域，可使用如以下特徵之兩個多胜肽：構成 Fc 區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 439 位之胺基酸為麩胺酸，另一多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 356 位之胺基酸為離胺酸。

又，本發明之含 Fc 區域之域，宜使用該等組合態樣；以下列為特徵之二個多胜肽：構成 Fc 區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 409 位之胺基酸為天冬胺酸、370 位之胺基酸為麩胺酸，且另一多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 399 位之胺基酸為離胺酸、357 位之胺基酸為離胺酸（本態樣中，370 位之麩胺酸也可換成天冬胺酸，370 位之麩胺酸也可換成 392 位之天冬胺酸）、

以下列為特徵之二個多胜肽：構成 Fc 區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 409

位之胺基酸為天冬胺酸、439 位之胺基酸為麩胺酸，且另一多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 399 位之胺基酸為離胺酸、356 位之胺基酸為離胺酸（本態樣中，439 位之麩胺酸也可換成 360 位之天冬胺酸、392 位之天冬胺酸或 439 位之天冬胺酸）、

以下列為特徵之二個多胜肽：構成 Fc 區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 370 位之胺基酸為麩胺酸、439 位之胺基酸為麩胺酸，且另一多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 357 位之胺基酸為離胺酸、356 位之胺基酸為離胺酸，或

以下列為特徵之二個多胜肽：構成 Fc 區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 409 位之胺基酸為天冬胺酸、370 位之胺基酸為麩胺酸、439 位之胺基酸為麩胺酸，且另一多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 399 位之胺基酸為離胺酸、357 位之胺基酸為離胺酸、356 位之胺基酸為離胺酸（本態樣中，370 位之胺基酸也可取代為麩胺酸，再者 370 位之胺基酸不取代為麩胺酸且 439 位之麩胺酸換成天冬胺酸或 439 位之麩胺酸緩成 392 位之天冬胺酸亦可）。

又，於另一態樣，本發明之含 Fc 區域之域，可理想地使用以下列為特徵之二個多胜肽：構成 Fc 區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 356 位之胺基酸為離胺酸，且另一多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 435 位之胺基酸為精胺酸、439 位之胺

基酸為麩胺酸。

本發明之含 Fc 區域之域，藉由使用以上述雙專一性抗體為起源之構成 Fc 區域之二條多胜肽，可以將本發明之抗原結合域及/或 CD3 結合域以所望之組合配置。

C 末端之異質性(heterogeneity)有所改善之 Fc 區域

本說明書中，就對於 Fc γ 受體之結合活性降低之 Fc 區域而言，可適當使用除上述特徵以外，Fc 區域之 C 末端之異質性經改善之 Fc 區域。更具體而言，提供構成以 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 為起源之 Fc 區域的二條多胜肽之胺基酸序列當中依 EU 編號指定之 446 位之甘胺酸、及 447 位之離胺酸缺失之 Fc 區域。

T 細胞受體複合體結合域

本說明書中，「T 細胞受體複合體結合域」係指含對於 T 細胞受體複合體的一部分或全部專一性結合且互補之區而成的 T 細胞受體複合體抗體的部分。T 細胞受體複合體，也可為 T 細胞受體本身，也可為與 T 細胞受體一起構成 T 細胞受體複合體之適體(adaptor)分子。適體較佳為 CD3。

T 細胞受體結合域

本說明書中，「T 細胞受體結合域」係指含對於 T 細胞受體的一部分或全部專一性結合且互補之區而成之 T 細胞受體抗體的部分。

T 細胞受體可為可變區也可為恆定區，但較佳的 CD3 結合域所結合之抗原決定基，為存在於恆定區的抗原決定

基。恆定區之序列例如 RefSeq 註冊編號 CAA26636.1 之 T 細胞受體 α 鏈(序列編號：67)、RefSeq 註冊編號 C25777 之 T 細胞受體 β 鏈(序列編號：68)、RefSeq 註冊編號 A26659 之 T 細胞受體 $\gamma 1$ 鏈(序列編號：69)、RefSeq 註冊編號 AAB63312.1 之 T 細胞受體 $\gamma 2$ 鏈(序列編號：70)、RefSeq 註冊編號 AAA61033.1 之 T 細胞受體 δ 鏈(序列編號：71)之序列。

CD3 結合域

本說明書中，「CD3 結合域」係指含專一性結合於 CD3 之一部分或全部且互補之區而成之 CD3 抗體之部分。CD3 結合域可由一或多數抗體之可變域提供。較佳為，CD3 結合域含有 CD3 抗體之輕鏈可變區(VL)與 CD3 抗體之重鏈可變區(VH)。如此的 CD3 結合域，例如「scFv(single chain Fv)」、「單鏈抗體(single chain antibody)」、「Fv」、「scFv2(single chain Fv 2)」、「Fab」或「F(ab')₂」等。

本發明之 CD3 結合域只要是構成人類 CD3 之 γ 鏈、 δ 鏈或 ϵ 鏈序列所存在之抗原決定基即可，可為與任何抗原決定基結合者。本發明中，較佳為使用包含與人類 CD3 複合體之 ϵ 鏈之細胞外區所存在之抗原決定基結合之 CD3 抗體之輕鏈可變區(VL)與 CD3 抗體之重鏈可變區(VH)的 CD3 結合域。如此的 CD3 結合域，可以適當使用包含 OKT3 抗體(Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980) 77, 4914-4917)或各種公知之 CD3 抗體之輕鏈可變區(VL)與 CD3 抗體之重

鏈可變區(VH)的 CD3 結合域。又，可以適當使用將構成人類 CD3 之 γ 鏈、 δ 鏈或 ε 鏈依前述方法對於所望之動物免疫而取得之具所望性質之 CD3 抗體為起源之 CD3 結合域。成為 CD3 結合域起源之 CD3 抗體，可如前述適當使用經人類化之抗體或人類抗體。構成 CD3 之 γ 鏈、 δ 鏈或 ε 鏈之構造，其聚核苷酸序列記載於序列編號：27(NM_000073.2)、29(NM_000732.4)及 31(NM_000733.3)，其多胜肽序列記載於序列編號：28(NP_000064.1)、30(NP_000723.1)及 32(NP_000724.1)(括弧內代表 RefSeq 註冊編號)。

多胜肽聯合體

本發明之多胜肽聯合體只要包含前述

- (1) 抗原結合域，
- (2) 含對於 Fc γ 受體之結合活性降低之 Fc 區域的域，及、
- (3) T 細胞受體複合體結合域、

即可，其構造不限定。本發明中，T 細胞受體複合體結合域較佳為 T 細胞受體結合域或 CD3 結合域。上述各域可以胜肽鍵直接連結。例如，(1) 使用 F(ab')₂ 當做抗原結合域、(2) 使用該等之 Fc 當做含有對於 Fc γ 受體之結合活性降低之 Fc 區域的域時，將(1)記載之抗原結合域與含(2)記載之 Fc 區域的域以胜肽鍵連結時，經連結之多胜肽會形成抗體構造。為製作如此的抗體，除了從前述融合瘤之培養液精製以外，也可將編碼為構成該抗體之多胜肽的聚核苷酸從穩定保持之所望寄主細胞之培養液精製該抗體。

該抗體構造(3)有 CD3 結合域結合時，該 CD3 結合域可經由胜肽鍵結合於該抗體構造之恆定區之 C 末端。就另一態樣而言，該 CD3 結合域可經由胜肽鍵而結合於該抗體構造之重鏈可變區或輕鏈可變區之 N 末端。就該其他態樣而言，該 CD3 結合域可經由胜肽鍵而與該抗體構造之輕鏈恆定區之 C 末端結合。結合之 CD3 結合域可採用具所望構造之 CD3 結合域，但較佳為適當使用 Fv，更佳為 scFv。與該抗體構造結合之 CD3 結合域之價數不限定。為了對於該抗體構造結合二價之 CD3 結合域，可將構成該抗體構造之恆定區的二個 Fc 區域之各 C 末端經由胜肽鍵結合各為一價之 CD3 結合域。又，為了於該抗體構造結合二價之 CD3 結合域，可以對於二個 Fc 區域當中一個 Fc 區域之 C 末端經由胜肽鍵結合二價之 scFv 即 $sc(Fv)_2$ 。於該情形中，藉由使用以前述雙專一性抗體為起源之 Fc 區域，可有效率地取得構成該抗體構造之恆定區的二個 Fc 區域其中一個 Fc 區域僅在 C 末端結合二價之 scFv 即有 $sc(Fv)_2$ 結合之多胜肽聯合體。又，為了於該抗體構造結合一價之 CD3 結合域，可將二個 Fc 區域當中其中之一的 Fc 區域之 C 末端經由胜肽鍵而結合一價之 scFv。於該情形，藉由使用以前述雙專一性抗體為起源之 Fc 區域，可以有效率地取得僅在構成該抗體構造之恆定區的二個 Fc 區域其中之一的 Fc 區域之 C 末端結合有一價之 scF 之本發明之多胜肽聯合體。

又，(3)當 CD3 結合域經由胜肽鍵而結合於該抗體構造之恆定區之 C 末端時，也可適當使用構成 CD3 結合域之重

鏈 Fv 片段連結於構成 Fc 區域其中之一的恆定區之 C 末端 (CH3 域)，且構成 CD3 結合域之輕鏈 Fv 片段連結於構成 Fc 區域之另一恆定區之 C 末端 (CH3 域) 而成的多胜肽聯合體。於該情形，當將重鏈 Fv 片段或輕鏈 Fv 片段與恆定區之 C 末端 (CH3 域) 連結時，可適當插入 Gly·Gly·Gly·Gly·Ser(序列編號：7) 等連結子。連結子之重複數不限定，可從 1~10、較佳為 2~8、更佳為 2~6 之數選擇，亦即可適當插入由 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 的重複構成的 Gly·Gly·Gly·Gly·Ser(序列編號：7) 等連結子。

再者，當製作構成 CD3 結合域之重鏈 Fv 片段連結於構成 Fc 區域其中之一之恆定區之 C 末端 (CH3 域)，且構成 CD3 結合域之輕鏈 Fv 片段連結於構成 Fc 區域之另一恆定區之 C 末端 (CH3 域) 而成的多胜肽聯合體時，為了強化該重鏈 Fv 片段與輕鏈 Fv 片段之組合，可以適當實施使該重鏈 Fv 片段與輕鏈 Fv 片段間形成雙硫鍵的胺基酸殘基的改變。

於另一態樣中，當製作構成 CD3 結合域之重鏈 Fv 片段連結於構成 Fc 區域其中之一之恆定區之 C 末端 (CH3 域)，且構成 CD3 結合域之輕鏈 Fv 片段連結於構成 Fc 區域之又一恆定區之 C 末端 (CH3 域) 而成的多胜肽聯合體時，為了強化該重鏈 Fv 片段與輕鏈 Fv 片段之組合，可對於該重鏈 Fv 片段與輕鏈 Fv 片段分別連結抗體之 CH1 域及 CL 域。

於又另一態樣中，為了於該抗體構造結合二價之 CD3 結合域，可將該抗體構造之二個輕鏈恆定區之各 C 末端或輕鏈可變區之各 N 末端經由胜肽鍵而結合各一價之 CD3 結

合域。又，為了於該抗體構造結合二價之 CD3 結合域，可於二個輕鏈恆定區之各 C 末端或輕鏈可變區之各 N 末端經由胜肽鍵結合二價之 scFv 即 $sc(Fv)_2$ 。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體為起源之 Fc 區域，可以有效取得該抗體構造之二個輕鏈可變區其中之一的輕鏈可變區之 C 末端或 N 末端結合有二價之 scFv 即 $sc(Fv)_2$ 之多胜肽聯合體。又，為了於該抗體構造結合一價之 CD3 結合域，可於二個輕鏈可變區其中之一之輕鏈可變區之 C 末端或 N 末端經由胜肽鍵結合一價之 scFv。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體為起源之 Fc 區域，可以有效率地取得該抗體構造之二個輕鏈可變區其中之一之輕鏈可變區之 N 末端或 C 末端結合有一價之 scFv 之本發明之多胜肽聯合體。

於另一態樣，為了於該抗體構造結合二價之 CD3 結合域，可於該抗體構造之二個重鏈可變區之各 N 末端經由胜肽鍵各結合一價之 CD3 結合域。又，為了於該抗體構造結合二價之 CD3 結合域，可於二個重鏈可變區其中之一之重鏈可變區之 N 末端經由胜肽鍵結合二價之 scFv 即 $sc(Fv)_2$ 。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體為起源之 Fc 區域，可以有效率地取得僅於該抗體構造之二個重鏈可變區其中之一之重鏈可變區之 N 末端結合有二價之 scFv 即 $sc(Fv)_2$ 之多胜肽聯合體。又，為了於該抗體構造結合一價之 CD3 結合域，可於二個重鏈可變區其中之一之重鏈可變區之 N 末端經由胜肽鍵結合一價之 scFv。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體為起源之 Fc 區域，可以有效

率的取得該抗體構造之二個重鏈可變區其中之一之重鏈可變區之 N 末端結合有一價之 scFv 的本發明之多胜肽聯合體。

又，製作上述多胜肽聯合體時，各域直接以胜肽鍵結合以外，各域也可經由胜肽連結子以胜肽鍵結合。於該情形採用之連結子，除了上述記載例示之連結子以外，也可適當使用例如具 His 標籤、HA 標籤、myc 標籤、FLAG 標籤等胜肽標籤之連結子。又，也可適當利用氫鍵、雙硫鍵、共價鍵、離子性交互作用或該等結合的組合而彼此結合之性質。例如，可利用抗體之 CH1 與 CL 間之親和性，將異 Fc 區域組合時使用前述以雙專一性抗體為起源之 Fc 區域。再者，如實施例所記載，也可適當利用於域間形成之雙硫鍵。

本發明之多胜肽聯合體之其他構造，例如也可適當使用(1)抗原結合域為一價之 Fv 及一價之 Fab 構造。於該情形，可藉由於構成本發明之多胜肽聯合體之(2)對於 Fc γ 受體之結合活性降低的二個 Fc 區域其中之一 Fc 區域經由胜肽鍵連結的重鏈 CH1 區域經由胜肽鍵連結一價之 Fv 中之重鏈 Fv 片段(VH)或輕鏈 Fv 片段(VL)，並且於該重鏈 CH1 區域經由雙硫鍵結合之輕鏈 CH 區經由胜肽鍵連結一價之 Fv 中另一 VL 或 VH 片段，使用藉此於重鏈 CH1 區域及輕鏈 CL 區域之末端結合之 VH 及 VL 形成抗體結合域之構造。二個 Fc 區域之中上述不同的另一 Fc 區域之 N 末端可經由胜肽鍵連結(1)抗體結合域、及(3)形成 CD3 結合域之

sc(Fv)₂。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體當做起源之 Fc 區域，可製作構成該多胜肽聯合體之二個 Fc 區域其中之一的 Fc 區域經由胜肽鍵結合有重鏈 CH1 區域，於另一 Fc 區域經由胜肽鍵連結有 sc(Fv)₂ 的多胜肽聯合體。上述多胜肽聯合體在製作時，各域可以直接胜肽鍵結合，此外各域也可以經由胜肽連結子之胜肽鍵結合。於該情形，採用之連結子除上述記載例示之連結子以外，也可適當使用具例如 His 標籤、HA 標籤、myc 標籤、FLAG 標籤等胜肽標籤之連結子。

本發明之多胜肽聯合體之另一構造，例如宜使用(1)二價之 scFv 構造當做抗原結合域。如此構造之態樣，可以製作具以下構造的多胜肽聯合體：二價之 scFv 其中之一為(3)經由構成 CD3 結合域之 VH 而於(2)對於 Fc γ 受體之結合活性降低之二個 Fc 區域其中之一之 Fc 區域以胜肽鍵連結，並且二價之 scFv 其中另一者經由(3)構成 CD3 結合域之 VL 而以(2)胜肽鍵連結於對於 Fc γ 受體之結合活性降低之二個 Fc 區域其中另一 Fc 區域。於該情形，可使用前述以雙專一性抗體當做起源之 Fc 區域。製作上述多胜肽聯合體時，各域可直接胜肽鍵結合，此外，各域可以經由胜肽連結子之胜肽鍵結合。於該情形，採用之連結子除了上述記載例示之連結子以外，也可適當使用具例如 His 標籤、HA 標籤、myc 標籤、FLAG 標籤等胜肽標籤之連結子。

(1)使用二價之 scFv 當做抗原結合域之構造之另一態樣，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：二價之 scFv 其中

之一 (3)經由構成 CD3 結合域之 scFv 而以胜肽鍵連結於(2)對於 Fc γ 受體之結合活性降低之二個 Fc 區域其中之一之 Fc 區域，且二價之 scFv 其中另一者以胜肽鍵連結於(2)對於 Fc γ 受體之結合活性降低之二個 Fc 區域之中另一 Fc 區域。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體當做起源之 Fc 區域，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成該多胜肽聯合體之二個 Fc 區域其中之一之 Fc 區域經由構成 CD3 結合域之 scFv 經由胜肽鍵連結有構成抗原結合域之 scFv，於另一 Fc 區域以胜肽鍵連結有構成抗原結合域之 scFv。製作上述多胜肽聯合體時，各域除以直接胜肽鍵結合以外，各域也可經由胜肽連結子之胜肽鍵結合。於該情形採用之連結子除上述例示之連結子以外，也可適當使用具例如 His 標籤、HA 標籤、myc 標籤、FLAG 標籤等胜肽標籤之連結子。

本發明之多胜肽聯合體之另一構造，例如可適當使用抗原結合域及 T 細胞受體複合體結合域各為一價之 Fab 構造者。如此構造之態樣，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成抗原結合域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽、該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結、構成 T 細胞受體結合域之 Fab 之重鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽、該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結。

就如此構造之另一態樣而言，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成抗原結合域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段

經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽、該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結、構成 T 細胞受體結合域之 Fab 之輕鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽、該 Fab 之重鏈 Fv 片段與 CL 區域連結。又，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成 T 細胞受體結合域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽、該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結、構成抗原結合域之 Fab 之輕鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽、該 Fab 之重鏈 Fv 片段與 CL 區域連結。

再者，如此構造之另一態樣，可製作具以下構造之多胜肽聯合體：構成抗原結合域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽、該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結、構成 T 細胞受體結合域之 Fab 之重鏈 Fv 片段經由 CL 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽、該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CH1 區域連結。又，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成 T 細胞受體結合域之一價之 Fab 之重鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之其中之一之多胜肽、該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結、構成抗原結合域之 Fab 之重鏈 Fv 片段經由 CL 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽、該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CH1 區域連結。

本發明之多胜肽聯合體之其他構造、抗原結合域及 T 細胞受體複合體結合域各為一價之 Fab 構造之一態樣，較

佳為如下的多胜肽，包含：

(1) 抗原結合域，其係與抗原結合之一價之 Fab 構造之重鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成前述 Fc 區域之其中之一之多胜肽、該 Fab 構造之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，及

(2) T 細胞受體複合體結合域，其係與 T 細胞受體複合體結合之一價之 Fab 構造之重鏈 Fv 片段經由 CH1 區域而連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽、該 Fab 構造之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，

且 CH1 區域與 CL 區域之電荷受控制，以使得抗原結合域中之重鏈 Fv 片段與抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段或 T 細胞受體結合域中之重鏈 Fv 片段與 T 細胞受體結合域中之輕鏈 Fv 片段組合。本態樣中，控制 CH1 區域與 CL 區域之電荷，使得抗原結合域中之重鏈 Fv 片段與抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段或 T 細胞受體結合域中之重鏈 Fv 片段與 T 細胞受體結合域中之輕鏈 Fv 片段組合即可，其多胜肽聯合體之構造(組合控制構造)不限於特定之一構造。

該組合控制構造之一態樣，可製作該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷之多胜肽聯合體。

該組合控制構造之另一態樣，可製作該抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及 T 細胞受體複合體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺

基酸殘基彼此具同種電荷之多胜肽聯合體。

該組合控制構造之又另一態樣，可製作該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及 T 細胞受體複合體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷之多胜肽聯合體。

又，該組合控制構造之一態樣，可製作該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該 T 細胞受體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有異種電荷之多胜肽聯合體。

又，該組合控制構造之另一態樣，可製作該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該 T 細胞受體複合體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該 T 細胞受體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基

彼此具有異種電荷之多胜肽聯合體。

又，該組合控制構造之一態樣可製作該抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該 T 細胞受體複合體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具異種電荷之多胜肽聯合體。

再者，該組合控制構造之另一態樣，可製作該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該 T 細胞受體複合體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具異種電荷之多胜肽聯合體。

又，就該組合控制構造之不同態樣，可製作該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該 T 細胞受體複合體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸

殘基彼此具同種電荷，且該 T 細胞受體複合體結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及該 T 細胞受體結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具異種電荷，且抗原結合域中之重鏈 Fv 片段所連結之 CH1 區域之胺基酸殘基及抗原結合域中之輕鏈 Fv 片段所連結之 CL 區域之胺基酸殘基彼此具有異種電荷之多胜肽聯合體。

CH1 區域與 CL 區域之電荷之控制

欲取得由 T 細胞受體結合域之重鏈與輕鏈認識 T 細胞受體結合域之抗原決定基，且由抗原結合域之重鏈與輕鏈認識抗原之抗原決定基的雙專一性多胜肽聯合體時，在生產該多胜肽聯合體時，若使 4 種各別的鏈表現，理論上會產生 10 種多胜肽聯合體分子。

於此情形，例如若控制使抑制 T 細胞受體結合域之重鏈與抗原結合域之輕鏈及 / 或抗原結合域之重鏈與 T 細胞受體結合域之輕鏈間之組合，則可優先取得所望之多胜肽聯合體分子。

例如，將形成 T 細胞受體結合域之重鏈 CH1 與抗原結合域之輕鏈 CL 間之界面的胺基酸殘基改變為具正電荷之胺基酸殘基，將形成抗原結合域之重鏈 CH1 與 T 細胞受體結合域之輕鏈 CL 間之界面的胺基酸殘基改變為具負電荷之胺基酸殘基之例。藉由該改變，由於非目的之 T 細胞受體結合域之重鏈 CH1 與抗原結合域之輕鏈 CL 之組合，由於形成界面之胺基酸殘基均為正電荷故受抑制，非目的之抗

原結合域之重鏈 CH1 與 T 細胞受體結合域之輕鏈 CL 之組合，由於形成界面之胺基酸殘基均為負電荷故受抑制。其結果，可以有效率地取得產生目的之 T 細胞受體結合域之重鏈 CH1 與 T 細胞受體結合域之輕鏈 CL 之組合及目的之抗原結合域之重鏈 CH1 與抗原結合域之輕鏈 CL 之組合的本發明之多胜肽聯合體。又，較佳為目的之 T 細胞受體結合域之重鏈與 T 細胞受體結合域之輕鏈之間的組合，由於形成界面之胺基酸殘基彼此具有異種電荷而促進，目的之抗原結合域之重鏈與抗原結合域之輕鏈間的組合由於形成界面之胺基酸殘基彼此具有異種電荷而促進。其結果，可以有效率地取得產生目的之組合的本發明之多胜肽聯合體。

又，藉由利用本發明之組合控制，可抑制 CH1 彼此 (T 細胞受體結合域之重鏈與抗原結合域之重鏈)、或 CL 彼此 (T 細胞受體結合域之輕鏈與抗原結合域之輕鏈) 之組合。

若為該技術領域之人士，可針對欲以本發明控制組合之所望多胜肽聯合體，適當知曉組合時接近 CH1 與 CL 之界面的胺基酸殘基的種類。

又，該技術領域之人士可以利用公共的資料庫適當取得人類、猴、小鼠及兔等生物中可利用為抗體之 CH1 或 CL 的序列。更具體而言，可以後述實施例記載之手段取得 CH1 或 CL 之胺基酸序列資訊。

例如，如後述實施例所示，當 T 細胞受體結合域或構成抗原結合域之 VH 及 VL 所分別連結之 CH1 與 CL 組合時，接近(相對或接觸)CH1 與 CL 之界面的胺基酸殘基，就具體

例而言例如以下組合。

- CH1 之 EU 編號 147 位(例如序列編號:1 記載之胺基酸序列中的 147 位)之離胺酸(K)，及相對(接觸)之 CL 之 EU 編號 180 位之蘇胺酸(T)
- CH1 之 EU 編號 147 位之離胺酸(K)、與相對(接觸)之 CL 之 EU 編號 131 位之絲胺酸(S)
- CH1 之 EU 編號 147 位之離胺酸(K)、與相對(接觸)之 CL 之 EU 編號 164 位之蘇胺酸(T)
- CH1 之 EU 編號 147 位之離胺酸(K)、與相對(接觸)之 CL 之 EU 編號 138 位之天冬醯胺(N)
- CH1 之 EU 編號 147 位之離胺酸(K)、與相對(接觸)之 CL 之 EU 編號 123 位之麩胺酸(E)
- CH1 之 EU 編號 175 位之麩醯胺(Q)、與相對(接觸)之 CL 之 EU 編號 160 位之麩醯胺(Q)
- CH1 之 EU 編號 213 位之離胺酸(K)、與相對(接觸)之 CL 之 EU 編號 123 位之麩胺酸(E)

又，針對該等部位之編號法，係參考 Kabat 等人之文獻(Kabat EA et al. 1991. Sequence of Proteins of Immunological Interest. NIH)。

又，本發明中，記載為 EU 編號之編號，係依 EU numbering(Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication No.91-3242)記載。又，本發明中，「EU 編號 X 位之胺基酸殘基」、「EU 編號 X 位之胺基酸」(X 為任意數)，也可說成「相當於 EU 編號 X 位之胺

氨基酸殘基」、「相當於 EU 編號 X 位之胺基酸」。

如後述實施例所示，藉由改變該等胺基酸殘基並實施本發明之方法，可優先取得所望之多胜肽聯合體。

該等胺基酸殘基已知在人類及小鼠係高度保守 (J. Mol. Recognit. (2003) 16, 113-120)，故針對實施例所示之多胜肽聯合體以外之 CH1 與 CL 之組合，也可藉由改變對應於上述胺基酸殘基之胺基酸殘基，而控制本發明之多胜肽聯合體之恆定區之組合。

即本發明提供一種多胜肽聯合體，其係重鏈與輕鏈之組合受控制之多胜肽聯合體，且由以下(a)~(f)所示胺基酸殘基之組合構成的群組中選出的 1 組或 2 組以上的胺基酸殘基具同種電荷；

(a)CH1 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及 CL 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 180 位之胺基酸殘基、

(b)CH1 所含之胺基酸殘基且 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及 CL 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 131 位之胺基酸殘基、

(c)CH1 所含之胺基酸殘基且 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及 CL 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 164 位之胺基酸殘基、

(d)CH1 所含之胺基酸殘基且 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及 CL 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 138 位之胺基酸殘基、

(e)CH1 所含之胺基酸殘基且 EU 編號 147 位之胺基酸殘基、及 CL 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 123 位之胺基酸殘基、

(f)CH1 所含之胺基酸殘基且 EU 編號 175 位之胺基酸殘基、

及 CL 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 160 位之胺基酸殘基。

本發明之另一態樣提供一種抗體，其中，以下(g)所示之胺基酸殘基之組合的胺基酸殘基具同種電荷；

(g)CH1 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 213 位之胺基酸殘基、及 CL 所含之胺基酸殘基且為 EU 編號 123 位之胺基酸殘基。

上述組合記載之各胺基酸殘基，如後述實施例所示，在組合時彼此係接近。該技術領域之人士可針對所望之 CH1 或 CL，使用市售軟體的同源性模擬(homology modeling)等，可以發現上述(a)～(g)記載之胺基酸殘基所對應之部位，並適當改變該部位之胺基酸殘基。

上述抗體中「具電荷之胺基酸殘基」，例如從以下(X)或(Y)任一群組所含之胺基酸殘基中選出較佳；

(X)麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)、

(Y)離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

上述多胜肽聯合體中，「具同種電荷」，係指例如 2 個以上之胺基酸殘基中任一者具上述(X)或(Y)中任一群組所含之胺基酸殘基。「具相反電荷」，係指例如 2 個以上之胺基酸殘基當中至少 1 個胺基酸殘基具有上述(X)或(Y)中任一群組所含之胺基酸殘基時，另一胺基酸殘基具有不同群組所含之胺基酸殘基。

又，上述多胜肽聯合體之製造方法、及改變使上述(a)～(g)所示胺基酸殘基之群組之胺基酸殘基為具同種電荷之胺基酸殘基之本發明之組合控制方法亦為本發明之較佳

態樣。

本發明中，供「改變」之胺基酸殘基，不限於上述恆定區之胺基酸殘基。若為該技術領域之人士，可針對多胜肽突變體或異種多聚體，使用市售軟體之同源性模擬，發現形成界面之胺基酸殘基，並以控制組合之方式改變該部位之胺基酸殘基。

於在重鏈可變區與輕鏈可變區之界面導入電荷排斥而抑制非目的之重鏈與輕鏈之組合的技術，於重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)之界面接觸之胺基酸殘基，例如重鏈可變區 FR2 之 39 位(例如 W02006/106905 中記載為序列編號：6 之胺基酸序列中的 39 號)之麩醯胺(Q)、及相對(接觸)之輕鏈可變區 FR2 之 38 位(例如 W02006/106905 中記載為序列編號：8 之胺基酸序列的 44 號)之麩醯胺(Q)。再者，重鏈可變區 FR2 之 45 位(例如 W02006/106905 中記載為序列編號：6 之胺基酸序列中的 45 號)之白胺酸(L)、與相對之輕鏈可變區 FR2 之 44 位(例如 W02006/106905 中記載為序列編號：8 之胺基酸序列中的 50 號)之脯胺酸(P)為理想例。又，針對該等部位之編號法，係參考 Kabat 等人的文獻(Kabat EA et al. 1991. Sequence of Proteins of Immunological Interest. NIH)。

該等胺基酸殘基已知於人類及小鼠係高度保守 (J. Mol. Recognit. (2003) 16, 113-120)，故針對實施例所示之多胜肽聯合體以外之 VH 與 VL 之組合，也可藉由改變上述胺基酸殘基所對應的胺基酸殘基，而控制抗體之可變

區之組合。

更具體而言，含重鏈可變區及輕鏈可變區之抗體中，可獲以下(1)與(2)、或(3)與(4)之胺基酸殘基為具同種電荷之胺基酸殘基的抗體；

(1)為重鏈可變區所含之胺基酸殘基且為相當於 EU 編號 39 位之胺基酸殘基、

(2)為輕鏈可變區所含之胺基酸殘基且為相當於 EU 編號 38 位之胺基酸殘基、

(3)為重鏈可變區所含之胺基酸殘基且為相當於 EU 編號 45 位之胺基酸殘基、

(4)為輕鏈可變區所含之胺基酸殘基且為相當於 EU 編號 44 位之胺基酸殘基。

上述(1)與(2)、(3)與(4)記載之各胺基酸殘基在組合時彼此係接近。該技術領域之人士針對所望之重鏈可變區或輕鏈可變區，可使用市售軟體的同源性模擬，而找出上述(1)～(4)記載之胺基酸殘基所對應的部位，並適當改變該部位之胺基酸殘基。

上述抗體中，「具電荷之胺基酸殘基」，例如從以下(X)或(Y)中任一群組所含之胺基酸殘基選擇較佳；

(X)麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)、

(Y)離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

上述(1)～(4)記載之胺基酸殘基，通常在人類及小鼠中分別為

(1)麩醯胺(Q)、

(2) 麩醯胺 (Q)、

(3) 白胺酸 (L)、

(4) 脯胺酸 (P)

。因此，本發明之較佳態樣中，該等胺基酸殘基可供改變（例如取代為電荷胺基酸）。又，上述(1)～(4)之胺基酸殘基之種類不一定限於上述胺基酸殘基，也可為相當於該胺基酸之其他胺基酸。例如相當於輕鏈可變區上之 EU 編號 38 位的胺基酸，於人類時，例如可為組胺酸 (H)。該技術領域之人士可藉由參考公知文獻等（例如 J. Mol. Recognit. (2003) 16, 113-120），而針對輕鏈之任意位置得知相當於該位置之胺基酸殘基之種類，並適當針對該胺基酸殘基進行改變（例如取代為電荷胺基酸）。

於將重鏈可變區與輕鏈可變區之界面存在之形成疏水性核的胺基酸殘基改變為具電荷之極性胺基酸，並抑制非目的之重鏈與輕鏈之組合之技術，就在重鏈可變區 (VH) 與輕鏈可變區 (VL) 之界面可形成疏水性核之胺基酸殘基而言，例如重鏈可變區上之 45 位之白胺酸 (L)、與相對之輕鏈可變區上之 44 位之脯胺酸 (P) 為理想例。

一般而言，「疏水性核 (hydrophobic core)」，係指在組合的多胜肽的內側聚集疏水性胺基酸之側鏈而形成之部分。疏水性胺基酸例如包含丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、纈胺酸等。又，疏水性核之形成，有時會與疏水性胺基酸以外之胺基酸殘基（例如酪胺酸）相關。該疏水性核與親水性胺基酸之側鏈

露於外側的親水性表面，一起成為促進水溶性多胜肽組合之驅動力。若有不同的 2 個域的疏水性胺基酸存在分子表面並暴露於水分子，則熵 (Entropy) 增大，自由能增大。因此，為了使 2 個域的自由能減少並穩定化，會彼此組合，且界面之疏水性胺基酸會埋入分子內部，而形成疏水性核。

發生多胜肽組合時，藉由將形成疏水性核之疏水性胺基酸改變為帶電荷之極性胺基酸，可抑制疏水性核形成，其結果據認為將會抑制多胜肽之組合。

本發明之多胜肽聯合體可以更適用其他公知技術。例如以促進第一 VH(VH1) 與第一 VL(VL1)、及/或第二 VH(VH2) 與第二 VL(VL2) 之組合之方式，除了本發明之「改變」，再將其中一 H 鏈之可變區存在之胺基酸側鏈取代為較大側鏈(knob; 突起)，並將另一 H 鏈之相對可變區存在之胺基酸側鏈取代為較小側鏈(hole; 空隙)，藉此將突起配置於空隙，而促進 VH1 與 VL1、及/或 VH2 與 VL2 之組合，其結果可進一步抑制 VH1 與 VL2、及/或 VH2 與 VL1 之多胜肽間之組合 (W01996/027011、Ridgway JB et al., Protein Engineering (1996) 9, 617-621、Merchant AM et al. Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681)。

製作上述多胜肽聯合體時，除了將各域直接以胜肽鍵結合以外，也可將各域以經由胜肽連結子之胜肽鍵結合。於該情形，採用之連結子除了上述例示之連結子以外，可以適當使用具例如 His 標籤、HA 標籤、myc 標籤、FLAG 標籤等胜肽標籤之連結子。又，氫鍵、雙硫鍵、共價鍵、離

子性交互作用或該等結合的組合而彼此結合之性質也可適當利用。例如可利用抗體之 CH1 與 CL 間之親和性，或於異 Fc 區域之組合時使用前述以雙專一性抗體當做起源之 Fc 區域。再者，如實施例所記載，域間形成之雙硫鍵也可適當利用。

本發明之多胜肽聯合體，例如圖 17、圖 19 及圖 24 記載之態樣。

本發明之多胜肽聯合體可依照與前述重組抗體之製造方法相同手法製作。

又，本發明係關於編碼為本發明之多胜肽聯合體之聚核苷酸。本發明之多胜肽聯合體可以納入任意的表現載體。於表現載體將適當寄主轉形，可製成多胜肽聯合體之表現細胞。培養多胜肽聯合體之表現細胞，並從培養上清液回收表現產物，則可與得該聚核苷酸所編碼之多胜肽聯合體。即本發明係關於含編碼為本發明之多胜肽聯合體之聚核苷酸的載體、保持該載體之細胞、及包含培養該細胞並從培養上清液回收多胜肽聯合體之步驟的多胜肽聯合體之製造方法。該等可以依照與例如前述重組抗體為同樣的手法獲得。

醫藥組成物

於其他觀點，本發明提供一種包含多胜肽聯合體當做有效成分之醫藥組成物，該多胜肽聯合體包含：(1)抗原結合域、(2)含對於 Fc γ 受體之結合活性降低之 Fc 區域的域、及(3)CD3 結合域。又，本發明係關於包含該聯合體當

做有效成分之誘導細胞傷害之治療劑(細胞傷害誘導治療劑)、細胞增殖抑制劑及抗癌劑。本發明之醫藥組成物也可當做癌症治療劑或癌預防劑。本發明之細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑，宜對於罹癌之對象或有再發之可能性的對象投予。

又，本發明中，包含

(1)抗原結合域、

(2)含對於Fc γ 受體之結合活性降低之Fc區域之域、及

(3)CD3結合域、

的多胜肽聯合體為有效成分之細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑，可在包含將該多胜肽聯合體對於對象投予之步驟的預防或治療癌症之方法、或製造細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑時，使用及表現該多胜肽聯合體。

本發明中，「包含(1)抗原結合域、(2)含對於Fc γ 受體之結合活性降低之Fc區域之含、及(3)CD3結合域、之多胜肽聯合體為有效成分」，係指含有該多胜肽聯合體當做主要的活性成分，並不限制該多胜肽聯合體之含有率。

再者，本發明之醫藥組成物、或細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑中，可視需要摻合多種類之多胜肽聯合體。例如利用製成與相同抗原結合之多數之本發明之多胜肽聯合體之雞尾酒，有可能強化對於表現該抗原之細胞的細胞傷害作用。或除了含有對於一個抗原之抗原結合域的本發明之多胜肽聯合體以外，更摻合含有其他與癌

抗原結合之抗原結合域的本發明之多胜肽聯合體，可提高治療效果。

又，視需要可將本發明之多胜肽聯合體包封入微膠囊（羥基甲基纖維素、明膠、聚[甲基甲基丙烯酸]等微膠囊）、膠體藥劑運送系（微脂體、白蛋白微球體、微乳劑、奈米粒子及奈米膠囊等）（參照 "Remington's Pharmaceutical Science 16th edition", Oslo Ed. (1980)等）。再者，藥劑製成緩釋性藥劑之方法亦為公知，該方法可適用在本發明之多胜肽聯合體（J.Biomed.Mater.Res. (1981) 15, 267-277、Chemtech. (1982) 12, 98-105、美國專利第 3773719 號、歐洲專利公開公報 EP58481 號・EP133988 號、Biopolymers (1983) 22, 547-556）。

本發明之醫藥組成物、或細胞增殖抑制劑及抗癌劑，可經口、非經口投予任一者對於患者投予。較佳為非經口投予。該投予方法具體而言例如注射投予、經鼻投予、經肺投予、經皮投予等。注射投予例如靜脈內注射、肌肉內注射、腹腔內注射、皮下注射等。例如以注射投予可將本發明之醫藥組成物、或細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑全身或局部投予。又，可依患者年紀、症狀選擇適當投予方法。投予量例如一次投予體重每 1 kg 可從 0.0001 mg 至 1000 mg 之範圍選擇投予量。或，可從例如每位患者在 0.001 mg/體重至 100000 mg/體重的範圍選擇投予量。但是本發明之醫藥組成物不限於該等投予量。

本發明之醫藥組成物可依常法製劑化（例如

Remington's Pharmaceutical Science, latest edition, Mark Publishing Company, Easton, U.S.A), 也可同時含有醫藥上可容許之擔體或添加物。例如界面活性劑、賦形劑、著色料、著香料、保存料、安定劑、緩衝劑、懸浮劑、等張化劑、黏結劑、崩散劑、潤滑劑、流動性促進劑、矯味劑等。又，不限於該等，可適當使用其他常用的擔體。具體而言，例如：輕質矽酸酐、乳糖、結晶纖維素、甘露醇、澱粉、羧甲纖維素鈣、羧甲纖維素鈉、羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、聚乙烯縮醛二乙基胺基乙酸酯、聚乙烯吡咯烷酮、明膠、中鏈脂肪酸三甘油酯、聚氧乙烯硬花蓖麻子油 60、白糖、羧甲纖維素、玉米澱粉、無機鹽類等可當做擔體。

又，本發明提供藉由使某癌抗原表現細胞與與該癌抗原結合之本發明之多胜肽聯合體接觸，引起該癌抗原表現細胞之傷害之方法、或抑制細胞增殖之方法。與該癌抗原結合之單株抗體，就含有本發明之細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑之與該癌抗原結合之本發明之多胜肽聯合體如上述。該與癌抗原結合之本發明之多胜肽聯合體所結合之細胞，只要是表現該癌抗原之細胞即不特別限定。本發明中較佳之該癌抗原表現細胞，具體而言例如卵巢癌、前列腺癌、乳癌、子宮癌、肝癌、肺癌、胰臟癌、胃癌、膀胱癌、及大腸癌細胞等。癌抗原為 GPC3 場合時，只要是表現 GPC3 之癌細胞即不限定，但例如肝細胞癌、肺癌、卵巢癌等為理想的癌細胞。

本發明中，「接觸」係藉由在例如試驗管內培養之癌抗原表現細胞之培養液中添加該與癌抗原結合之本發明之多胜肽聯合體而實行。於該情形，添加之多胜肽聯合體之形狀，可適當使用溶液或由冷凍乾燥等獲得之固體等形狀。以水溶液添加時，可為純粹僅含本發明之多胜肽聯合體之水溶液，也可為含例如上述記載之界面活性劑、賦形劑、著色料、著香料、保存料、安定劑、緩衝劑、懸浮劑、等張化劑、黏結劑、崩散劑、潤滑劑、流動性促進劑、矯味劑等之溶液。添加濃度不特別限定，就培養液中之最終濃度而言，較佳為 1 pg/ml 至 1 g/ml 之範圍，更佳為 1 ng/ml 至 1 mg/ml，又更佳為於 1 μ g/ml 至 1 mg/ml。

又，本發明中，「接觸」在另一態樣中，也可藉由對於將癌抗原表現細胞移植到體內之非人類動物，或內在具表現該癌抗原之癌細胞的動物投予而實行。投予方法可以利用經口、非經口投予任一者實施。特佳為非經口投予的投予方法，該投予方法具體而言，例如注射投予、經鼻投予、經肺投予、經皮投予等。注射投予如靜脈內注射、肌肉內注射、腹腔內注射、皮下注射等。例如利用注射投予可將本發明之醫藥組成物、或細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑對全身或局部投予。又，可由待驗動物年紀、症狀選擇適當投予方法。以水溶液投予時，可為純粹僅含本發明之多胜肽聯合體之水溶液，也可為含有例如上述記載之界面活性劑、賦形劑、着色料、著香料、保存料、安定劑、緩衝劑、懸浮劑、等張化劑、黏結劑、崩

散劑、潤滑劑、流動性促進劑、矯味劑等之溶液。投予量例如一次投予體重每 1 kg 可從 0.0001 mg 至 1000 mg 之範圍選擇投予量。或，可從例如每位患者在 0.001 mg/體重至 100000 mg/體重的範圍選擇投予量。但是本發明之多胜肽聯合體不限於該等投予量。

由於本發明之多胜肽聯合體之接觸引起表現構成該多胜肽聯合體之抗原結合域所結合之抗原的細胞中的細胞傷害的評價或測定方法，可適當使用以下方法。就於試管內評價或測定該細胞傷害活性之方法而言，例如細胞傷害性 T 細胞活性等測定法。本發明之多胜肽聯合體是否具 T 細胞性傷害活性，可以利用公知方法測定(例如 Current protocols in Immunology, Chapter 7. Immunologic studies in humans, Editor, John E, Coligan et al., John Wiley & Sons, Inc., (1993)等)。活性測定時，使用與本發明其抗原結合域所結合之抗原為不同之抗原且與試驗使用之細胞未表現之抗原結合之多胜肽聯合體，與本發明之多胜肽聯合體同樣當做對照，藉由本發明之多胜肽聯合體比起當做對照使用之多胜肽聯合體顯示較強細胞傷害活性，可以判定活性。

又，為了於活體內評價或測定細胞傷害活性，例如將表現構成本發明之多胜肽聯合體之抗原結合域所結合之抗原的細胞，移植到非人類待驗動物之皮內或皮下後，於當日或次日起每日或數日間隔將待驗多胜肽聯合體對於靜脈或腹腔內投予。藉由經日測定腫瘤大小，可以將該腫瘤大

小的變化的差異規定為細胞傷害活性。與試管內的評價同樣投予成為對照之多胜肽聯合體，本發明之多胜肽聯合體之投予群中，腫瘤大小比起對照多胜肽聯合體之投予群中之腫瘤大小顯著為小時，可判定具細胞傷害活性。

本發明之多胜肽聯合體之接觸對於表現構成該多胜肽聯合體之抗原結合域所結合之抗原的細胞增殖的抑制效果其評價或測定方法，可理想地使用經放射線同位素標定的胸腺嘧啶攝入細胞之測定或 MTT 法。又，就評價或測定於活體內之細胞增殖抑制活性的方法而言，可以理想地使用與上述記載於活體內評價或測定細胞傷害活性之方法為相同之方法。

又，本發明提供用於在本發明之方法使用的套組，其包含本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法製造之多胜肽聯合體。該套組中可以更包裝有藥學上可容許之擔體、介質、記載使用方法之指示書等。

又，本發明係關於本發明之方法使用之本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法所製造之多胜肽聯合體。

又，本說明書引用的所有先前技術文獻，當做參照納入於本說明書。

【實施例】

以下以實施例更詳細說明本發明，但該等實施例並不限制本發明之範圍。

[實施例 1]GPC3 ERY2 之製作與探討

(1) 大概內容

延長對於活體內投予之蛋白質之血中半衰期之方法，已知有於目的蛋白質附加抗體之 Fc 域，利用經由 FcRn 之再回收機能之方法。但此時，若將天然型 Fc 加成於 BiTE，則一分子會經由 BiTE 部分之抗 CD3 scFv 而與 T 細胞結合，同時由於經由 Fc 部分與 NK 細胞、巨噬體等細胞膜上之 FcγR(Fc γ 受體)結合，而癌抗原非依存的將該等細胞交聯而活化，據認為可能會誘導各種細胞激素。所以，製作對於 BiTE 經由多胜肽連結子連結對 Fc γ 受體之結合活性降低之 Fc 區域(靜默型 Fc)而得之分子、ERY2，並實施其活性與 BiTE 比較之驗證。藉由將對於肝臟癌細胞中已知為高表現之 GPI 固定子蛋白質 Glypican 3(GPC3)之抗體之 scFv 與對於 CD3 epsilon 之抗體之 scFv 以短胜肽連結子連結，以製作對抗 GPC3 之 BiTE(GPC3 BiTE)(圖 17A)。接著，製作於其連結靜默型 Fc 而成之對抗 GPC3 之 ERY2(GPC3 ERY2)(圖 17C)。又，製作當做比較之通常之 IgG 型抗 GPC3 抗體。此時，將 IgG 型抗 GPC3 抗體製作為已知 ADCC 活性會更增強，製作糖鏈部分的岩藻糖含量減低之抗體、亦即低岩藻糖型抗體。

(2) GPC3 BiTE 之製作

藉由以抗 GPC3 抗體之表現載體當做模板，各取得以 PCR 法之放大之編碼為 H 鏈可變區(anti-GPC3 VH)、L 鏈可變區(anti-GPC3 VL)的 cDNA。以附加有適當序列之引子及該 cDNA 為模板的 PCR 法，製作編碼為具將 anti-GPC3 VH

與 anti-GPC3 VL 以重複 Gly · Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：7)3 次之序列構成的連結子連結的胺基酸序列的 anti-GPC3 scFv 的 cDNA 片段。

又，製作具有編碼為抗 CD3 抗體(M12)之 H 鏈可變區(M12 VH)、及 L 鏈可變區(M12 VL)之部分序列之鹼基序列，且其末端序列具互補序列之一連串的寡核苷酸。利用聚合酶反應設計使該等一連串寡核苷酸經由其互補序列部分而連結，且合成相當於該 H 鏈可變區(M12 VH)、及 L 鏈可變區(M12 VL)之聚核苷酸。將該寡核苷酸混合後，以 PCR 法將該等寡核苷酸連結，取得編碼為各可變區之胺基酸序列之 2 條 cDNA。使用以附加有適當的序列之引子及該等 cDNA 為模板的 PCR 法，製作編碼為具將 M12 VL 與 M12 VH 以具有重複 Gly · Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：7)3 次之序列構成的連結子連結的胺基酸序列的編碼為 M12 scFv 的 cDNA 片段。

其次，以加成有適當序列之引子及各編碼為 anti-GPC3 scFv 與 M12 scFv 之 cDNA 片段為模板的 PCR 法，製作將 anti-GPC3 scFv 與 M12 scFv 以 Gly · Gly · Gly · Gly · Ser 序列(序列編號：7)構成之連結子連結，並且編碼為其 C 末端加成有 His 標籤(8 個 His)之(不含於序列編號：33 記載之胺基末端之 19 個胺基酸)胺基酸序列的 cDNA 片段。

藉由以附加適當序列之引子及以編碼為序列編號：33 記載之胺基末端之 19 個胺基酸以外的胺基酸序列的 cDNA 片段當做模板的 PCR 法，製作於該 cDNA 片段之 5' 側附加

編碼為 EcoRI 切斷序列、kozac 序列、及分泌信號序列之鹼基序列，並於其 3' 側附加有 Not I 切斷序列之 cDNA 片段。將該 cDNA 片段以 EcoRI、NotI 切斷，並納入哺乳動物細胞用表現載體，取得 GPC3 BiTE(序列編號：33、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不包含在成熟序列)之表現載體。

將該載體以電穿孔法對於 CHO 細胞 DG44 株進行基因導入。極限稀釋後，於 1 mg/mL Geneticine 存在下培養經基因導入之細胞，藉此單離藥劑耐受性細胞株。使用對於 His 標籤之抗體，對於獲得之細胞株之培養上清液進行西方墨點解析，藉此選擇表現 GPC3 BiTE 之細胞株。

將前述細胞株大量培養所得之培養上清液添加到 SP Sepharose FF 管柱(GE Healthcare 公司)。洗滌該管柱後，將含 GPC3 BiTE 之級分利用 NaCl 之濃度梯度溶出。再將該級分添加到 HisTrap HP 管柱(GE Healthcare 公司)。將該管柱洗滌後，利用咪唑的濃度梯度溶出含 GPC3 BiTE 之級分。將該級分以超過濾膜濃縮後，將濃縮液添加到 Superdex 200 管柱(GE Healthcare 公司)。藉由僅回收單體之 GPC3 BiTE 級分，獲得精製 GPC3 BiTE。

(3)GPC3 ERY2 之製作

以使用與上述方法同樣附加適當序列之引子的 PCR 法、及使用 QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit(Stratagene 公司)之方法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各表現 GPC3 ERY2_Hk(序列編號：34、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、及 GPC3

ERY2_Hh(序列編號：35、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的表現載體。

將該等表現載體同時導入 FreeStyle293-F 細胞 (Invitrogen 公司)，暫時表現 GPC3 ERY2。將獲得之培養上清液添加到 Anti FLAG M2 管柱 (Sigma 公司)，洗滌該管柱後，實施利用 0.1 mg/mL FLAG 胜肽 (Sigma 公司)之溶出。將含 GPC3 ERY2 之級分添加到 HisTrap HP 管柱 (GE Healthcare 公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度之溶出。將含 GPC3 ERY2 之級分以超過濾膜濃縮後，將濃縮液添加到 Superdex 200 管柱 (GE Healthcare 公司)，藉由僅回收該溶出液之單體之 GPC3 ERY2 級分，而獲得精製 GPC3 ERY2。

(4)低岩藻糖型抗 GPC3 抗體之製作

將抗 GPC3 抗體 (W02006/006693 中記載為人類化 GC33 抗體)之表現載體利用電穿孔法對於 GDP 岩藻糖剔除 CHO 細胞 DXB11 株 (Cancer Sci. (2010) 101(10), 2227-33)進行基因導入。極限稀釋後於 0.5 mg/mL Geneticine 存在下培養，以選擇藥劑耐受性株，獲得低岩藻糖型抗 GPC3 抗體表現株。從培養該細胞並製備之培養上清液，利用使用 Hitrap^(R) ProteinA (Pharmacia 公司)之通常之親和性精製，製備抗體級分。其次，將該抗體級分供應使用 Superdex 20026/60 (Pharmacia 公司)之凝膠過濾精製，分取溶出液之單體級分，藉此獲得低岩藻糖型 GPC3 抗體。

(5)使用人類末梢血單核球之細胞傷害活性之測定

(5-1)人類末梢血單核球(PBMC)溶液之製備

使用預先注入 1,000 單位/mL 肝素溶液(novo・heparin 注 5 千單位, novonordisk 公司) 100 μ L 的注射器, 從健康正常人自願者(成人)抽取末梢血 50 mL。將以 PBS(-)稀釋 2 倍後分成為 4 等分的末梢血添加到預先注入 15 mL Ficoll-Paque PLUS 並進行離心操作之 Leucosep 淋巴球分離管(Cat. No. 227290、Greiner bio-one 公司)。將該分離管離心分離(2,150 rpm、10 分鐘、室溫)之後, 分取單核球級分層。以含 10%FBS 之 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(SIGMA 公司、以下 10%FBS/D-MEM)洗滌單核球級分之細胞 1 次後, 將該細胞使用 10%FBS/D-MEM 製備成細胞密度為 4×10^6 /mL。將如此製備的細胞溶液當做人類 PBMC 溶液, 用在以後之試驗。

(5-2)細胞傷害活性之測定

細胞傷害活性係以使用 xCELLigence 即時細胞分析儀(Roche diagnostics 公司)之細胞增殖抑制率評價。標的細胞使用使 SK-HEP-1 細胞株強制表現人類 GPC3 而樹立之 SK-pcal3a 細胞株。將 SK-pcal3a 從培養皿剝離, 接種 100 μ L/井在 E-Plate 96(Roche diagnostics 公司)平板, 使成為 1×10^4 cells/井, 並使用 xCELLigence 即時細胞分析儀開始測定活細胞。隔日從 xCELLigence 即時細胞分析儀取出平板, 於該平板添加製備為各濃度(0.004、0.04、0.4、4 nM)之各抗體 50 μ L。於室溫反應 15 分鐘後, 添加於(5-1)製備之人類 PBMC 溶液 50 μ L(2×10^5 cells/井),

於 xCELLigence 即時細胞分析儀再度放置該平板，開始測定活細胞。反應係於 5%二氧化碳、37℃ 條件下進行，從添加人類 PBMC 72 小時後之細胞指數值，以下式求取細胞增殖抑制率(%)。又，計算使用之細胞指數值，係指常態化使即將抗體添加前之細胞指數值成為 1 後之數值。

$$\text{細胞增殖抑制率(\%)} = (A-B) \times 100 / (A-1)$$

A 為未添加抗體之井中的細胞指數值之平均值(僅有標的細胞與人類 PBMC)，B 代表各井中之細胞指數值之平均值。試驗進行三重複。

以從人類血液製備的 PBMC(Peripheral Blood Mononuclear Cell)當做效應子細胞，測定 GPC3 BiTE、GPC3 ERY2、及 IgG 型 GPC3 抗體之細胞傷害活性，結果認為 GPC3 BiTE 具有極強活性(圖 1)。該活性遠比低岩藻糖型抗 GPC3 抗體強，可認為 GPC3 BiTE 可成為凌駕 IgG 型抗體之優良的癌治療藥。另一方面，GPC3 ERY2 雖觀察到高於 IgG 型抗 GPC3 抗體之活性，但是不及 GPC3 BiTE 之活性。由此，可認為僅是將 Fc 附加於 BiTE，並無法創製目的之分子。
[實施例 2]GPC3 ERY5、GPC3 ERY6、GPC3 ERY7 之製作與碳討

其次，藉由使對於癌抗原(GPC3)之結合域為 2 價，嘗試藉由提高對於癌細胞之結合活性以提高比活性。分別製作於 GPC3 ERY2 更附加 1 個對抗 GPC3 之 scFv 之形式的 GPC3 ERY5(圖 17D)、附加之對抗 GPC3 之結合域不是 scFv 而是 Fab 形式之 GPC3 ERY7(圖 17F)。又，也製作對抗 GPC3 ERY5

之 CD3 epsilon 的 scFv 係兩臂分離之形式的 GPC3 ERY6(圖 17E)。

亦即，依照使用與上述方法同樣附加適當序列之引子的 PCR 法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各編碼為 GPC3 ERY5_Hh、GPC3 ERY6_Hk、GPC3 ERY6_Hh、GPC3 ERY7_Hh、GPC3 ERY7_L 之聚核苷酸的一連串表現載體。

將以下所示組合之表現載體導入 FreeStyle293-F 細胞，使各目的分子暫性表現。

A・目的分子：GPC3 ERY5

由插入於表現載體之聚核苷酸編碼之多胜肽：GPC3 ERY5_Hh(序列編號：36、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY2_Hk

B・目的分子：GPC3 ERY6

由插入於表現載體之聚核苷酸編碼之多胜肽：GPC3 ERY6_Hk(序列編號：37、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY6_Hh(序列編號：38、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)

C・目的分子：GPC3 ERY7

由插入於表現載體之聚核苷酸編碼之多胜肽：GPC3 ERY7_Hh(序列編號：39、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY7_L(序列編號：40、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY2_Hk

將獲得之培養上清液添加到 Anti FLAG M2 管柱(Sigma 公司)，洗滌該管柱後，進行以 0.1 mg/mL FLAG 胜肽(Sigma

公司)所為之溶出。將含目的分子之級分添加到 HisTrap HP 管柱(GE Healthcare 公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度所為之溶出。將含目的分子之級分以超過濾膜濃縮後，將該級分添加到 Superdex 200 管柱(GE Healthcare 公司)，藉由僅回收溶出液之單體級分，獲得經精製之各目的分子。

比較該等多胜肽聯合體與 GPC3 BiTE 的細胞傷害活性。其結果顯示，該等多胜肽聯合體之細胞傷害活性均不及 GPC3 BiTE 之活性 (圖 2~4)。由此，可認為：僅對於 BiTE 之構造、或模仿其之構造附加 Fc，並對於癌抗原以 2 價結合之構成，無法創製目的之分子。

[實施例 3]GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 之製作與探討

(1)GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 之製作

其次，嘗試創製不具 BiTE 之構造而具目的活性之分子。製作以對抗癌抗原(GPC3)之 IgG 當做基本骨架，於其附加對抗 CD3 epsilon 之 scFv 之形式的分子。此時，當做基本骨架之 IgG 之 Fc，與上述情形同樣，係使用對於 FcγR(Fc γ 受體)之結合性減弱的靜默型 Fc。各製作對於 CD3 epsilon 之 scFv 附加於抗 GPC3 抗體 IgG 之 H 鏈之 N 末端之 GPC3 ERY8-2(圖 17G)、附加於 H 鏈之 C 末端的 GPC3 ERY10-1(圖 17I)、附加於 L 鏈之 C 末端的 GPC3 ERY9-1(圖 17H)。

亦即，依照與上述方法附加同樣的適當序列之 PCR 法

等該技術領域之人士公知之方法製作各插入有編碼為 GPC3 ERY8-2_Hk(序列編號：41、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY8-2_Hh(序列編號：42、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY9-1_H(序列編號：43、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY9-1_L-His(序列編號：44、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY9-1_L-FLAG(序列編號：45、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY10-1_Hh(序列編號：46、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

將以下所示組合之表現載體導入於 FreeStyle293-F 細胞，使各目的分子暫時性表現。

D・目的分子：GPC3 ERY8-2

由插入於表現載體之聚核苷酸編碼之多胜肽：GPC3 ERY8-2_Hk(序列編號：41、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY8-2_Hh(序列編號：42、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY7_L

E・目的分子：GPC3 ERY9-1

由插入於表現載體之聚核苷酸編碼之多胜肽：GPC3 ERY9-1_H(序列編號：43、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY9-1_L-His(序列編號：44、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY9-1_L-FLAG(序列編號：45、信號序列胺基末端 19 個胺

基酸不含於成熟序列)

F. 目的分子：GPC3 ERY10-1

由插入於表現載體之聚核苷酸編碼之多胜肽：GPC3 ERY10-1_Hh(序列編號：46、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY8-2_Hk、GPC3 ERY7_L

將獲得之培養上清液添加到 Anti FLAG M2 管柱(Sigma 公司)，洗滌該管柱後，實施以 0.1 mg/mL FLAG 胜肽(Sigma 公司)所為之溶出。將含目的分子之級分添加到 HisTrap HP 管柱(GE Healthcare 公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度所為之溶出。將含目的分子之級分超過濾而濃縮後，將該級分添加到 Superdex 200 管柱(GE Healthcare 公司)，藉由僅回收溶出液之單體級分，獲得經精製之各目的分子。

針對該等分子，調查體外(in vitro)的細胞傷害活性，結果任一分子均明確顯示與 GPC3 BiTE 為同等以上之細胞傷害活性(圖 5)。尤其，GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 明顯認為高於 GPC3 BiTE 之細胞傷害活性。本發明中，即使在對抗癌抗原之 IgG 加成對於 CD3 epsilon 之 scFv 的分子中，也會具有與 BiTE 同等以上之細胞傷害活性之情事，係首次明白的。尤其，如 GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 般之對於癌抗原之結合域與對於 CD3 epsilon 之結合域間的距離大的分子中，觀察到比起 BiTE 明顯為強之細胞傷害活性係料想外之結果。

(2)GPC3 ERY8-2、及、GPC3 ERY10-1 之體內(in vivo)藥

效之評價：

進行於(1)記載之體外試驗中認為與 GPC3 BiTE 有同等以上之細胞傷害活性的 GPC3 ERY8-2、及、GPC3 ERY10-1 的體內藥效評價。將表現 GPC3 之人類肺癌細胞株 PC-10 與人類 PBMC 混合，移植到 NOD scid 小鼠。對於該小鼠實施利用投予 GPC3 ERY8-2、或 GPC3 ERY10-1 之治療(稱為 pre-mix 模型)。

亦即，利用 PC-10 pre-mix 模型之 GPC3 ERY8-2 的藥效試驗中，實施入如下之試驗。將從健康正常人自願者抽取之血液分離的 PBMC，使用 CD56 MicroBeads, human (MACS Miltenyi biotec 公司)去除 NK 細胞。將人類肺扁平上皮癌細胞株 PC-10(免疫生物研究所) 5×10^6 細胞、與 NK 細胞已除去之人類 PBMC 4.5×10^6 細胞、及 Matrigel 基底膜基質 (BD 公司)混合，移植到 NOD scid 小鼠(日本 Claire、雌、7W)之鼠蹊部皮下。以移植之日當做 day 0。於對於小鼠移植之前日，以 0.2 mg/隻對於腹腔內投予抗 Asialo GM1 抗體(和光純藥)。移植 2 小時後將 GPC ERY8-2 以 $30 \mu\text{g}$ /隻進行腹腔內投予。GPC ERY8-2 之投予於 day 0~4 之期間共計進行 5 次。

又，於利用 PC-10 pre-mix 模型之 GPC3 ERY10-1 之藥效試驗中，實施如下之試驗。從健康正常人自願者抽取之血液所分離之 PBMC，使用 CD56 MicroBeads, human (MACS Miltenyi biotec 公司)去除 NK 細胞。將人類肺扁平上皮癌細胞株 PC-10(免疫生物研究所) 5×10^6 細胞、與 NK 細胞

已除去之人類 PBMC 4.5×10^6 細胞、及 Matrigel 基底膜基質 (BD 公司) 混合，移植到 NOD scid 小鼠 (日本 Claire、雌、7W) 之鼠蹊部皮下。以移植之日當做 day 0。於對於小鼠移植之前日，以 0.2 mg/隻對於腹腔內投予抗 Asialo GM1 抗體 (和光純藥)。移植 2 小時後將 GPC ERY10-1 以 $30 \mu\text{g}$ /隻進行腹腔內投予。GPC ERY10-1 之投予於 day 0~4、day 7~11、day 14~16 之期間共計進行 13 次。

其結果，於 GPC3 ERY8-2、或 GPC3 ERY10-1 投予群，比起對照溶媒 (PBS) 投予群，明顯地腫瘤增殖受抑制 (圖 6 及 7)。

又，於其他模型中，係實施 GPC3 ERY10-1 所致之體內藥效之評價。亦即，於已形成經移植之由 PC-10 所致腫瘤的 NOD scid 小鼠，移入於體外培養人類 PBMC 而使增殖之 T 細胞。對於該小鼠實施利用投予 GPC3 ERY10-1 所為之治療 (稱為 T 細胞移入模型)。

亦即，於利用 PC-10 T 細胞移入模型之 GPC3 ERY10-1 之藥效試驗中，進行如下試驗。將從健康常正人自願者抽取之血液分離之 PBMC 及 T cell activation/ expansion kit/ human (MACS Miltenyi biotec 公司)，進行 T 細胞之擴大培養。混合人類肺扁平上皮癌細胞株 PC-10 (免疫生物研究所) 1×10^7 細胞、與 Matrigel 基底膜基質 (BD 公司)，移植到 NOD scid 小鼠 (日本 Claire、雌、7W) 之鼠蹊部皮下。以移植之日當做 day 0。於對於小鼠移植之前日及 day 6、8、12、16、20，以 0.2 mg/隻對於腹腔內投予抗 Asialo

GM1 抗體(和光純藥)。移植後第 6 日，依腫瘤大小及體重實施分群後，將由前述擴大培養獲得之 T 細胞以 1×10^7 細胞/隻移植到腹腔內。自其後 2 小時後起，將 GPC ERY10-1 以 $30 \mu\text{g}/\text{隻}$ 進行腹腔內投予。GPC ERY10-1 之投予於 day 7、8、12、16、17 共計進行 5 次。

其結果，於該模型亦認為，於 GPC3 ERY10-1 投予群比起溶媒投予群明顯認為有抗腫瘤作用（圖 8）。

由以上顯示：以具有靜默型 Fc 之 IgG 當做基本骨架並於其附加 1 個對抗 CD3 epsilon 之抗體之 scFv 之形式的一連串分子，於體內明顯發揮抗腫瘤效果。

(3) 血漿中滯留性之評價

為了驗證 GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 等一連串分子，是否比起 GPC3 BiTE，具有顯著較長之血漿中半衰期，對於未移植癌細胞之 NOD scid 小鼠，以 $30 \mu\text{g}/\text{隻}$ 投予之 GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 之血漿中濃度經時測定。

亦即實施如下之 PK 解析試驗。以 $30 \mu\text{g}/\text{隻}$ 對於 NOD scid 小鼠(日本 Claire、雌、8W)之腹腔內投予 GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1。投予後，於 15min、2 小時、1 日、2 日、7 日之各時點，從小鼠之頰靜脈使用血球容積比毛細管(Terumo)進行採血，並製備其血漿。

於使 GPC3 表現之 Ba/F3 細胞(GPC3/BaF)及使人類 CD3 epsilon 表現之 Ba/F3 細胞(CD3/BaF)，添加經適當稀釋之 GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1，使與 GPC3 ERY9-1、或 GPC3

ERY10-1 及 GPC3/BaF 或 CD3/BaF 反應。將該等細胞洗滌後，添加經 FITC 標記之 2 次抗體，將該二次抗體進一步反應。洗滌該細胞後，利用 Epics XL 流式細胞計數器 (Beckman coulter 公司) 測定於該細胞標記之螢光強度，製作針對各抗體之標準曲線。

將從經投予 GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 之小鼠經時採取之血液所調製之血漿適當稀釋。與製作上述標準曲線之情形同樣，使該血漿與 GPC3/BaF、CD3/BaF 反應，測定血漿中存在之 GPC3 ERY9-1 及 GPC3 ERY10-1 對於各細胞之結合量。使用測定值與前述標準曲線，計算血漿中之各抗體濃度。

其結果可知，GPC3 ERY9-1 及 GPC3 ERY10-1 均於投予後 2 日後維持 10 nM 以上之血中濃度 (圖 9 及 10)。由該結果顯示 GPC3 ERY9-1 及 GPC3 ERY10-1 等一連串分子之血漿中半衰期比起 BiTE 顯著有改善。

(4) 癌抗原非依存的細胞激素誘導之靜默 Fc 之效果

(4-1) 具 FcγR 結合型 Fc 之 GPC3 ERY15-1 之製作

為了驗證 GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 等一連串分子是否會誘導癌抗原非依存的細胞激素，製作具 FcγR 結合型 Fc 之 GPC3 ERY15-1 (圖 17J)。

亦即，與上述方法同樣，依照使用附加適當序列之引子之 PCR 法、及使用 QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit (Stratagene 公司) 之方法等對於該技術領域之人士為公知之方法，製作各插入有編碼為 GPC3

ERY15-1_Hh(序列編號：47、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY15-1_Hk(序列編號：48、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的表現載體。

將 GPC3 ERY15-1_Hh(序列編號：47、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY15-1_Hk(序列編號：48、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、及 GPC3 ERY7_L 之表現載體同時導入 FreeStyle293-F 細胞，使 GPC3 ERY15-1 暫時性表現。將獲得之培養上清液添加到 Anti FLAG M2 管柱(Sigma 公司)，洗滌該管柱後，實施利用 0.1 mg/mL FLAG 胜肽(Sigma 公司)之溶出。將含 GPC3 ERY15-1 之級分添加到 HisTrap HP 管柱(GE Healthcare 公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度所為之溶出。將含 GPC3 ERY15-1 之級分超過濾以濃縮後，將該級分添加到 Superdex 200 管柱(GE Healthcare 公司)，僅回收溶出液之單體之 GPC3 ERY15-1 級分，藉此獲得精製 GPC3 ERY15-1。

(4-2)癌抗原非依存的細胞激素誘導能力的測定

GPC3 ERY15-1 之癌抗原非依存的細胞激素誘導能力，係比較 GPC3 BiTE、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1、及 catumaxomab 之癌抗原非依存的細胞激素誘導能力。將從健康正常人自願者抽取之血液以上述方法製備 PBMC。於人類 PBMC 溶液 50 μ L(2×10^5 細胞/井)添加製備成 40 nM 的各抗體 50 μ L，再添加 100 μ L 的 10%FBS/D-MEM。反應液於

5%二氧化碳、37℃條件下培養。72小時培養後，回收培養上清液，以使用 Human Th1/Th2/Th17 Kit(BD 公司)之 Cytometric Beads Array(CBA)法定量培養上清液中分泌之細胞激素。依照附屬實驗步驟之測定方法所進行之試驗係進行三重複。

其結果，具 FcγR 結合型 Fc 之 GPC3 ERY15-1、catumaxomab 明確認為有細胞激素誘導，相對於此，不具 Fc 之 GPC3 BiTE、及具靜默型 Fc 之 GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1，未認為細胞激素誘導(圖 11)。是以，可認為具靜默型 Fc 之 GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 等一連串分子，不會引起癌抗原非依存的な細胞激素誘導，為非常高安全性之分子。

[實施例 4]GPC3 ERY18 L1、L2、L3、L4、S1 之製作與探討

實施具有與 scFv 構造之 CD3 結合域的分子的探討。製作在對抗癌抗原(GPC3)之 IgG 的 2 條 H 鏈之 C 末端各結合有 CD3 抗體之 VH 區、VL 區之分子型 GPC3 ERY18(圖 17K)。此時，製作其間之連結子(Gly·Gly·Gly·Gly·Ser)之個數改為 1 個～4 個之一連串分子(GPC3 ERY18 L1～L4)。又，也同時製作能將適當部位之胺基酸取代為 Cys 並導入雙硫鍵之分子(GPC3 ERY18 S1)。

亦即，依照使用與上述方法同樣附加有適當序列之引子的 PCR 法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各編碼為 GPC3 ERY18 L1_Hh(序列編號：49、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18

L1_Hk(序列編號：50、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L2_Hh(序列編號：51、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L2_Hk(序列編號：52、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L3_Hh(序列編號：53、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L3_Hk(序列編號：54、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L4_Hh(序列編號：55、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L4_Hk(序列編號：56、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 S1_Hh(序列編號：57、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 S1_Hk(序列編號：58、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

將以下所示組合之表現載體導入於 FreeStyle293-F 細胞，使各目的分子暫時性表現。

G・目的分子：GPC3 ERY18 L1

表現載體：GPC3 ERY18 L1_Hh(序列編號：49、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L1_Hk(序列編號：50、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、及 GPC3 ERY7 L

H・目的分子：GPC3 ERY18 L2

表現載體：GPC3 ERY18 L2_Hh(序列編號：51、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18

L2_Hk(序列編號：52、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、及 GPC3 ERY7 L

I · 目的分子：GPC3 ERY18 L3

表現載體：GPC3 ERY18 L3_Hh(序列編號：53、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L3_Hk(序列編號：54、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、及 GPC3 ERY7 L

J · 目的分子：GPC3 ERY18 L4

表現載體：GPC3 ERY18 L4_Hh(序列編號：55、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L4_Hk(序列編號：56、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、及 GPC3 ERY7 L

K · 目的分子：GPC3 ERY18 S1

表現載體：GPC3 ERY18 S1_Hh(序列編號：57、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 S1_Hk(序列編號：58、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、及 GPC3 ERY7 L

將獲得之培養上清液添加到 Anti FLAG M2 管柱(Sigma 公司)，洗滌該管柱後，實施以 0.1 mg/mL FLAG 胜肽(Sigma 公司)所為之溶出。將含目的分子之級分添加到 HisTrap HP 管柱(GE Healthcare 公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度的溶出。將含目的分子之級分超過濾以濃縮後，將該級分添加到 Superdex 200 管柱(GE Healthcare 公司)，僅回收溶出液之單體級分，藉此獲得經精製之各目

的分子。

評價 GPC3 ERY18 L1、GPC3 ERY18L2、GPC3 ERY18L3、GPC3 ERY18L4、GPC3 ERY18S1 各分子之體外(in vitro)細胞傷害活性(圖 12 及 13)。其結果，GPC3 ERY18 L1 以外的各分子均顯示與 GPC3 ERY10-1 為同等之活性。具有非 scFv 之構造之分子顯示同等之細胞傷害活性。在對抗癌抗原(GPC3)之 IgG 之 2 條 H 鏈之 C 末端分別結合有 CD3 抗體之 VH 區、VL 區之構造，可期待貢獻於本發明之多胜肽聯合體分子之安定化。

[實施例 5]GPC3 ERY19-3 之製作與探討

其次，探討 CD3 結合域為 Fab 狀構造之分子。製作在對抗癌抗原(GPC3)之 IgG 抗體之 2 條 H 鏈之 C 末端各結合有 CD3 抗體之 VH 區與 CH1 區域、及 VL 區與 CL 區域之分子型 GPC3 ERY19-3 (圖 17L)。亦即，依照與上述方法同樣附加適當序列之引子之 PCR 法等對於該技術領域之人士而言為公知之方法，製作插入有編碼為 GPC3 ERY19-3_Hh(序列編號：59、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY19-3_Hk(序列編號：60、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的表現載體。

將 GPC3 ERY19-3_Hh(序列編號：59、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY19-3_Hk(序列編號：60、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、及 GPC3 ERY7_L 之表現載體同時導入 FreeStyle293-F 細胞，使暫時性表現 GPC3 ERY19-3。將獲得之培養上清液

添加到 HiTrap rProtein A FF 管柱 (GE Healthcare 公司)，洗滌該管柱後，實施以酸所為之溶出。將含 GPC3 ERY19-3 以超過濾濃縮後，將該級分添加到 Superdex 200 管柱 (GE Healthcare 公司)，並僅回收溶出液之單體之 GPC3 ERY19-3 級分，藉此可獲得精製 GPC3 ERY19-3。

評價 GPC3 ERY19-3 分子於體外的細胞傷害活性。其結果，顯示與 GPC3 BiTE 具同等活性 (圖 14)。具 Fab 狀構造之 CD3 結合域期待能貢獻於使本發明之多胜肽聯合體分子安定化。

[實施例 6] 僅使用將 GPC3 ERY 10-12 對於 CH3 域導入突變進行 PROTEIN A 精製步驟之多胜肽聯合體之製備

(1) 概要

於實施例 3 製備之 GPC3 ERY10-1，係就 CH3 域之構造而言使用凸起配置於空隙內 (knobs-into-hole)。於該各 H 鏈之 C 末端附加有 His 標籤與 FLAG 標籤，藉由進行使用該等標籤之 2 種親和性精製，將目的之 2 種 H 鏈經異組合化之 GPC3 ERY10-1 分子精製。製造 GPC3 ERY10-1 分子當做醫藥品時，首先要從表現 GPC3 ERY10-1 之細胞之培養上清液使用 PROTEIN A 層析精製具 Fc 域之多胜肽聯合體。再者，必需要有使用 His 標籤親和性層析與 FLAG 標籤親和性層析之 2 種層析的精製步驟，會有精製步驟的成本提高的問題。而本實施例中，探討不使用 His 標籤與 FLAG 標籤，而僅使用 PROTEIN A 層析，能精製目的之 2 種 H 鏈係異組合化之 GPC3 ERY10-1 分子的分子改變。

具體而言係探討 2 種 H 鏈之中，使其中之一的 H 鏈不結合於 PROTEIN A 之改變。由於該改變，不結合於 PROTEIN A 之 H 鏈經同質組合化之分子，由於不結合於 PROTEIN A 故會通過 PROTEIN A 層析。另一方面，利用不結合於 PROTEIN A 之 H 鏈與保持對於 PROTEIN A 之結合的 H 鏈經異組合化之分子，以及保持對於 PROTEIN A 之結合的 H 鏈經同質組合化之分子之間對於 PROTEIN A 之結合性的不同，據認為可利用 PROTEIN A 層析分離該等分子。於此時，抗體之 Fc 域中，由於 PROTEIN A 與對抗體之血漿中滯留性重要之 FcRn 所結合之部位重複，故需要維持對於 FcRn 之結合性，僅選擇性減低對於 PROTEIN A 之結合性。就如此的改變，吾人發現 EU 編號 435 號之 His 取代為 Arg 之突變。係驗證除該突變以外，就促進 2 種 H 鏈之異組合化之改變而言，藉由組合 W02006/106905 記載之突變(其中之一之 H 鏈之 EU 編號 356 號之 Asp 取代為 Lys，且另一 H 鏈之 EU 編號 439 號之 Lys 取代為 Glu)，能否僅以 PROTEIN A 層析精製 GPC3 ERY10-1 等多胜肽聯合體分子。

(2) 抗體基因表現載體之製作與各抗體之表現

就抗體 H 鏈可變區而言，使用該技術領域之人士公知的方法製作編碼為 GC33(2)H(抗人類 Glypican-3 抗體 H 鏈可變區、序列編號：61、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之基因。同樣，就抗體 L 鏈而言，使用該技術領域之人士公知的方法製作編碼為 GC33-k0(抗人類 Glypican-3 抗體 L 鏈、序列編號：62、信號序列胺基末端

19 個胺基酸不含於成熟序列) 之基因。其次，就抗體 H 鏈恆定區而言，使用該技術領域之人士公知的方法製作以下所示基因。

L·目的分子：LALA-G1d

IgG1 之序列，導入 EU 編號 234 號及 235 號之 Leu 取代為 Ala、297 號之 Asn 取代為 Ala 之突變，且 C 末端之 Gly 及 Lys 已除去之 LALA-G1d(序列編號：63、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)

M·目的分子：LALA-G1d-CD3

於 LALA -G1d(序列編號：63、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)結合有 CD3 之 scFv(抗人類 CD3 抗體 H 鏈可變區及抗人類 CD3 抗體 L 鏈可變區經由多胜肽連結子而結合者)C 末端之 LALA-G1d-CD3(序列編號：64、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)

N·目的分子：LALA-G3S3E-G1d

於 LALA-G1d(序列編號：63、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之序列中導入 EU 編號 435 號之 His 取代為 Arg 之突變及 EU 編號 439 號之 Lys 取代為 Glu 之突變的 LALA-G3S3E-G1d(序列編號：65、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)

O·目的分子：LALA-S3K-G1d-CD3

於 LALA-G1d-CD3(序列編號：64、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之序列中導入 EU 編號 356 號之 Asp 取代為 Lys 之突變的 LALA-S3K-G1d-CD3(序列編號：

66、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)。

藉由在 GC33(2) H 之下游連結 LALA-G1d-CD3 或 LALA-G1d，製作抗人類 GPC3 抗體 H 鏈基因 NTA1L 或 NTA1R。於 GC33(2) H 之下游連結 LALA-S3K-G1d-CD3 或 LALA-G3S3E-G1d，製作抗人類 GPC3 抗體 H 鏈基因 NTA2L 或 NTA2R。

藉由將 NTA1L、NTA1R、NTA2L、NTA2R(H 鏈)及 GC33-k0(L 鏈)之各基因納入動物細胞表現載體，製作該基因之表現載體。依照以下所示組合，將該等載體以該技術領域之人士公知之方法導入 FreeStyle293 細胞(invitrogen 公司)，藉此使下列所示各多胜肽聯合體暫時性表現。如以下所示，將導入之基因之組合以第一 H 鏈/第二 H 鏈/L 鏈之順序表示，而表示記載多胜肽聯合體之名稱。

NTA1L/NTA1R/GC33-k0

NTA2L/NTA2R/GC33-k0

(3)表現樣本之精製與異聯合體形成之評價

將含下列所示多胜肽聯合體之 FreeStyle293 細胞之培養上清液(以下稱為 CM)當做試料。

NTA1L/NTA1R/GC33-k0

NTA2L/NTA2R/GC33-k0

於經 D-PBS 平衡化之 rProtein A Sepharose Fast Flow 管柱(GE Healthcare)，負載經 $\phi 0.22 \mu m$ 濾膜過濾的 CM，實施表 1 所示之以緩衝液洗滌 1、2、及溶出 1 之各步驟。

調整 CM 之負載量，使負載的抗體量成為 20 mg/mL resine。利用經分取之溶出級分之尺寸排除層析分析，鑑定溶出級分所含之成分。

【表 1】

平衡化	D-PBS
洗滌 1	1mM 乙酸鈉, 150mM NaCl, pH6.5
洗滌 2	0.3mM HCl, 150mM NaCl, pH3.7
溶出 1	2mM HCl, pH2.7

各溶出級分之尺寸排除層析分析之結果如圖 15 及表 2。值係將溶出峰部的面積以百分比表示記載。使 NTA1L/NTA1R/GC33-k0 及 NTA2L/NTA2R/GC33-k0 表現之 CM 中，均幾乎未檢測到對抗 CD3 之同源抗體 (NTA1L/GC33-k0, NTA2L/GC33-k0)。關於對抗 GPC3 之同源抗體 (NTA2R/GC33-k0)，在使 NTA1L/NTA1R/GC33-k0 之 CM 中檢測到約 76%，相對於此，在使 NTA2L/NTA2R/GC33-k0 表現之 CM 中僅檢測到約 2%。亦即，除了 EU 編號 435 號之 His 取代為 Arg 之突變，為了有效率地形成各 H 鏈之異分子，藉由導入將其中之一之 H 鏈之多胜肽序列中之 EU 編號 356 號之 Asp 取代為 Lys 之突變及另一 H 鏈之多胜肽序列中之 EU 編號 439 號之 Lys 取代為 Glu 之突變，可以僅由使用 PROTEIN A 之精製步驟，以 98% 以上之純度有效率地精製由目的 GPC3 ERY10-1 及同樣分子形式構成的以異質組合之多胜肽聯合體。

【表 2】

	CD3 同質抗體	異質抗體	GPC3 同質抗體
NTA1L/NTA1R/GC33-k0	0.7	23.5	75.8
NTA2L/NTA2R/GC33-k0	-	98.2	1.8

[實施例 7]GPC3 ERY 17-2 及 GPC3 ERY 17-3 之製作與探討

(1)GPC3 ERY 17-2 及 GPC3 ERY 17-3 之製作

其次，製作以對抗癌抗原(GPC3)之 IgG 當做基本骨架，其中之一之 Fab 取代為對抗 CD3 epsilon 之結合域的形式之分子。此時，當做基本骨架之 IgG 之 Fc，可使用與上述情形同樣，對於 FcγR(Fcγ 受體)之結合性減弱的靜默型 Fc。就對於 CD3 epsilon 結合之域而言，各製作對抗 CD3 epsilon 之 Fab 之 VH 域與 VL 域取代過的 GPC3 ERY17-2(圖 19A)、與 CH1 域與 CL 域取代過的 GPC3 ERY17-3(圖 19B)。

亦即，依照該技術領域之人士公知之附加與上述方法同樣之適當序列的引子的 PCR 等方法，製備插入有編碼為 ERY17-2_Hh(序列編號：73、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2_L(序列編號：74、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-3_Hh(序列編號：75、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-3_L(序列編號：76、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

將以下所示組合之表現載體導入於 FreeStyle293-F 細胞，使各目的分子暫時性表現。

P・目的分子：GPC3 ERY17-2

由插入於表現載體之聚核苷酸所編碼之多胜肽：GPC3 ERY8-2_Hk、GPC3 ERY7_L、ERY17-2_Hh(序列編號：73、信

號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2_L(序列編號:74、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)

Q·目的分子:GPC3 ERY17-3

由插入於表現載體之聚核苷酸所編碼之多胜肽:GPC3 ERY8-2_Hk、GPC3 ERY7_L、ERY17-3_Hh(序列編號:75、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-3_L(序列編號:76、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)

(2)GPC3 ERY 17-2 及 GPC3 ERY 17-3 之精製

將獲得之培養上清液添加到 Anti FLAG M2 管柱(Sigma 公司),洗滌該管柱後,實施利用 0.1 mg/mL FLAG 胜肽(Sigma 公司)之溶出。將含目的分子之級分添加到 HisTrap HP 管柱(GE Healthcare 公司),洗滌該管柱後,實施利用咪唑之濃度梯度的溶出。將含目的分子之級分以超過濾濃縮後,將該級分添加到 Superdex 200 管柱(GE Healthcare 公司),藉由僅回收溶出液之單體級分,獲得經精製之各目的分子。

(3)GPC3 ERY 17-2 及 GPC3 ERY 17-3 之細胞傷害活性

針對 GPC3 ERY 17-2 及 GPC3 ERY 17-3 檢查於體外(in vitro)之細胞傷害活性(圖 20)。其結果,認為任一分子均明顯發揮高於 GPC3 BiTE 之細胞傷害活性。本發明係首次解明以對抗癌抗原之 IgG 當做基本骨架,並且將單側之 Fab 取代為對抗 CD3 epsilon 之結合域而得之分子會發揮與

BiTE 為同等以上之細胞傷害活性。

(4)使用 PC-10 T 細胞移入模型之 GPC3 ERY17-2 之藥效試驗

於體外試驗認為與 GPC3 BiTE 有同等以上之細胞傷害活性之 GPC3 ERY17-2，其體內之藥效評價係使用 PC-10 T 細胞移入模型實施。亦即，於利用 PC-10 T 細胞移入模型所為之 GPC3 ERY17-2 之藥效試驗中，實施如下試驗。使用從健康正常人自願者抽取的血液分離之 PBMC 及 T cell activation/ expansion kit/ human(MACS Miltenyi biotec 公司)，進行 T 細胞之擴大培養。將人類肺扁平上皮癌細胞株 PC-10(免疫生物研究所) 1×10^7 細胞、與 Matrigel 基底膜基質(BD 公司)混和，移植到 NOD scid 小鼠(日本 Clare、雌、7W)之鼠蹊部皮下。以移植日當做 day 0。對於小鼠於移植前日、及 day 13、17、21、25 以 0.2 mg/隻腹腔內投予抗 asialo GM1 抗體(和光純藥)。移植後第 13 日依腫瘤尺寸與體重實施分群，於移植後第 14 日將前述擴大培養獲得之 T 細胞以 3×10^7 細胞/隻移植到腹腔內。之 2 小時後起，以 30 μ g/隻靜脈內投予 GPC ERY17-2。GPC ERY17-2 之投予於 day 14、15、16、17、18 共進行 5 次。

其結果，於該模型亦認為 GPC3 ERY17-2 投予群比起溶媒投予群有明顯的抗腫瘤作用 (圖 21)。

由以上，以對抗癌抗原之 IgG 當做基本骨架，且單側 Fab 取代為對抗 CD3 epsilon 之結合域而得之分子，明顯於體內發揮抗腫瘤效果。

[實施例 8]GPC3 ERY17-2-M20 之製作與探討

(1)GPC3 ERY17-2-M20 之製作

其次嘗試創製即使對抗 CD3 epsilon 之結合域之序列改變仍具目的活性之分子。製作 GPC3 ERY17-2 之對抗 CD3 epsilon 之結合域之序列改變的 GPC3 ERY17-2-M20(圖 19A)。亦即，使用 CD3 抗體(M20)之表現載體當做模板，依與上述方法附加同樣適當序列之引子之 PCR 法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各編碼為 ERY17-2-M20_Hh(序列編號：77、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2-M20_L(序列編號：78、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

(2)GPC3 ERY17-2-M20 之精製

將 GPC3 ERY8-2_Hk、GPC3 ERY7_L、ERY17-2-M20_Hh(序列編號：77)、及 ERY17-2-M20 _L(序列編號：78)之表現載體同時導入 FreeStyle293-F 細胞，使 GPC3 ERY17-2-M20 暫時性表現。將獲得之培養上清液以 ϕ 0.22 μ m 濾膜過濾後，負載於經平衡化之 rProtein A Sepharose Fast Flow 管柱(GE Healthcare)。實施以表 3 所示緩衝液洗滌洗淨 1、2、及溶出 1 之各步驟，獲得精製 GPC3 ERY17-2-M20。

【表 3】

平衡化	FreeStyle 293 Expression Medium (Invitrogen), 1% Pen Strep (Invitrogen)
洗滌 1	1mM 乙酸鈉, 150mM NaCl, pH6.5
洗滌 2	0.3mM HCl, 150mM NaCl, pH3.7
溶出 1	2mM HCl, pH2.7

(3)GPC3 ERY17-2-M20 之細胞傷害活性

檢查 GPC3 ERY17-2-M20 之體外之細胞傷害活性，結果認為與 GPC3 ERY17-2 有大致同等之細胞傷害活性(圖 22)。由此可知：即使是對抗 CD3 epsilon 之結合域之序列改變的分子，也會帶有同等之細胞傷害活性。

[實施例 9]EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3 之製作與探討

(1)EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3 之製作

其次嘗試創製即使標的癌抗原改變仍帶有目的活性之分子。各製作 GPC3 ERY17-2 之對抗 GPC3 之 Fab 改為對抗 EpCAM 之 Fab 的 EpCAM ERY17-2(圖 19A)、及 GPC3 ERY17-3 之對抗 GPC3 之 Fab 改為對抗 EpCAM 之 Fab 的 EpCAM ERY17-3(圖 19B)。亦即，使用 EpCAM 抗體之表現載體當做模板，依使用附加與上述方法同樣的適當序列之引子之 PCR 法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各編碼為 EpCAM ERY17_Hk(序列編號：79、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、EpCAM ERY17_L(序列編號：80、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

將以下所示組合之表現載體導入 FreeStyle293-F 細胞，使各目的分子暫時過性表現。

R・目的分子：EpCAM ERY17-2

由插入於表現載體之聚核苷酸所編碼之多胜肽：EpCAM ERY17_Hk(序列編號：79、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、EpCAM ERY17_L(序列編號：80、信號序

列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2_Hh、ERY17-2_L

S·目的分子：EpCAM ERY17-3

由插入於表現載體之聚核苷酸所編碼之多胜肽：EpCAM ERY17_Hk、EpCAM ERY17_L、ERY17-3_Hh、ERY17-3_L

(2)EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3 之精製

將獲得之培養上清液添加到 Anti FLAG M2 管柱(Sigma 公司)，洗滌該管柱後，實施以 0.1 mg/mL FLAG 胜肽(Sigma 公司)所為之溶出。將含目的分子之級分添加到 HisTrap HP 管柱(GE Healthcare 公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度之溶出。將含目的分子之級分以超過濾濃縮後，將該級分添加到 Superdex 200 管柱(GE Healthcare 公司)，僅回收溶出液之單體級分，藉此獲得經精製之各目的分子。

(3)EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3 之細胞傷害活性

檢查 EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3 之體外之細胞傷害活性，結果各分子均認為有強細胞傷害活性 (圖 23)。本發明中可知：於以對抗癌抗原之 IgG 當做基本骨架，且單側 Fab 取代為對抗 CD3 epsilon 之結合域之分子中，即使改變癌抗原種類也會帶有細胞傷害活性。

[實施例 10]導入有 CH1/CL 界面組合控制之雙專一性抗體之製作與探討

(1)雙專一性抗體之設計

將雙專一性抗體之各 CH1 與 CL 域導入突變，利用

CH1/CL 之界面之電荷性排斥，控制 CH1/CL 之界面組合，據認為可僅使對抗 GPC3 之 H 鏈與 L 鏈組合，而僅有對抗 CD3 之 H 鏈與 L 鏈各專一性組合。為了利用電荷性排斥而控制 CH1/CL 界面組合，將 H 鏈之 CH1、或 L 鏈之 CL 中之胺基酸殘基取代為正電荷 Lys、或負電荷 Glu。

(2) 抗體基因表現載體之製作與各抗體之表現

對於 Anti-CD3 抗體 M12 (H 鏈、序列編號：81 及 L 鏈、序列編號：82)、及 Anti-GPC3 抗體 GC33(2)(H 鏈、序列編號：83 及 L 鏈、序列編號：84) 導入 CH1/CL 界面組合控制，並為了避免 H 鏈彼此之組合，也製作導入有凸起配置於空隙中 (Knob into Hole) (KiH) (W01996/027011、Ridgway JB 等人 (Protein Engineering (1996) 9, 617-621)、Merchant AM 等人 (Nat. Biotechnol. (1998) 16, 677-681)) 之改變的雙專一性抗體 (圖 24A)。就對照而言，也製作未導入 CH1/CL 界面組合控制也未導入 Knob into Hole (KiH) 改變之雙專一性抗體 (圖 24B)。具體而言，依照該技術領域之人士公知之方法製作插入有各編碼為 M12 之 H 鏈 (序列編號：81) 之 CH1 之數個胺基酸取代為 Lys 之 M12_TH2h (序列編號：85)、L 鏈 (序列編號：82) 之 CL 之數個胺基酸取代為 Glu 之 M12_TL17 (序列編號：86) 之聚核苷酸的表現載體。同樣，依照該技術領域之人士公知之方法製作插入有各編碼為 GC33(2) 之 H 鏈 (序列編號：83) 之 CH1 之數個胺基酸取代為 Glu 之 GC33(2)_TH13k (序列編號：87)、GC33(2)_TH15k (序列編號：88)、L 鏈 (序列編號：84) 之 CL

之數個胺基酸取代為 Lys 之 GC33(2)_TL16(序列編號：89)、GC33(2)_TL19(序列編號：90)的聚核苷酸之表現載體。

將編碼為以下所示序列之表現載體之組合導入 FreeStyle293-F 細胞，並使各目的分子暫時過性表現。

T·目的分子：GM1

表現載體：M12_TH2h(序列編號：85)、M12_TL17(序列編號：86)、GC33(2)_TH13k(序列編號：87)、及 GC33(2)_TL16(序列編號：89)

U·目的分子：GM2

表現載體：M12_TH2h(序列編號：85)、M12_TL17(序列編號：86)、GC33(2)_TH15k(序列編號：88)、及 GC33(2)_TL19(序列編號：90)

V·目的分子：GM0

表現載體：M12 之 H 鏈(序列編號：81)、M12 之 L 鏈(序列編號：82)、GC33(2) 之 H 鏈(序列編號：83)、及 GC33(2) 之 L 鏈(序列編號：84)

從獲得之培養上清液，使以使用、rProtein A Sepharose™ Fast Flow(GE Healthcare 公司)之該技術領域之人士公知之方法精製抗體。

(3)GM1、GM2、GM0 細胞傷害活性

檢查 GM1、GM2、GM0 之各多胜肽聯合體之體外之細胞傷害活性，結果認為 GM1 及 GM2 顯示同等之細胞傷害活性，且其細胞傷害活性明顯高於 GM0 之細胞傷害活性 (圖 25)。本發明中解明藉由組合 CH1/CL 界面控制之導入與 KiH

之改變，能以良好效率製作雙專一性抗體。

[實施例 11]EGFR ERY17-2 之製作與探討

(1)EGFR ERY17-2 之製作

並嘗試創製以其他癌抗原為標的之具目的活性之分子。製作 GPC3 ERY17-2 之對抗 GPC3 之 Fab 改為對抗 EGFR 之 Fab 的 EGFR ERY17-2(圖 19A)。亦即，將 EGFR 抗體之表現載體當做模板，依使用與上述方法附加同樣適當序列之引子的 PCR 法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各編碼為 EGFR ERY17_Hk(序列編號：91、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、EGFR ERY17_L(序列編號：92、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

將以下所示組合之表現載體導入 FreeStyle293-F 細胞，使各目的分子暫時過性表現。

W. 目的分子：EGFR ERY17-2

由插入於表現載體之聚核苷酸所編碼之多胜肽：EGFR ERY17_Hk(序列編號：91、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、EGFR ERY17_L(序列編號：92、信號序列胺基末端 19 個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2_Hh、ERY17-2_L

(2)EGFR ERY17-2 之精製

將獲得之培養上清液添加到 Anti FLAG M2 管柱(Sigma 公司)，洗滌該管柱後，實施以 0.1 mg/mL FLAG 胜肽(Sigma 公司)所為之溶出。將含目的分子之級分添加到 HisTrap HP

管柱(GE Healthcare 公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度的溶出。將含目的分子之級分以超過濾濃縮後，將該級分添加到 Superdex 200 管柱(GE Healthcare 公司)，僅回收溶出液之單體級分，藉此獲得經精製之各目的分子。

(3)EGFR ERY17-2 之細胞傷害活性

檢查 EGFR ERY17-2 之體外的細胞傷害活性，結果顯示強細胞傷害活性(圖 26)。本發明解明：以對抗癌抗原之 IgG 當做基本骨架，且單側 Fab 取代為對抗 CD3 epsilon 之結合域而得的分子中，不僅改變 GPC3、EpCAM，即使將癌抗原種類也改變仍帶有細胞傷害活性。

【產業上利用可能性】

依照本發明，能提供一種新穎的多胜肽聯合體，其維持 BiTE 所具有的強抗腫瘤活性、與不誘導癌抗原非依存性細胞激素風暴等安全性上優良性質，而且具有長血中半衰期。本發明之多胜肽聯合體中，藉由取代抗原結合域，而含有該多胜肽聯合體當做有效成分之細胞傷害誘導治療劑會以包含癌細胞在內的各種細胞為標的帶來細胞傷害，能夠治療或預防各種癌症。對於患者不僅安全性高，而且身體的負擔少、便利性也高，可進行理想的治療。

【圖式簡單說明】

圖 1 顯示比較 GPC3 ERY1(GPC3 BiTE)、GPC3 ERY2、IgG 型 GPC3 抗體之細胞傷害活性之圖。黑色四角(■)代表 GPC3 ERY1(GPC3 BiTE)、黑色三角(▲)代表 GPC3 ERY2、

白色四角(□)代表 IgG 型 GPC3 抗體之細胞傷害活性。

圖 2 顯示比較 GPC3 BiTE、GPC3 ERY5 之細胞傷害活性之圖。黑色四角(■)代表 GPC3 BiTE、白色圓圈(○)代表 GPC3 ERY5 之細胞傷害活性。

圖 3 顯示比較 GPC3 BiTE、GPC3 ERY6 之細胞傷害活性之圖。黑色四角(■)代表 GPC3 BiTE、黑色三角(▲)代表 GPC3 ERY6 之細胞傷害活性。

圖 4 顯示比較 GPC3 BiTE、GPC3 ERY7 之細胞傷害活性之圖。黑色四角(■)代表 GPC3 BiTE、黑色菱形(◆)代表 GPC3 ERY7 之細胞傷害活性。

圖 5 顯示比較 GPC3 BiTE、GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1 之細胞傷害活性之圖。黑色四角(■)代表 GPC3 BiTE、黑色三角(▲)代表 GPC3 ERY8-2、白色圓圈(○)代表 GPC3 ERY9-1、白色四角(□)代表 GPC3 ERY10-1 之細胞傷害活性。

圖 6 顯示 PC-10 pre-mix 模型中之 GPC3 ERY8-2 的體內抗腫瘤效果。白色四角(□)代表 GPC3 ERY7 投予群之腫瘤體積之變化。黑色菱形(◆)代表對照群(PBS 投予)之腫瘤體積之變化。

圖 7 顯示 PC-10 pre-mix 模型中之 GPC3 ERY10-1 之體內抗腫瘤效果之圖。白色四角(□)代表 GPC3 ERY10-1 投予群之腫瘤體積之變化。黑色菱形(◆)代表對照群(PBS 投予)之腫瘤體積之變化。

圖 8 顯示 PC-10 T 細胞移入模型中之 GPC3 ERY10-1 之

體內抗腫瘤效果。白色四角(□)代表 GPC3 ERY10-1 投予群之腫瘤體積之變化。黑色菱形(◆)代表對照群(PBS 投予)之腫瘤體積之變化。

圖 9 顯示使用 GPC3 表現 Ba/F3 細胞測定之 GPC3 ERY9-1 及 GPC3 ERY10-1 之血漿中濃度變動。黑色菱形(◆)代表 GPC3 ERY9-1、白色四角(□)代表 GPC3 ERY10-1 的血漿中濃度變動。

圖 10 顯示使用 CD3 表現 Ba/F3 細胞測定之 GPC3 ERY9-1 及 GPC3 ERY10-1 之血漿中濃度之變動。黑色菱形(◆)代表 GPC3 ERY9-1、白色四角(□)代表 GPC3 ERY10-1 之血漿中濃度之變動。

圖 11 顯示 GPC3 BiTE、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1、GPC3 ERY15-1、及 catumaxomab 所致之癌抗原非依存性細胞激素誘導能力的評價。

圖 12 顯示 GPC3 ERY18 L1、GPC3 ERY18L2、GPC3 ERY18L3、GPC3 ERY18L4、GPC3 ERY18S1 之體外細胞傷害活性。黑色三角(▲)代表 GPC3 ERY18 L1、黑色圓圈(●)代表 GPC3 ERY18 L2、黑色四角(■)代表 GPC3 ERY18 L3、白色四角(□)代表 GPC3 ERY18 L4、白色菱形(◇)代表 GPC3 ERY18 S1 之細胞傷害活性。

圖 13 顯示比較 GPC3 ERY18 L3 與 GPC3 ERY10-1 之體外細胞傷害活性之圖。黑色四角(■)代表 GPC3 ERY18 L3、白色四角(□)代表 GPC3 ERY10-1 之細胞傷害活性。

圖 14 顯示比較 GPC3 ERY19-3 與 GPC3 BiTE 之體外細

胞傷害活性之圖。白色四角(□)代表 GPC3 ERY19-3、黑色四角(■)代表 GPC3 BiTE 之細胞傷害活性。

圖 15 顯示

A. 使 NTA1L/NTA1R/GC33-k0 表現之 CM 之尺寸排除層析分析之結果層析圖。

B. 使 NTA2L/NTA2R/GC33-k0 表現之 CM 之尺寸排除層析分析之結果層析圖。

圖 16 顯示構成本說明書之實施例記載之多胜肽聯合體 GPC3 BiTE、GPC3 ERY2、GPC3 ERY5、GPC3 ERY6、GPC3 ERY7、GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY 10-1、GPC3 ERY15、GPC3 ERY18、及 GPC3 ERY19-3 之各域；

以交叉線表示之域為抗癌抗原(GPC3、EpCAM、EGFR)抗體 H 鏈可變區、斜線表示之域為抗癌抗原(GPC3、EpCAM、EGFR)抗體 L 鏈可變區、虛線表示之域為抗 CD3 抗體 H 鏈可變區、塗黑表示之域為抗 CD3 抗體 L 鏈可變區、以塗白表示之域為抗體恆定區、十字代表靜默 Fc 突變、星號代表使異 Fc 組合化之突變。

圖 17 顯示 A：GPC3 BiTE 之示意圖、B：GPC3 ERY 10 之示意圖、C：GPC3 ERY2 之示意圖、D：GPC3 ERY5 之示意圖、E：GPC3 ERY6 之示意圖、F：GPC3 ERY7 之示意圖、G：GPC3 ERY8-2 之示意圖、H：GPC3 ERY9-1 之示意圖、I：GPC3 ERY10-1 之示意圖、J：GPC3 ERY15 之示意圖、K：GPC3 ERY18 之示意圖、L：GPC3 ERY19-3 之示意圖。

圖 18 顯示 IgG1、IgG2、IgG3 及 IgG4 之構成 Fc 區域

之胺基酸殘基、與 kabat 之 EU 編號(本說明書也稱為 EU INDEX)之間的關係。

圖 19A、19B 構成本說明書之實施例記載之多胜肽聯合體 GPC3 ERY17-2、GPC3 ERY17-3、EpCAM ERY17-2、及 EpCAM ERY17-3 之各域；

以交叉線表示之域為抗癌抗原(GPC3、EpCAM、EGFR)抗體 H 鏈可變區、斜線表示之域為抗癌抗原(GPC3、EpCAM、EGFR)抗體 L 鏈可變區、虛線表示之域為抗 CD3 抗體 H 鏈可變區、以塗黑表示之域為抗 CD3 抗體 L 鏈可變區、以塗白表示之域為抗體恆定區、十字代表靜默 Fc 突變、星號代表使異 Fc 組合化之突變。

圖 20 顯示比較 GPC3 BiTE、GPC3 ERY17-2、GPC3 ERY17-3、GPC3 ERY10-1 之細胞傷害活性之圖。黑色四角(■)代表 GPC3 BiTE、黑色三角(▲)代表 GPC3 ERY17-2、白色圓圈(○)代表 GPC3 ERY17-3、白色四角(□)代表 GPC3 ERY10-1 之細胞傷害活性。

圖 21 顯示於 PC-10 T 細胞移入模型中之 GPC3 ERY17-2 之體內抗腫瘤效果。白色四角(□)代表 GPC3 ERY17-2 投予群之腫瘤體積之變化。黑色菱形(◆)代表對照群(PBS 投予)之腫瘤體積之變化。

圖 22 顯示比較 GPC3 ERY17-2、GPC3 ERY17-2-M20 之細胞傷害活性之圖。黑色三角(▲)代表 GPC3 ERY17-2、白色圓圈(○)代表 GPC3 ERY17-2-M20 之細胞傷害活性。

圖 23 顯示比較 EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3 之細

胞傷害活性之圖。黑色三角(▲)代表 EpCAM ERY17-2、白色四角(□)代表 EpCAM ERY17-3 之細胞傷害活性。

圖 24 顯示構成本說明書之實施例記載之多胜肽聯合體 GM1 或 GM2、及 GM0 之各域。導入有 CH1/CL 界面組合控制且導入有 Knob into Hole (KiH)之改變之多胜肽聯合體以 A 表示，未導入 CH1/CL 界面組合控制也未導入 KiH 之多胜肽聯合體以 B 表示；

交叉線表示之域為抗癌抗原(GPC3, EpCAM)抗體 H 鏈可變區、斜線表示之域為抗癌抗原(GPC3, EpCAM)抗體 L 鏈可變區、虛線表示之域為抗 CD3 抗體 H 鏈可變區、塗黑表示之域為抗 CD3 抗體 L 鏈可變區、塗白色表示之域為抗體恆定區、十字代表靜默 Fc 突變、星號代表使異 Fc 組合化之突變、中空圓形代表導入有 CH1/CL 界面組合控制之突變。

圖 25 顯示比較 GM1、GM2、GM0 之細胞傷害活性之圖。黑色三角(▲)代表 GM1、白色四角(□)代表 GM2、白色圓圈(○)代表 GM0 之細胞傷害活性。

圖 26 顯示 EGFR ERY17-2 之細胞傷害活性之圖。黑色三角(▲)代表 EGFR ERY17-2 之細胞傷害活性。

【主要元件符號說明】

無

【序列表】

<110> 中外製藥股份有限公司

<120> 細胞傷害誘導治療劑

<130> C1-A1010Y2-TW

<150> JP 2010-266760

<151> 2010-11-30

<150> JP 2011-121771

<151> 2011-05-31

<150> JP 2011-238818

<151> 2011-10-31

<160> 92

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1812

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atggccggga ccgtgcgcac cgcgtgcttg gtggtggcga tgctgctcag cttggacttc	60
ccgggacagg cgcagccccc gccgccgccg ccggacgcc aatgtcacca agtccgctcc	120
ttcttcaga gactgcagcc cggactcaag tgggtgccag aaactccgt gccaggatca	180
gatttgcaag tatgtctccc taagggccca acatgctgct caagaaagat ggaagaaaaa	240
taccaactaa cagcacgatt gaacatggaa cagctgcttc agtctgcaag tatggagctc	300
aagttcttaa ttattcagaa tgctgcggtt ttccaagagg cctttgaaat tgttgttgc	360
catgccaaga actacaccaa tgccatgttc aagaacaact acccaagcct gactccacaa	420

gcttttgagt ttgtgggtga atttttcaca gatgtgtctc tctacatctt gggttctgac	480
atcaatgtag atgacatggt caatgaattg ttgacagcc tgtttccagt catctatacc	540
cagctaata acccaggcct gcctgattca gccttggaca tcaatgagt cctccgagga	600
gcaagacgtg acctgaaagt atttgggaat ttccccaagc ttattatgac ccaggtttcc	660
aagtcactgc aagtcactag gatcttccct caggctctga atcttggaat tgaagtgatc	720
aacacaactg atcacctgaa gttcagtaag gactgtggcc gaatgctcac cagaatgtgg	780
tactgtcttt actgccaggg actgatgatg gttaaaccct gtggcgggta ctgcaatgtg	840
gtcatgcaag gctgtatggc aggtgtggtg gagattgaca agtactggag agaatacatt	900
ctgtcccttg aagaacttgt gaatggcatg tacagaatct atgacatgga gaacgtactg	960
cttggctctt tttcaacaat ccatgattct atccagtatg tccagaagaa tgcaggaaag	1020
ctgaccacca ctgaaactga gaagaaaata tggcacttca aatatcctat ctctttcctg	1080
tgtatagggc tagacttaca gattggcaag ttatgtgccc attctcaaca acgccaatat	1140
agatctgctt attatcctga agatctcttt attgacaaga aagtattaaa agttgctcat	1200
gtagaacatg aagaaacctt atccagccga agaagggaac taattcagaa gttgaagtct	1260
ttcatcagct tctatagtgc ttgacctggc tacatctgca gccatagccc tgtggcgga	1320
aacgacaccc ttgcttgga tggacaagaa ctctgtggaga gatacagcca aaaggcagca	1380
aggaatggaa tgaaaaacca gttcaatctc catgagctga aaatgaaggg ccctgagcca	1440
gtggtcagtc aaattattga caaactgaag cacattaacc agctcctgag aaccatgtct	1500
atgcccacag gtagagttct ggataaaaac ctggatgagg aagggtttga aagtggagac	1560
tgcggtgatg atgaagatga gtgcattgga ggctctgggt atggaatgat aaaagtgaag	1620

aatcagctcc gcttccttgc agaactggcc tatgatctgg atgtggatga tgcgcctgga 1680

aacagtcagc aggcaactcc gaaggacaac gagataagca cctttcaciaa cctcggaac 1740

gttcattccc ogctgaagct tctcaccagc atggccatct cggtggtgtg cttcttcttc 1800

ctggtgcact ga 1812

<210> 2

<211> 603

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu
1 5 10 15

Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp
20 25 30

Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly
35 40 45

Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val
50 55 60

Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys
65 70 75 80

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

Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln
100 105 110

Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala
115 120 125

Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe
130 135 140

Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp
145 150 155 160

Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro
165 170 175

Val Ile Tyr Thr Gln Leu Met Asn Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala Leu
180 185 190

Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe
195 200 205

Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln
210 215 220

Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile
225 230 235 240

Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu
245 250 255

Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys
260 265 270

Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly
275 280 285

Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu
290 295 300

Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu
305 310 315 320

Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys
325 330 335

Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr Glu Thr Glu Lys Lys Ile Trp His
340 345 350

Phe Lys Tyr Pro Ile Phe Phe Leu Cys Ile Gly Leu Asp Leu Gln Ile
355 360 365

Gly Lys Leu Cys Ala His Ser Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr
370 375 380

Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala His
385 390 395 400

Val Glu His Glu Glu Thr Leu Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile Gln
405 410 415

Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile
420 425 430

Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly
435 440 445

Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met
450 455 460

Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro
465 470 475 480

Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu Leu
485 490 495

Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu Asp
500 505 510

Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys
515 520 525

Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg
530 535 540

Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly
545 550 555 560

Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His
565 570 575

Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met Ala
580 585 590

Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Phe Leu Val His
595 600

- <210> 3
- <211> 945
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

<400> 3
atggcgcccc cgcaggtcct cgcgttcggg cttctgcttg ccgcggcgac ggcgactttt 60

gccgcagctc aggaagaatg tgtctgtgaa aactacaagc tggccgtaaa ctgctttgtg 120

aataataatc gtcaatgcca gtgtacttca gttggcgcac aaaatactgt catttgctca 180

aagctggctg ccaaagtgtt ggtgatgaag gcagaaatga atggctcaaa acttgggaga 240

agagcaaaac ctgaaggggc cctccagaac aatgatgggc tttatgatcc tgactgcgat 300

gagagcgggc tctttaaggc caagcagtgc aacggcacct ccatgtgctg gtgtgtgaac 360

actgctgggg tcagaagaac agacaaggac actgaaataa cctgctctga gcgagtgaga 420

acctactgga tcatcattga actaaaacac aaagcaagag aaaaacctta tgatagtaaa 480

agtttgcgga ctgcacttca gaaggagatc acaacgcgtt atcaactgga tccaaaattt 540

atcacgagta ttttgtatga gaataatgtt atcactattg atctggttca aaattcttct 600

caaaaaactc agaatgatgt ggacatagct gatgtggctt attattttga aaaagatgtt 660

aaagtgtaat ccttgtttca ttctaagaaa atggacctga cagtaaatgg ggaacaactg 720

gatctggatc ctggtcaaac tttaatttat tatgttgatg aaaaagcacc tgaattctca 780

atgcagggtc taaaagctgg tgttattgct gttattgtgg ttgtggtgat agcagttgtt 840

gctggaattg ttgtgctggt tatttcaga aagaagagaa tggcaaagta tgagaaggct 900

gagataaagg agatgggtga gatgcatagg gaactcaatg cataa 945

<210> 4

<211> 314

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Pro Pro Gln Val Leu Ala Phe Gly Leu Leu Leu Ala Ala Ala

1 5 10 15

Thr Ala Thr Phe Ala Ala Ala Gln Glu Glu Cys Val Cys Glu Asn Tyr

20 25 30

Lys Leu Ala Val Asn Cys Phe Val Asn Asn Asn Arg Gln Cys Gln Cys

35 40 45

Thr Ser Val Gly Ala Gln Asn Thr Val Ile Cys Ser Lys Leu Ala Ala

50 55 60

Lys Cys Leu Val Met Lys Ala Glu Met Asn Gly Ser Lys Leu Gly Arg

65 70 75 80

Arg Ala Lys Pro Glu Gly Ala Leu Gln Asn Asn Asp Gly Leu Tyr Asp

85 90 95

Pro Asp Cys Asp Glu Ser Gly Leu Phe Lys Ala Lys Gln Cys Asn Gly

100					105					110						
Thr	Ser	Met	Cys	Trp	Cys	Val	Asn	Thr	Ala	Gly	Val	Arg	Arg	Thr	Asp	
115					120					125						
Lys	Asp	Thr	Glu	Ile	Thr	Cys	Ser	Glu	Arg	Val	Arg	Thr	Tyr	Trp	Ile	
130					135					140						
Ile	Ile	Glu	Leu	Lys	His	Lys	Ala	Arg	Glu	Lys	Pro	Tyr	Asp	Ser	Lys	
145					150					155					160	
Ser	Leu	Arg	Thr	Ala	Leu	Gln	Lys	Glu	Ile	Thr	Thr	Arg	Tyr	Gln	Leu	
165					170					175						
Asp	Pro	Lys	Phe	Ile	Thr	Ser	Ile	Leu	Tyr	Glu	Asn	Asn	Val	Ile	Thr	
180					185					190						
Ile	Asp	Leu	Val	Gln	Asn	Ser	Ser	Gln	Lys	Thr	Gln	Asn	Asp	Val	Asp	
195					200					205						
Ile	Ala	Asp	Val	Ala	Tyr	Tyr	Phe	Glu	Lys	Asp	Val	Lys	Gly	Glu	Ser	
210					215					220						
Leu	Phe	His	Ser	Lys	Lys	Met	Asp	Leu	Thr	Val	Asn	Gly	Glu	Gln	Leu	
225					230					235					240	
Asp	Leu	Asp	Pro	Gly	Gln	Thr	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Val	Asp	Glu	Lys	Ala	
245					250					255						
Pro	Glu	Phe	Ser	Met	Gln	Gly	Leu	Lys	Ala	Gly	Val	Ile	Ala	Val	Ile	

260265270

Val Val Val Val Ile Ala Val Val Ala Gly Ile Val Val Leu Val Ile

275280285

Ser Arg Lys Lys Arg Met Ala Lys Tyr Glu Lys Ala Glu Ile Lys Glu

290295300

Met Gly Glu Met His Arg Glu Leu Asn Ala

305310

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 5

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 6

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 6

Ser Gly Gly Gly

1

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 8

Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

- <210> 10
- <211> 6
- <212> PRT
- <213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 10

Ser Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

- <210> 11
- <211> 7
- <212> PRT
- <213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 11

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

- <210> 12
- <211> 7
- <212> PRT
- <213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 12

Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 13

<211> 1125

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

atgtggttct tgacaactct gctcctttgg gttccagttg atgggcaagt ggacaccaca	60
aaggcagtga tcactttgca gcctccatgg gtcagcgtgt tccaagagga aaccgtaacc	120
ttgcactgtg aggtgctoca tctgcctggg agcagctcta cacagtggtt tctcaatggc	180
acagccactc agacctogac ccccagctac agaatcacct ctgccagtgt caatgacagt	240
ggtgaatata ggtgccagag aggtctctca gggogaagtg acccataca gctggaaatc	300
cacagaggct ggctactact gcaggctctc agcagagtct toacggaagg agaacctctg	360
gccttgaggt gtcatgcgtg gaaggataag ctgggtgtaca atgtgcttta ctatcgaaat	420
ggcaaagcct ttaagttttt ccactggaat tctaacctca ccattctgaa aaccaacata	480
agtcacaatg gcacctacca ttgctcaggc atgggaaagc atcgctacac atcagcagga	540
atatctgtca ctgtgaaaga gctatttcca gctccagtc tgaatgcac tgtgacatcc	600
ccactcctgg aggggaatct ggtcacctg agctgtgaaa caaagttgct cttgcagagg	660
cctggtttgc agctttactt ctcttcttac atgggcagca agacctgog aggcaggaac	720
acatcctctg aataccaaat actaactgct agaagagaag actctgggtt atactgggtgc	780
gaggctgcc aagaggatgg aaatgtcctt aagcgcagcc ctgagttgga gcttcaagtg	840

cttggcctcc agttaccaac tctgtcttgg ttatcatgtcc ttttctatct ggcagtggga 900
ataatgtttt tagtgaacac tgttctctgg gtgacaatac gtaaagaact gaaaagaaag 960
aaaaagtggg atttagaaat ctctttggat tctgggtcatg agaagaaggt aatttccagc 1020
cttcaagaag acagacattt agaagaagag ctgaaatgtc aggaacaaaa agaagaacag 1080
ctgcaggaag ggggtgcaccg gaaggagccc caggggggcca cgtag 1125

<210> 14
<211> 374
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Trp Phe Leu Thr Thr Leu Leu Leu Trp Val Pro Val Asp Gly Gln
1 5 10 15

Val Asp Thr Thr Lys Ala Val Ile Thr Leu Gln Pro Pro Trp Val Ser
20 25 30

Val Phe Gln Glu Glu Thr Val Thr Leu His Cys Glu Val Leu His Leu
35 40 45

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

Thr Ser Thr Pro Ser Tyr Arg Ile Thr Ser Ala Ser Val Asn Asp Ser
65 70 75 80

Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Arg Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Pro Ile

				85						90									95
Gln	Leu	Glu	Ile	His	Arg	Gly	Trp	Leu	Leu	Leu	Gln	Val	Ser	Ser	Arg				
			100					105					110						
Val	Phe	Thr	Glu	Gly	Glu	Pro	Leu	Ala	Leu	Arg	Cys	His	Ala	Trp	Lys				
			115				120					125							
Asp	Lys	Leu	Val	Tyr	Asn	Val	Leu	Tyr	Tyr	Arg	Asn	Gly	Lys	Ala	Phe				
			130			135						140							
Lys	Phe	Phe	His	Trp	Asn	Ser	Asn	Leu	Thr	Ile	Leu	Lys	Thr	Asn	Ile				
					150					155					160				
Ser	His	Asn	Gly	Thr	Tyr	His	Cys	Ser	Gly	Met	Gly	Lys	His	Arg	Tyr				
				165					170					175					
Thr	Ser	Ala	Gly	Ile	Ser	Val	Thr	Val	Lys	Glu	Leu	Phe	Pro	Ala	Pro				
			180					185					190						
Val	Leu	Asn	Ala	Ser	Val	Thr	Ser	Pro	Leu	Leu	Glu	Gly	Asn	Leu	Val				
			195				200					205							
Thr	Leu	Ser	Cys	Glu	Thr	Lys	Leu	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Leu	Gln				
			210			215					220								
Leu	Tyr	Phe	Ser	Phe	Tyr	Met	Gly	Ser	Lys	Thr	Leu	Arg	Gly	Arg	Asn				
					230					235					240				
Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Gln	Ile	Leu	Thr	Ala	Arg	Arg	Glu	Asp	Ser	Gly				

245250255

Leu Tyr Trp Cys Glu Ala Ala Thr Glu Asp Gly Asn Val Leu Lys Arg

260265270

Ser Pro Glu Leu Glu Leu Gln Val Leu Gly Leu Gln Leu Pro Thr Pro

275280285

Val Trp Phe His Val Leu Phe Tyr Leu Ala Val Gly Ile Met Phe Leu

290295300

Val Asn Thr Val Leu Trp Val Thr Ile Arg Lys Glu Leu Lys Arg Lys

305310315320

Lys Lys Trp Asp Leu Glu Ile Ser Leu Asp Ser Gly His Glu Lys Lys

325330335

Val Ile Ser Ser Leu Gln Glu Asp Arg His Leu Glu Glu Glu Leu Lys

340345350

Cys Gln Glu Gln Lys Glu Glu Gln Leu Gln Glu Gly Val His Arg Lys

355360365

Glu Pro Gln Gly Ala Thr

370

<210> 15
<211> 951
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400>	15	
atgactatgg agacccaaat gtctcagaat gtatgtccca gaaacctgtg gctgcttcaa	60	
ccattgacag ttttgctgct gctggcttct gcagacagtc aagctgctcc cccaaaggct	120	
gtgctgaaac ttgagcccc gtggatcaac gtgtccagg aggactctgt gactctgaca	180	
tgccaggggg ctcgcagccc tgagagcgac tccattcagt ggttccacaa tgggaatctc	240	
attccccacc acacgcagcc cagctacagg ttcaaggcca acaacaatga cagcggggag	300	
tacacgtgcc agactggcca gaccagcctc agcgaccctg tgcactgac tgtgctttcc	360	
gaatggctgg tgctccagac ccctcacctg gagttccagg agggagaaac catcatgctg	420	
aggtgccaca gctggaagga caagcctctg gtcaaggtca cattcttcca gaatggaaaa	480	
tcccagaaat tctcccattt ggatcccacc ttctccatcc cacaagcaaa ccacagtcac	540	
agtggtgatt accactgcac aggaaacata ggctacacgc tgttctcatc caagcctgtg	600	
accatcactg tccaagtgcc cagcatgggc agctcttcac caatgggggt cattgtggct	660	
gtggtcattg cgactgctgt agcagccatt gttgctgctg tagtggcctt gatctactgc	720	
aggaaaaagc ggatttcagc caattccact gatcctgtga aggctgcca atttgagcca	780	
cctggacgtc aaatgattgc catcagaaag agacaacttg aagaaaccaa caatgactat	840	
gaaacagctg acggcggcta catgactctg aaccccaggg cacctactga cgatgataaa	900	
aacatctacc tgactotttc tccaacgac catgtcaaca gtaataacta a	951	

- <210> 16
- <211> 316
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

<400> 16

Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp
20 25 30

Ser Gln Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp
35 40 45

Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Ala
50 55 60

Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu
65 70 75 80

Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn
85 90 95

Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp
100 105 110

Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro
115 120 125

His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His Ser
130 135 140

Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys
145 150 155 160

Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln Ala
165 170 175

Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr
180 185 190

Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro Ser
195 200 205

Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Val Ile Val Ala Val Val Ile Ala
210 215 220

Thr Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys
225 230 235 240

Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Ser Thr Asp Pro Val Lys Ala Ala
245 250 255

Gln Phe Glu Pro Pro Gly Arg Gln Met Ile Ala Ile Arg Lys Arg Gln
260 265 270

Leu Glu Glu Thr Asn Asn Asp Tyr Glu Thr Ala Asp Gly Gly Tyr Met
275 280 285

Thr Leu Asn Pro Arg Ala Pro Thr Asp Asp Asp Lys Asn Ile Tyr Leu
290 295 300

Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn Ser Asn Asn
305 310 315

<210> 17
 <211> 876
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 17
 atgggaatcc tgtcattott acctgtcctt gccactgaga gtgactgggc tgactgcaag 60
 tccccccagc cttgggggtca tatgtttctg tggacagctg tgctattcct ggctcctgtt 120
 gctgggacac ctgcagctcc cccaaaggct gtgttgaaac tcgagcccca gtggatcaac 180
 gtgtccagg aggactctgt gactctgaca tgccggggga ctcacagccc tgagagcgac 240
 tccattcagt ggttcacaaa tgggaatctc attcccaccc acacgcagcc cagctacagg 300
 ttcaaggcca acaacaatga cagcggggag tacacgtgcc agactggcca gaccagcctc 360
 agcgaccctg tgcatctgac tgtgttttct gagtggctgg tgctccagac ccctcacctg 420
 gagttccagg agggagaaac catcgtgctg aggtgccaca gctggaagga caagcctctg 480
 gtcaaggcca cattcttcca gaatggaaaa tccaagaaat tttcccgttc ggatcccaac 540
 ttctccatcc cacaagcaaa ccacagtcac agtgggtgatt accactgcac aggaaacata 600
 ggctacacgc tgtactcatt caagcctgtg accatcactg tccaagctcc cagctcttca 660
 ccgatgggga tcattgtggc tgtggtcact gggattgctg tagcggccat tgttgtctgt 720
 gtagtggcct tgatctactg caggaaaaag cggatttcag ocaatccac taatcctgat 780
 gaggtgaca aagttggggc tgagaacaca atcacctatt cacttctcat gcaccggat 840
 gctctggaag agcctgatga ccagaaccgt atttag 876

<210> 18
 <211> 291

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr
20 25 30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro
35 40 45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu
50 55 60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp
65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr
100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu
130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
145 150 155 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg
165 170 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly
180 185 190

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

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile
210 215 220

Ile Val Ala Val Val Thr Gly Ile Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala
225 230 235 240

Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Pro
245 250 255

Thr Asn Pro Asp Glu Ala Asp Lys Val Gly Ala Glu Asn Thr Ile Thr
260 265 270

Tyr Ser Leu Leu Met His Pro Asp Ala Leu Glu Glu Pro Asp Asp Gln
275 280 285

Asn Arg Ile
290

<210> 19
<211> 765
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 19
atgtggcagc tgctcctccc aactgctctg ctacttctag tticagctgg catgcggact 60

gaagatctcc caaaggctgt ggtgttcctg gagcctcaat ggtacagggt gctcgagaag 120

gacagtgtga ctctgaagtg ccagggagcc tactccccctg aggacaattc cacacagtgg 180

tttcacaatg agagcctcat ctcaagccag gcctcgagct acttcattga cgctgccaca 240

gttgacgaca gtggagagta cagggtgccag acaaacctct ccaccctcag tgaccgggtg 300

cagctagaag tccatatcgg ctggctgttg ctccaggccc ctcggtgggt gttcaaggag 360

gaagacccta ttcacctgag gtgtcacagc tggaagaaca ctgctctgca taaggtcaca 420

tatttacaga atggcaaagg caggaagtat ttcatcata attctgactt ctacattcca 480

aaagccacac tcaaagacag cggctcctac ttctgcaggg ggcttgttgg gagtaaaaat 540

gtgtcttcag agactgtgaa catcaccatc actcaaggtt tgtcagtgtc aaccatctca 600

tcattotttc cacctgggta ccaagtctct ttctgcttgg tgatggtact cctttttgca 660

gtggacacag gactatattt ctctgtgaag acaaacattc gaagctcaac aagagactgg 720

aaggaccata aatttaaag gagaaaggac cctcaagaca aatga 765

<210> 20
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Met	Trp	Gln	Leu	Leu	Leu	Pro	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Ser	Ala
1			5					10						15	
Gly	Met	Arg	Thr	Glu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Val	Val	Phe	Leu	Glu	Pro
			20					25					30		
Gln	Trp	Tyr	Arg	Val	Leu	Glu	Lys	Asp	Ser	Val	Thr	Leu	Lys	Cys	Gln
		35					40					45			
Gly	Ala	Tyr	Ser	Pro	Glu	Asp	Asn	Ser	Thr	Gln	Trp	Phe	His	Asn	Glu
	50					55					60				
Ser	Leu	Ile	Ser	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Tyr	Phe	Ile	Asp	Ala	Ala	Thr
65					70					75					80
Val	Asp	Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Arg	Cys	Gln	Thr	Asn	Leu	Ser	Thr	Leu
				85					90					95	
Ser	Asp	Pro	Val	Gln	Leu	Glu	Val	His	Ile	Gly	Trp	Leu	Leu	Leu	Gln
		100						105					110		
Ala	Pro	Arg	Trp	Val	Phe	Lys	Glu	Glu	Asp	Pro	Ile	His	Leu	Arg	Cys
		115					120					125			
His	Ser	Trp	Lys	Asn	Thr	Ala	Leu	His	Lys	Val	Thr	Tyr	Leu	Gln	Asn
	130					135					140				
Gly	Lys	Gly	Arg	Lys	Tyr	Phe	His	His	Asn	Ser	Asp	Phe	Tyr	Ile	Pro
145				150					155						160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

Gly Leu Ser Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
195 200 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp
225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
245 250

<210> 21
<211> 702
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 21
atgtggcagc tgctcctccc aactgctctg ctacttctag tttcagctgg catgcccgaact 60
gaagatctcc caaaggctgt ggtgttctct gagcctcaat ggtacagcgt gcttgagaag 120
gacagtgtga ctctgaagtg ccagggagcc tactcccttg aggacaattc cacacagtgg 180
tttcacaatg agagcctcat ctcaagccag gcctcgagct acttcattga cgctgccaca 240
gtcaacgaca gtggagagta caggtgccag aaaaacctct ccacctcag tgacctgggtg 300

cagctagaag tccatatogg ctggctgttg ctccaggccc ctoggtgggt gttcaaggag 360
gaagacccta ttcacctgag gtgtcacagc tggaagaaca ctgctctgca taaggtcaca 420
tatttacaga atggcaaaga caggaagtat ttcatcata attctgactt ccacattcca 480
aaagccacac tcaaagatag cggctoctac ttctgcaggg ggcttggttg gagtaaaaat 540
gtgtcttcag agactgtgaa catcaccatc actcaaggtt tggcagtgtc aaccatctca 600
tcattctctc cacctgggta ccaagtctct ttctgcttgg tgatggtact cctttttgca 660
gtggacacag gactatattt ctctgtgaag acaaacattt ga 702

<210> 22
<211> 233
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Val Ser Ala
1 5 10 15

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

Gln Trp Tyr Ser Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr

65						70						75						80
Val	Asn	Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Arg	Cys	Gln	Thr	Asn	Leu	Ser	Thr	Leu			
				85					90					95				
Ser	Asp	Pro	Val	Gln	Leu	Glu	Val	His	Ile	Gly	Trp	Leu	Leu	Leu	Gln			
				100					105					110				
Ala	Pro	Arg	Trp	Val	Phe	Lys	Glu	Glu	Asp	Pro	Ile	His	Leu	Arg	Cys			
				115					120					125				
His	Ser	Trp	Lys	Asn	Thr	Ala	Leu	His	Lys	Val	Thr	Tyr	Leu	Gln	Asn			
				130					135					140				
Gly	Lys	Asp	Arg	Lys	Tyr	Phe	His	His	Asn	Ser	Asp	Phe	His	Ile	Pro			
				145					150					155				
Lys	Ala	Thr	Leu	Lys	Asp	Ser	Gly	Ser	Tyr	Phe	Cys	Arg	Gly	Leu	Val			
				165					170					175				
Gly	Ser	Lys	Asn	Val	Ser	Ser	Glu	Thr	Val	Asn	Ile	Thr	Ile	Thr	Gln			
				180					185					190				
Gly	Leu	Ala	Val	Ser	Thr	Ile	Ser	Ser	Phe	Ser	Pro	Pro	Gly	Tyr	Gln			
				195					200					205				
Val	Ser	Phe	Cys	Leu	Val	Met	Val	Leu	Leu	Phe	Ala	Val	Asp	Thr	Gly			
				210					215					220				
Leu	Tyr	Phe	Ser	Val	Lys	Thr	Asn	Ile										

225 230

<210> 23
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 23

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 24

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 24

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50					55					60					
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85					90					95	
Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
			100					105					110		
Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
		115					120					125			
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
130						135					140				
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
145					150					155					160
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn
				165					170					175	
Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp
			180					185					190		
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro
		195					200					205			
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu

210

215

220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225230235240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245250255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260265270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275280285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290295300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305310315320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 25
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 25

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

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

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
100 105 110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
115 120 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
130 135 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 26
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 26

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50					55					60					
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
65					70					75					80
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85					90					95	
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro
			100					105					110		
Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
		115					120					125			
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
	130					135					140				
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145					150					155					160
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
				165					170					175	
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
		180						185					190		
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
		195					200					205			
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg

210

215

220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225230235240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245250255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260265270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275280285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290295300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305310315320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 27

<211> 549

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 27

atggaacagg ggaagggcct ggctgtcctc atcctggcta tcattcttct tcaagg tact60

ttggcccagt caatcaaagg aaaccacttg gttaagg tgt atgactatca agaagatggt120

tcggtacttc tgacttgtga tgcagaagcc aaaaatatca catggtttaa agatgggaag 180
atgatcggct tcctaactga agataaaaaa aaatggaatc tgggaagtaa tgccaaggac 240
cctcgaggga tgtatcagtg taaaggatca cagaacaagt caaaaccact ccaagtgtat 300
tacagaatgt gtcagaactg cattgaacta aatgcagcca ccatatctgg ctttctcttt 360
gctgaaatcg tcagcatitt cgtccttgct gttggggtct acttcattgc tggacaggat 420
ggagttcgcc agtcgagagc ttcagacaag cagactctgt tgoccaatga ccagctctac 480
cagccctca aggatcgaga agatgaccag tacagccacc ttcaaggaaa ccagttgagg 540
aggaattga 549

<210> 28
<211> 182
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

Met Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu
1 5 10 15

Leu Gln Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys
20 25 30

Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala
35 40 45

Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe
50 55 60

Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp
65 70 75 80

Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro
 85 90 95

Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala
 100 105 110

Ala Thr Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val
 115 120 125

Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln
 130 135 140

Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr
145 150 155 160

Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly
 165 170 175

Asn Gln Leu Arg Arg Asn
 180

<210> 29
<211> 516
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 29
atggaacata gcacgtttct ctctggcctg gtactggcta cccttctctc gcaagtgagc 60

cccttcaaga tacctataga ggaactigag gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc 120
atcacatggg tagagggaac ggtgggaaca ctgctctcag acattacaag actggacctg 180
ggaaaacgca tcctggaccc acgaggaata tataggtgta atgggacaga tatatacaag 240
gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat 300
ccagccaccg tggctggcat cattgtcact gatgtcattg ccactctgct ccttgctttg 360
ggagtcttct gctttgctgg acatgagact ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa 420
gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag cccctccgag atogagatga tgctcagtac 480
agccacottg gaggaaactg ggctcggaac aagtga 516

<210> 30
<211> 171
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

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

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

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

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

cacaatgata aaaacatagg cggatgatgag gatgataaaa acataggcag tgatgaggat 240
cacctgtcac tgaaggaatt ttcagaattg gagcaaagtg gttattatgt ctgctacccc 300
agaggaagca aaccagaaga tgcgaacttt tatctctacc tgagggcaag agtgtgtgag 360
aactgcatgg agatggatgt gatgtcggtg gccacaattg tcatagtgga catotgcatc 420
actgggggct tgctgctgct ggtttactac tggagcaaga atagaaaggc caaggccaag 480
cctgtgacac gaggagcggg tgctggcggc aggcaaaggg gacaaaacaa ggagaggcca 540
ccacctgttc ccaaccaga ctatgagccc atccggaaag gccagcggga cctgtattct 600
ggcctgaatc agagacgcat ctga 624

<210> 32
<211> 207
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 33
<211> 523
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 33

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

450 455 460

Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr
465 470 475 480

Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
485 490 495

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ala His His His His His His His His
515 520

<210> 34
<211> 753
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 34

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
145 150 155 160

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
165 170 175

Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr
245 250 255

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
260 265 270

Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys
275 280 285

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
290 295 300

Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
305 310 315 320

Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly
325 330 335

Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala
340 345 350

Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
355 360 365

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
385 390 395 400

Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
405 410 415

Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
420 425 430

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
435 440 445

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
450 455 460

Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr
465 470 475 480

Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
485 490 495

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ala Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
515 520 525

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
530 535 540

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
545 550 555 560

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
565 570 575

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
580 585 590

Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
595 600 605

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
610 615 620

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
625 630 635 640

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
645 650 655

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
660 665 670

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
675 680 685

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
690 695 700

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
705 710 715 720

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
725 730 735

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His His His His His
740 745 750

His

<210> 35
<211> 257
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 35

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
20 25 30

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

35

40

45

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

505560

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

65707580

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

859095

Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

100105110

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

115120125

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

130135140

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys

145150155160

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe

165170175

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

180185190

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

195

200

205

Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

210215220

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

225230235240

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp

245250255

Lys

<210> 36

<211> 514

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 36

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

151015

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

202530

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

354045

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
145 150 155 160

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
165 170 175

Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr
245 250 255

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
260 265 270

Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
275 280 285

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
290 295 300

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
305 310 315 320

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
325 330 335

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
340 345 350

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
355 360 365

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
370 375 380

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
385 390 395 400

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
405 410 415

Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
420 425 430

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
435 440 445

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
450 455 460

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
465 470 475 480

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
485 490 495

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
500 505 510

Asp Lys

<210> 37
<211> 629
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 37

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
145 150 155 160

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
165 170 175

Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr
245 250 255

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys

275280285

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

290295300

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys

305310315320

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe

325330335

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn

340345350

Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly

355360365

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

370375380

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His

385390395400

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val

405410415

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

420425430

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

435

440

445

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

450455460

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

465470475480

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

485490495

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

500505510

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro

515520525

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu

530535540

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

545550555560

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

565570575

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

580585590

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

595600605

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His

610615620

His His His His His
625

<210> 38
<211> 613
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 38

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

15105

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

202530

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

354045

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu

505560

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser

65707580

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
145 150 155 160

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
165 170 175

Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr
245 250 255

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln
260 265 270

Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys
275 280 285

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
290 295 300

Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
305 310 315 320

Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly
325 330 335

Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala
340 345 350

Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
355 360 365

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
370 375 380

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
385 390 395 400

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
405 410 415

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
420 425 430

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
435 440 445

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
450 455 460

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
465 470 475 480

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
485 490 495

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
500 505 510

Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
515 520 525

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
530 535 540

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
545 550 555 560

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
565 570 575

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
580 585 590

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys
595 600 605

Asp Asp Asp Asp Lys
610

<210> 39
<211> 470
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 39

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu

210	215	220
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
225	230	235 240
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser		
245	250	255
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
260	265	270
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
275	280	285
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
290	295	300
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val		
305	310	315 320
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
325	330	335
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
340	345	350
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
355	360	365
Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys		

370

375

380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

385390395400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

405410415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

420425430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

435440445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr

450455460

Lys Asp Asp Asp Asp Lys

465470

<210> 40
<211> 238
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 40

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

15105

Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 41
<211> 470
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 41

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu

50					55					60					
Glu	Trp	Ile	Gly	Ala	Ile	Asp	Pro	Lys	Thr	Gly	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser
65					70					75					80
Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser
				85					90					95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			100					105						110	
Tyr	Tyr	Cys	Thr	Arg	Phe	Tyr	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		115					120					125			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
	130					135					140				
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
145					150					155					160
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
				165					170					175	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			180					185					190		
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
		195					200					205			
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser

370

375

380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

385390395400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

405410415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

420425430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

435440445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His

450455460

His His His His His His

465470

<210> 42
<211> 734
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 42

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

15105

Val His Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
35 40 45

Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu
50 55 60

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile
85 90 95

Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp
100 105 110

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
130 135 140

Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser
145 150 155 160

Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
180 185 190

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
195 200 205

Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu
210 215 220

Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr
225 230 235 240

Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala
245 250 255

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Gly Gly Gly Gly
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
275 280 285

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
290 295 300

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile
305 310 315 320

Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro
325 330 335

Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr
340 345 350

Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
355 360 365

Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser
370 375 380

Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
385 390 395 400

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
405 410 415

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
420 425 430

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
435 440 445

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
450 455 460

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
465 470 475 480

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
485 490 495

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
500 505 510

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
515 520 525

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
530 535 540

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
545 550 555 560

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
565 570 575

Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
580 585 590

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
595 600 605

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
610 615 620

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr
625 630 635 640

Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
645 650 655

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
660 665 670

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
675 680 685

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
690 695 700

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
705 710 715 720

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
725 730

<210> 43
<211> 462
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 43

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

354045

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu

505560

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser

65707580

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser

859095

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

100105110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

115120125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

130135140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

145150155160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

165170175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

180185190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys His His
225 230 235 240

His His His His His His
245

<210> 45
<211> 505
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 45

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

354045

Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

505560

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

65707580

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

859095

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys

100105110

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu

115120125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro

130135140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu

145150155160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn

165170175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser

180185190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala

195										200										205																			
Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly																								
210										215										220																			
Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Gly	Gly																								
225										230										235										240									
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Ser																								
										245										250										255									
Ala	Leu	Thr	Thr	Ser	Pro	Gly	Glu	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Arg	Ser																								
										260										265										270									
Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Glu																								
										275										280										285									
Lys	Pro	Asp	His	Leu	Phe	Thr	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg																								
										290										295										300									
Ala	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Ile	Gly	Asp	Lys																								
305										310										315										320									
Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Ile	Tyr																								
										325										330										335									
Phe	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr																								
										340										345										350									
Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly																								

355					360					365					
Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Lys	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val
370			375			380									
Gln	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr
385			390			395			400						
Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly
405				410				415							
Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr
420			425			430									
Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp
435			440			445									
Ser	Gln	Ser	Ile	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp
450			455			460									
Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr
465			470			475			480						
Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
485				490				495							
Ala	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys							
500			505												

<211> 729

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 46

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
370 375 380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser
465 470 475 480

Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser
485 490 495

Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu
500 505 510

Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg
515 520 525

Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys
530 535 540

Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr
545 550 555 560

Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
565 570 575

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
580 585 590

Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
595 600 605

Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
610 615 620

Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
625 630 635 640

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
645 650 655

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
660 665 670

Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
675 680 685

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
690 695 700

Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
705 710 715 720

Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
725

<210> 47
<211> 729
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 47

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

305310315320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

325330335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

340345350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

355360365

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys

370375380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

385390395400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

405410415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

420425430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

435440445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly

450455460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser

465					470						475					480
Ala	Leu	Thr	Thr	Ser	Pro	Gly	Glu	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Arg	Ser	
				485					490						495	
Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Glu	
			500					505						510		
Lys	Pro	Asp	His	Leu	Phe	Thr	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	
		515					520					525				
Ala	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Ile	Gly	Asp	Lys	
	530					535					540					
Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Ile	Tyr	
545				550						555					560	
Phe	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	
			565					570						575		
Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
		580					585						590			
Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Lys	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	
	595					600						605				
Gln	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	
	610					615					620					
Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	

625

630

635

640

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr

645

650

655

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

660

665

670

Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp

675

680

685

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr

690

695

700

Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

705

710

715

720

Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

725

<210> 48
<211> 470
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 48

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1

5

10

15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His
450 455 460

His His His His His His
465 470

<210> 49
<211> 600
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 49

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

130				135				140							
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
145					150					155					160
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
				165					170					175	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			180					185					190		
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
		195					200					205			
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
210						215					220				
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
225					230					235					240
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
				245					250					255	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
		260						265					270		
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
		275					280					285			
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala

290	295	300
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val		
305	310	315 320
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
	325	330 335
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
	340	345 350
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
	355	360 365
Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys		
	370	375 380
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
385	390	395 400
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
	405	410 415
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
	420	425 430
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
	435	440 445
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly		

450	455	460
Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln		
465	470	475
480		
Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe		
485	490	495
Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
500	505	510
Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr		
515	520	525
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser		
530	535	540
Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr		
545	550	555
560		
Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val		
565	570	575
Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala		
580	585	590
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys		
595	600	

<210> 50

<211> 584
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 50

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser
465 470 475 480

Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
485 490 495

Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu
500 505 510

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro
515 520 525

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile
530 535 540

Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp
545 550 555 560

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
565 570 575

His His His His His His His His
580

<210> 51
<211> 605
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 51

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

130					135					140					
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
145					150					155				160	
Cys					Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
					165							170			175
Ser					Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
					180							185			190
Ser					Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
					195							200			205
Ser					Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
					210							215			220
Asn					Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
					225							230			235
His					Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala
					245								250		255
Val					Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
					260								265		270
Thr					Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
					275								280		285
Glu					Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
															Val
															His
															Asn
															Ala

290	295	300
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val		
305	310	315 320
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
	325	330 335
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
	340	345 350
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
	355	360 365
Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys		
	370	375 380
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
385	390	395 400
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
	405	410 415
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
	420	425 430
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
	435	440 445
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly		

450	455	460
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly		
465	470	475 480
Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala		
	485	490 495
Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala		
	500	505 510
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn		
	515	520 525
Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile		
	530	535 540
Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu		
	545	550 555 560
Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe		
	565	570 575
Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
	580	585 590
Val Thr Val Ser Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys		
	595	600 605

<210> 52

<211> 589

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 52

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser
465 470 475 480

Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser
485 490 495

Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu
500 505 510

Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg
515 520 525

Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys
530 535 540

Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr
545 550 555 560

Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
565 570 575

Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His His
580 585

<210> 53
<211> 610
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 53

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

130					135					140					
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
145					150					155				160	
Cys					Leu					Val					
					165					170				175	
Ser					Gly					Ala					
					180					185				190	
Ser					Ser					Val					
					195					200				205	
Ser					Leu					Gly					
					210					215				220	
Asn					Thr					Lys					
					225					230				235	
His					Thr					Cys					
					245					250				255	
Val					Phe					Leu					
					260					265				270	
Thr					Pro					Glu					
					275					280				285	
Glu					Val					Lys					

290						295						300					
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val		
305					310					315					320		
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr		
				325					330					335			
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr		
			340					345						350			
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu		
		355					360						365				
Pro	Pro	Ser	Arg	Cys	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys		
		370					375					380					
Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser		
385					390					395					400		
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp		
				405					410					415			
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser		
			420						425				430				
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala		
		435					440						445				
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly		

450				455				460									
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Lys		
465				470				475				480					
Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Lys		
				485				490				495					
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn		
500								505				510					
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile		
515								520				525					
Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys		
530								535				540					
Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Gln	Ser	Ile	Leu	Tyr	Leu		
545				550								555				560	
Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Val		
				565								570				575	
Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp		
				580				585								590	
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp		
595								600								605	
Asp		Lys															

610

- <210> 54
- <211> 594
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> 人工合成的序列

- <400> 54

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val
465 470 475 480

Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr
485 490 495

Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala
500 505 510

Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
515 520 525

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
530 535 540

Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu
545 550 555 560

Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
565 570 575

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His
580 585 590

His His

<210> 55
<211> 615
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 55

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

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

100					105					110						
Tyr	Tyr	Cys	Thr	Arg	Phe	Tyr	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
115					120					125						
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	
130					135					140						
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	
145					150					155					160	
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
165					170					175						
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	
180					185					190						
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	
195					200					205						
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
210					215					220						
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	
225					230					235					240	
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	
245					250					255						
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	

260										265										270											
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro																
275					280					285																					
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala																
290					295					300																					
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val																
305					310					315					320																
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr																
					325					330					335																
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr																
					340					345					350																
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu																
					355					360					365																
Pro	Pro	Ser	Arg	Cys	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys																
370					375					380																					
Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser																
385					390					395					400																
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp																
					405					410					415																
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser																

580 585 590

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Asp

595 600 605

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

610 615

<210> 56

<211> 599

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 56

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser

65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro
485 490 495

Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr
500 505 510

Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe
515 520 525

Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala
530 535 540

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr
545 550 555 560

Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr
565 570 575

Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His
580 585 590

His His His His His His His
595

<210> 57
<211> 610
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 57

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser

65						70						75						80
Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser			
				85					90					95				
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val			
				100					105					110				
Tyr	Tyr	Cys	Thr	Arg	Phe	Tyr	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr			
				115					120					125				
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro			
				130					135					140				
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly			
				145					150					155				
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn			
				165					170					175				
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln			
				180					185					190				
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser			
				195					200					205				
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser			
				210					215					220				
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr			

225230235240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser

245250255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

260265270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

275280285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

290295300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val

305310315320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

325330335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

340345350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

355360365

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys

370375380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

385						390						395					400
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp		
				405					410					415			
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser		
			420					425					430				
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala		
		435					440					445					
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly		
	450					455					460						
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Lys		
465					470					475					480		
Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Lys		
				485					490					495			
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn		
		500						505					510				
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Cys	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile		
	515						520					525					
Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys		
	530					535					540						
Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Gln	Ser	Ile	Leu	Tyr	Leu		

545 550 555 560

Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val
 565 570 575

Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
 580 585 590

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
 595 600 605

Asp Lys
610

<210> 58
<211> 594
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 58

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val
465 470 475 480

Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr
485 490 495

Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala
500 505 510

Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
515 520 525

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
530 535 540

Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu
545 550 555 560

Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
565 570 575

Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His
580 585 590

His His

- <210> 59
- <211> 704
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 59

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35					40					45						
Thr	Asp	Tyr	Glu	Met	His	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	
50					55					60						
Glu	Trp	Ile	Gly	Ala	Ile	Asp	Pro	Lys	Thr	Gly	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	
65					70					75					80	
Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	
					85					90					95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	
					100					105					110	
Tyr	Tyr	Cys	Thr	Arg	Phe	Tyr	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
					115					120					125	
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	
130					135					140						
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	
145					150					155					160	
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
					165					170					175	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	
					180					185					190	
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	

195200205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210215220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225230235240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245250255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260265270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275280285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290295300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305310315320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325330335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340345350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

515	520	525
Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
530	535	540
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu		
545	550	555
		560
Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val		
	565	570
		575
Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp		
	580	585
		590
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro		
	595	600
		605
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr		
610	615	620
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr		
625	630	635
		640
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro		
	645	650
		655
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr		
	660	665
		670
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn		

675 680 685

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

690 695 700

<210> 60

<211> 692

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 60

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser

65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser

85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val
465 470 475 480

Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr
485 490 495

Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala
500 505 510

Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
515 520 525

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
530 535 540

Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu
545 550 555 560

Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
565 570 575

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg Thr Val Ala Ala Pro
580 585 590

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
595 600 605

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
610 615 620

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
625 630 635 640

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
645 650 655

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
660 665 670

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
675 680 685

Asn Arg Gly Glu
690

<210> 61
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 61

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

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

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

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

- <210> 62
- <211> 219
- <212> PRT
- <213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 62

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 63
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 63

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35

40

45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

505560

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65707580

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

859095

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100105110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115120125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130135140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145150155160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165170175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180185190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195

200

205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210215220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225230235240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245250255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260265270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275280285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290295300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305310315320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 64
<211> 587
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 64

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
325 330 335

Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro
340 345 350

Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr
355 360 365

Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe
370 375 380

Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala
385 390 395 400

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr
405 410 415

Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr
420 425 430

Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
450 455 460

Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu
465 470 475 480

Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met
485 490 495

Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg
500 505 510

Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
515 520 525

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr
530 535 540

Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
565 570 575

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
580 585

- <210> 65
- <211> 328
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 65

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 66
<211> 587
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 66

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
325 330 335

Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro
340 345 350

Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr
355 360 365

Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe
370 375 380

Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala
385 390 395 400

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr
405 410 415

Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr
420 425 430

Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
450 455 460

Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu
465 470 475 480

Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met
485 490 495

Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg
500 505 510

Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
515 520 525

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr
530 535 540

Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
565 570 575

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
580 585

<210> 67
<211> 141
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 67

Asp Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys
1 5 10 15

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr
35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
100 105 110

Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
115 120 125

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135 140

<210> 68
<211> 179
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68

Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1 5 10 15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
20 25 30

Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
35 40 45

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

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
85 90 95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp

100105110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg

115120125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser

130135140

Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala

145150155160

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp

165170175

Ser Arg Gly

<210> 69
<211> 173
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69

Asp Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu

151015

Pro Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys

202530

Leu Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu

354045

Lys Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys
50 55 60

Thr Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys
65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys
85 90 95

Asn Gly Val Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val
100 105 110

Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr
115 120 125

Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu
145 150 155 160

Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
165 170

<210> 70
<211> 204
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70

Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu
165 170 175

Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu
180 185 190

Gly Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
195 200

<210> 71
<211> 177
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 71

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

Thr Arg Val Thr Val Glu Pro Arg Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser
20 25 30

Val Phe Val Met Lys Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu
35 40 45

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

Thr Glu Phe Asp Pro Ala Ile Val Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn
65 70 75 80

Ala Val Lys Leu Gly Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser
85 90 95

Val Gln His Asp Asn Lys Thr Val His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys
100 105 110

Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys
115 120 125

Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu
130 135 140

Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe
145 150 155 160

Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe
165 170 175

Leu

- <210> 72
- <211> 19
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> signal 序列

<400> 72

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

- <210> 73
- <211> 466
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 73

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
35 40 45

Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu
50 55 60

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile
85 90 95

Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp
100 105 110

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
115 120 125

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
145 150 155 160

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
195 200 205

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
210 215 220

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
245 250 255

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
260 265 270

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
275 280 285

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
290 295 300

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
325 330 335

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
340 345 350

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
355 360 365

Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
370 375 380

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
385 390 395 400

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
405 410 415

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
420 425 430

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
435 440 445

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
450 455 460

Asp Lys
465

<210> 74
<211> 251
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 74

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 85 90 95

Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
 100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
 115 120 125

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 130 135 140

Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
145 150 155 160

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 165 170 175

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 180 185 190

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 195 200 205

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 210 215 220

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
225 230 235 240

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 75
<211> 484
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 75

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
115 120 125

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
130 135 140

Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
145 150 155 160

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
165 170 175

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
180 185 190

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
195 200 205

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
210 215 220

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
225 230 235 240

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp Lys Thr His Thr
245 250 255

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
260 265 270

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
275 280 285

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
290 295 300

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
305 310 315 320

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
325 330 335

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

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
355 360 365

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
370 375 380

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
385 390 395 400

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
405 410 415

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
420 425 430

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
435 440 445

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
450 455 460

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp
465 470 475 480

Asp Asp Asp Lys

- <210> 76
- <211> 233
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 76

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
35 40 45

Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu
50 55 60

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile
85 90 95

Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp
100 105 110

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
115 120 125

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
145 150 155 160

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
195 200 205

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
210 215 220

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230

- <210> 77
- <211> 466
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 77

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser
20 25 30

Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val
35 40 45

Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60

Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu
85 90 95

Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp
100 105 110

Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
115 120 125

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
145 150 155 160

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
195 200 205

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
210 215 220

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
245 250 255

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
260 265 270

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
275 280 285

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
290 295 300

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
325 330 335

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
340 345 350

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
355 360 365

Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
370 375 380

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
385 390 395 400

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
405 410 415

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
420 425 430

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
435 440 445

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
450 455 460

Asp Lys
465

- <210> 78
- <211> 251
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 78

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile
115 120 125

Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
145 150 155 160

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
165 170 175

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
180 185 190

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
195 200 205

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
210 215 220

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
225 230 235 240

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

- <210> 79
- <211> 475
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 79

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val
20 25 30

Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala
35 40 45

Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn Ile His Tyr
65 70 75 80

Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu Asp Ser Ala
100 105 110

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

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145 150 155 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
165 170 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
180 185 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
195 200 205

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
225 230 235 240

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
245 250 255

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
260 265 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
275 280 285

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
290 295 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser
305 310 315 320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
355 360 365

Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
370 375 380

Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
385 390 395 400

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
405 410 415

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro His His His His His His His
465 470 475

<210> 80
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 80

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val
20 25 30

Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys
50 55 60

Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 81
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 81

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
195 200 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
290 295 300

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro
450

- <210> 82
- <211> 216
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 82

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 83
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 83

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

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

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

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 84
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 84

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 85
<211> 453

<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 85

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
195 200 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
290 295 300

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys
355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser
405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro
450

<210> 86
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 86

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Glu Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 87
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 87

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

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

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

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

- <210> 88
- <211> 443
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 88

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

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

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

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 89
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 89

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Lys Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

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

Ser Gly Asn Ser Lys Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Lys Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 90
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 90

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Lys
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Lys Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

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

Ser Gly Asn Ser Lys Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Lys Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 91
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 91

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr
65 70 75 80

Pro Phe Thr Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln
85 90 95

Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr
100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
195 200 205

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
225 230 235 240

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
245 250 255

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
275 280 285

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
290 295 300

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr
305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
325 330 335

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
340 345 350

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
355 360 365

Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
370 375 380

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
405 410 415

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
420 425 430

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
435 440 445

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Ser Pro His His His His His His His His
465 470

- <210> 92
- <211> 233
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 92

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val
20 25 30

Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
35 40 45

Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg
50 55 60

Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg
65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser
85 90 95

Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn
100 105 110

Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr
115 120 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
130 135 140

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145 150 155 160

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
165 170 175

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
195 200 205

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
210 215 220

Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys
225					230			

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 100143903

※ 申請日： 100/11/30 ※IPC 分類： C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

細胞傷害誘導治療劑

二、中文發明摘要：

本發明發現一種新的多胜肽聯合體，其維持 BiTE 具有之強抗腫瘤活性、及安全性之優異性質，且具有長血中半衰期，且藉由將抗原結合域取代能以各種細胞為標的帶來細胞傷害。

三、英文發明摘要：

八、圖式：如後所示。

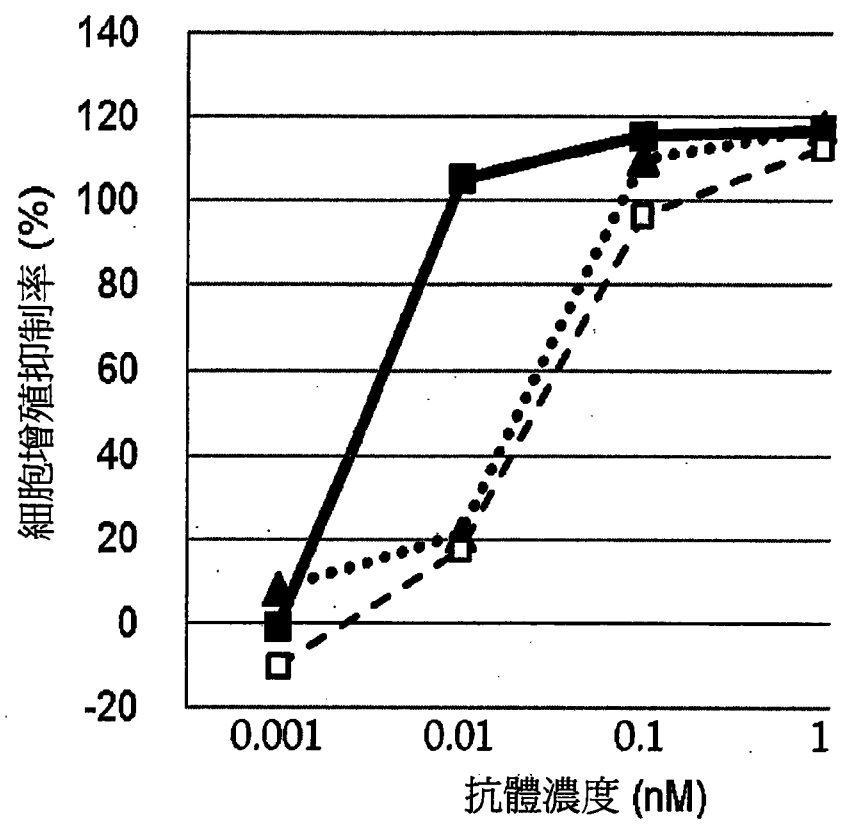


圖1

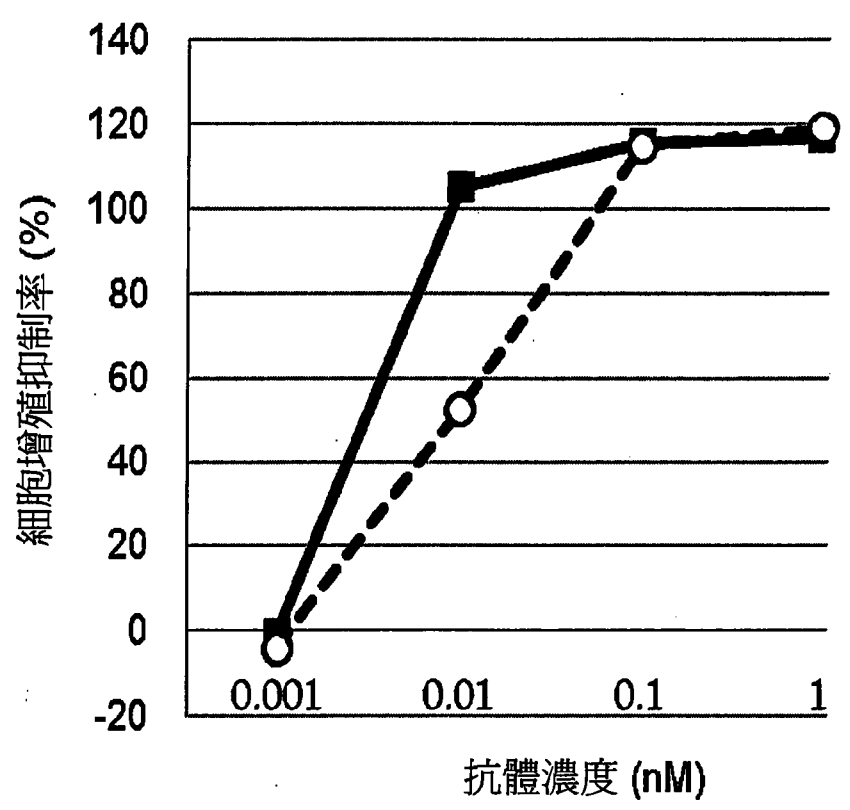


圖2

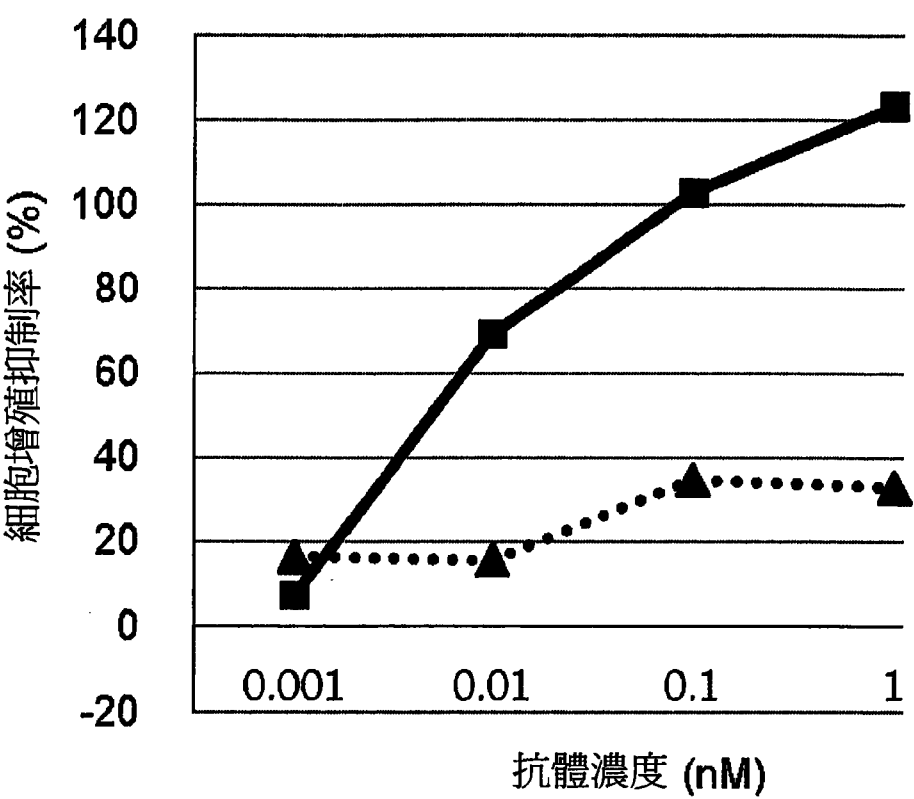


圖3

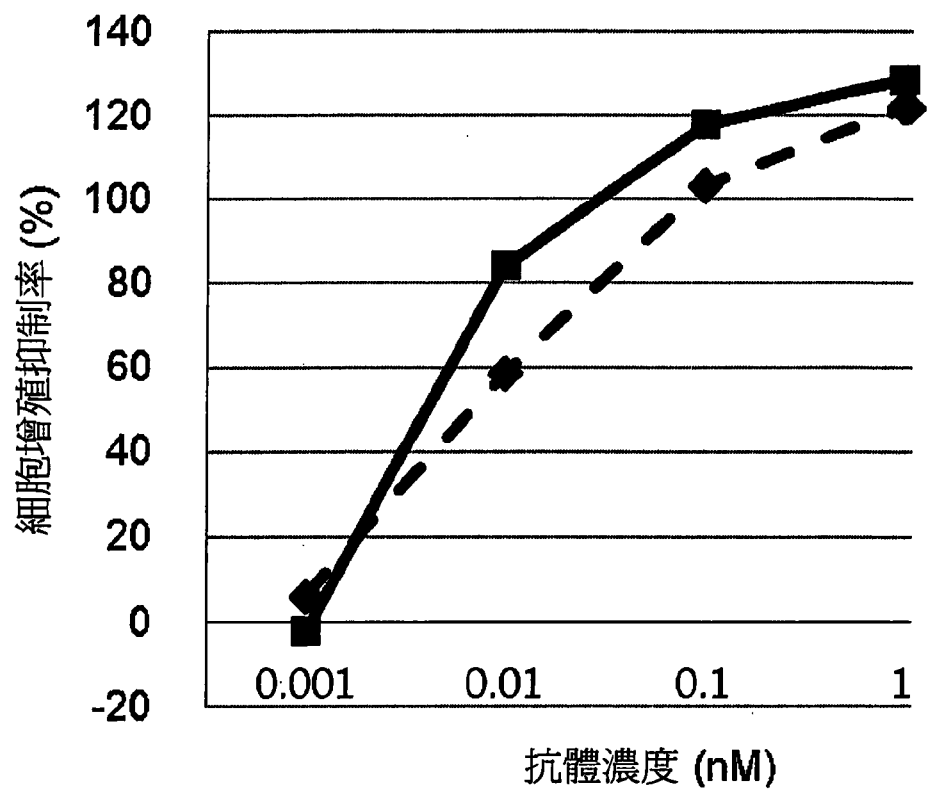


圖4

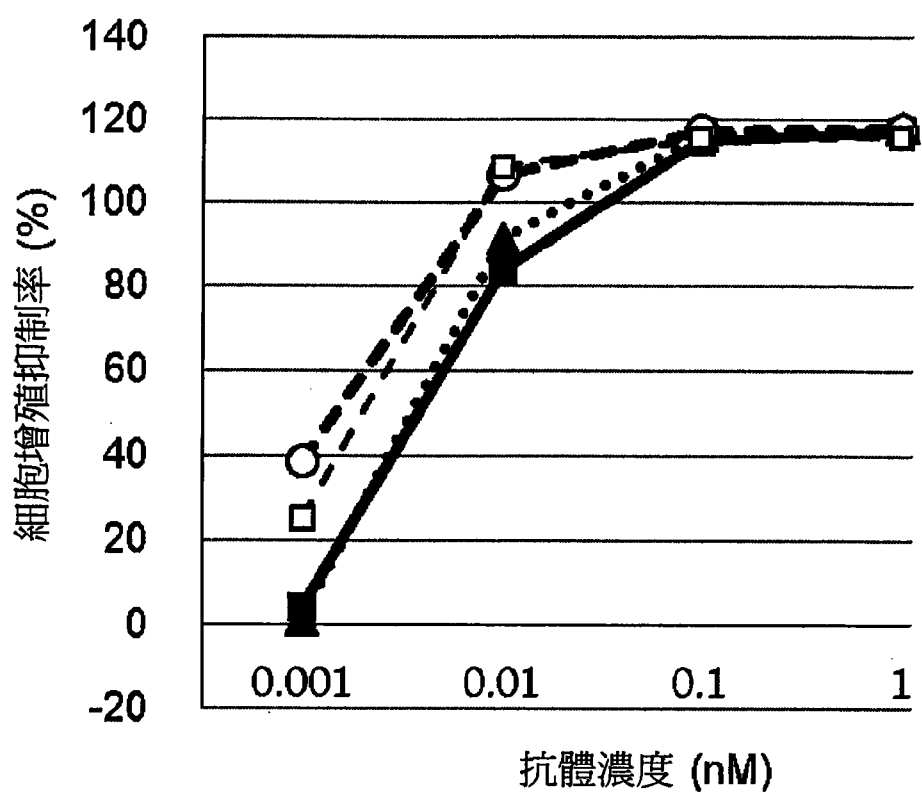


圖5

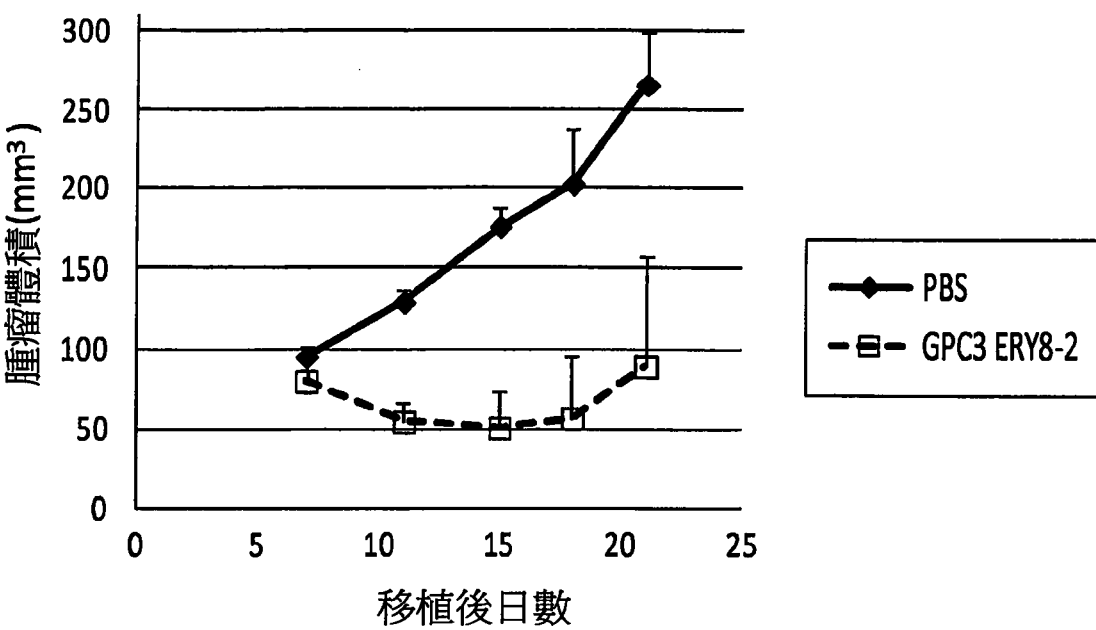


圖6

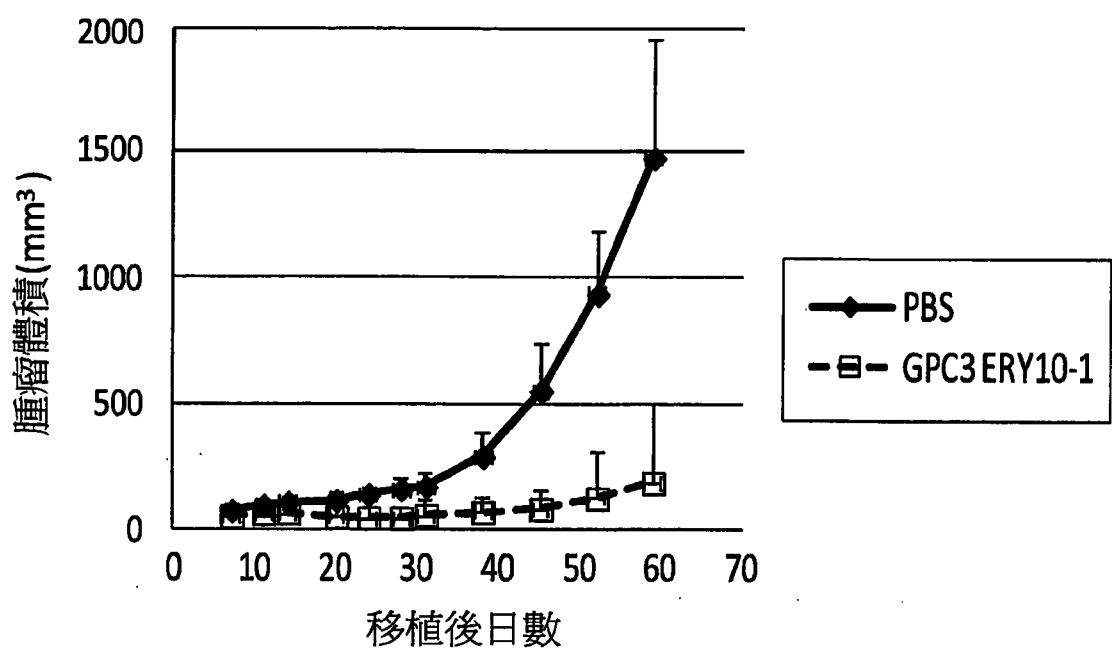


圖7

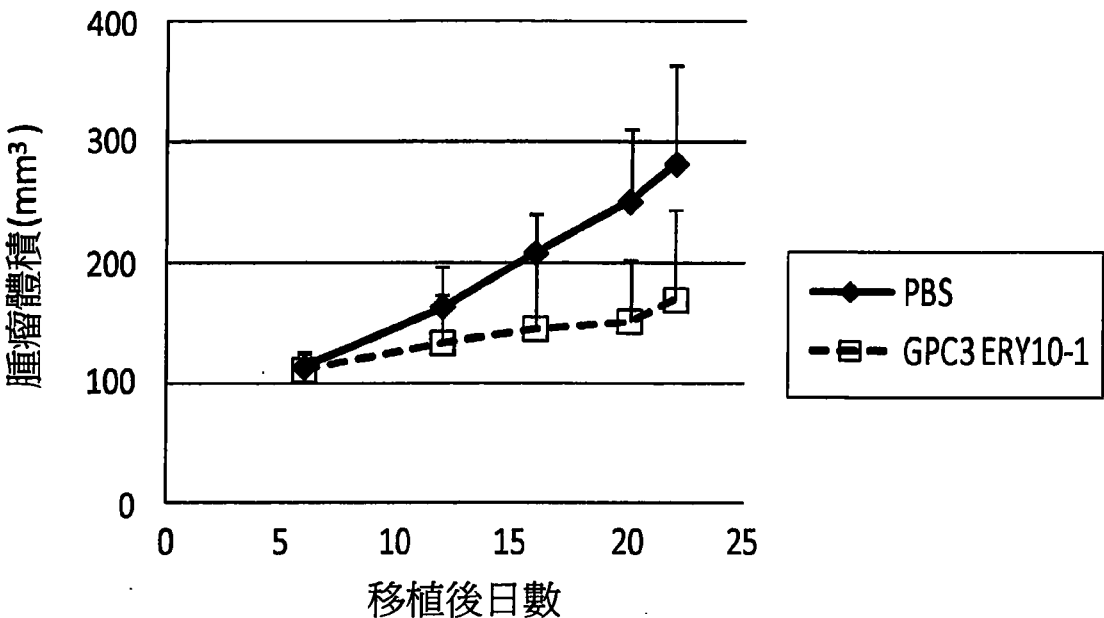


圖8

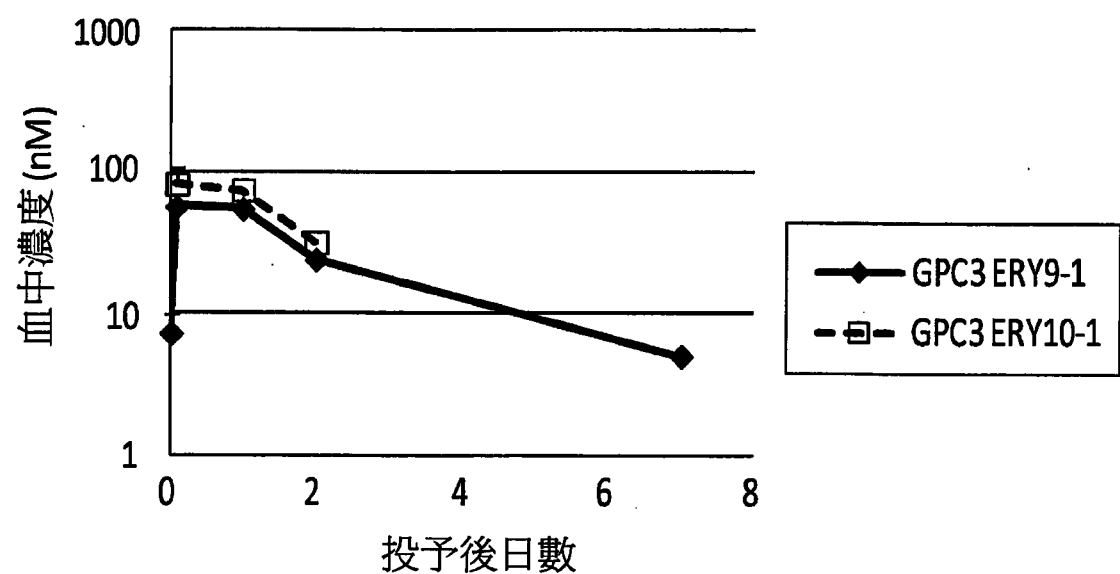


圖9

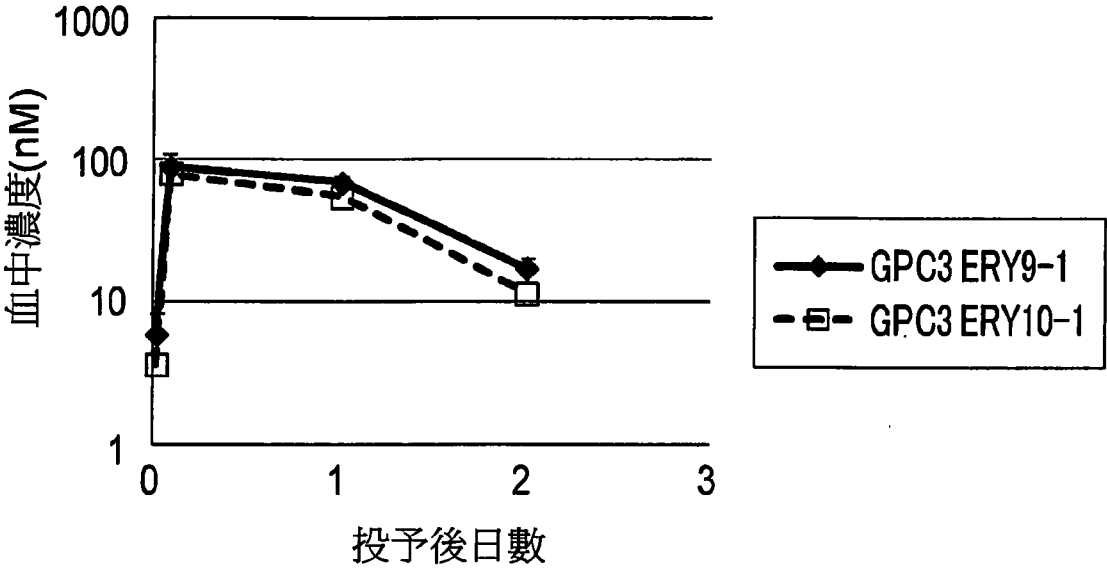


圖10

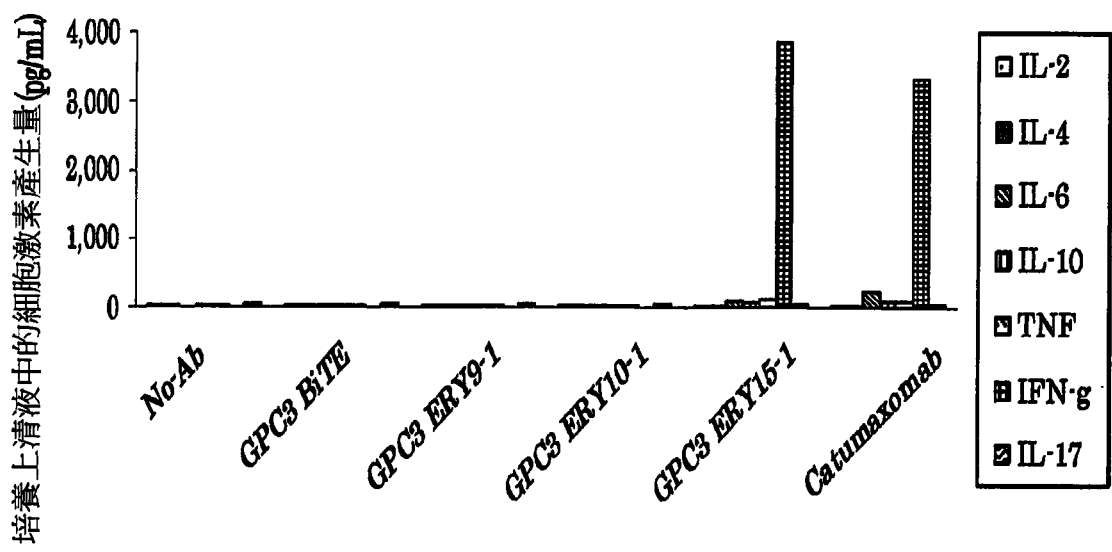


圖 11

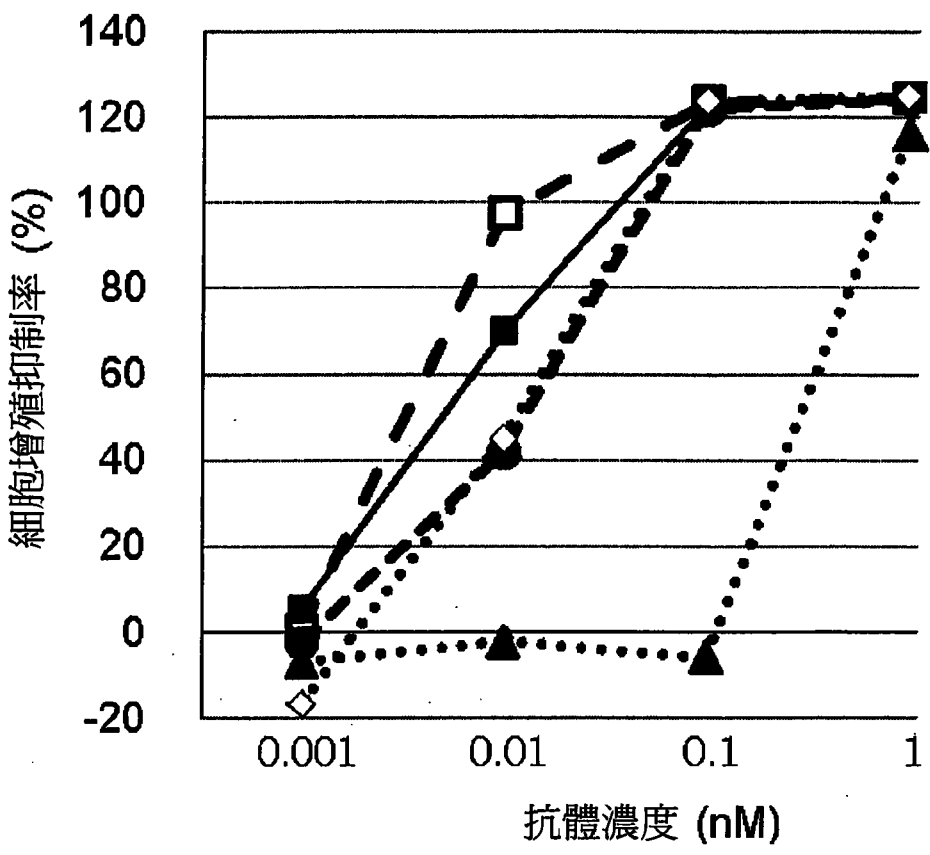


圖12

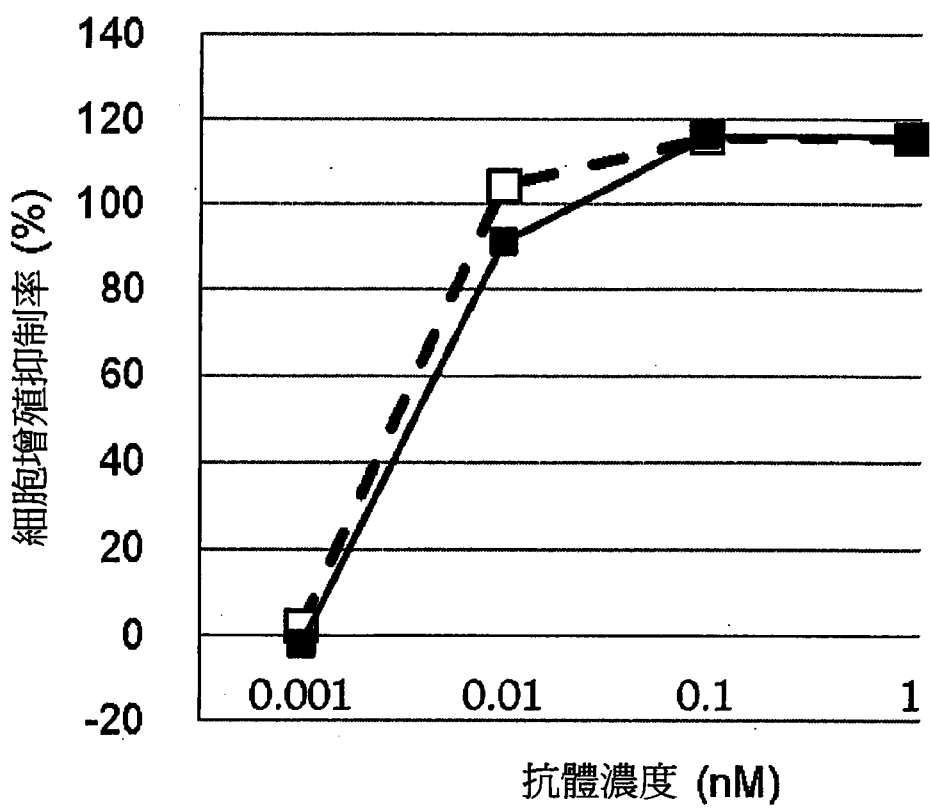


圖13

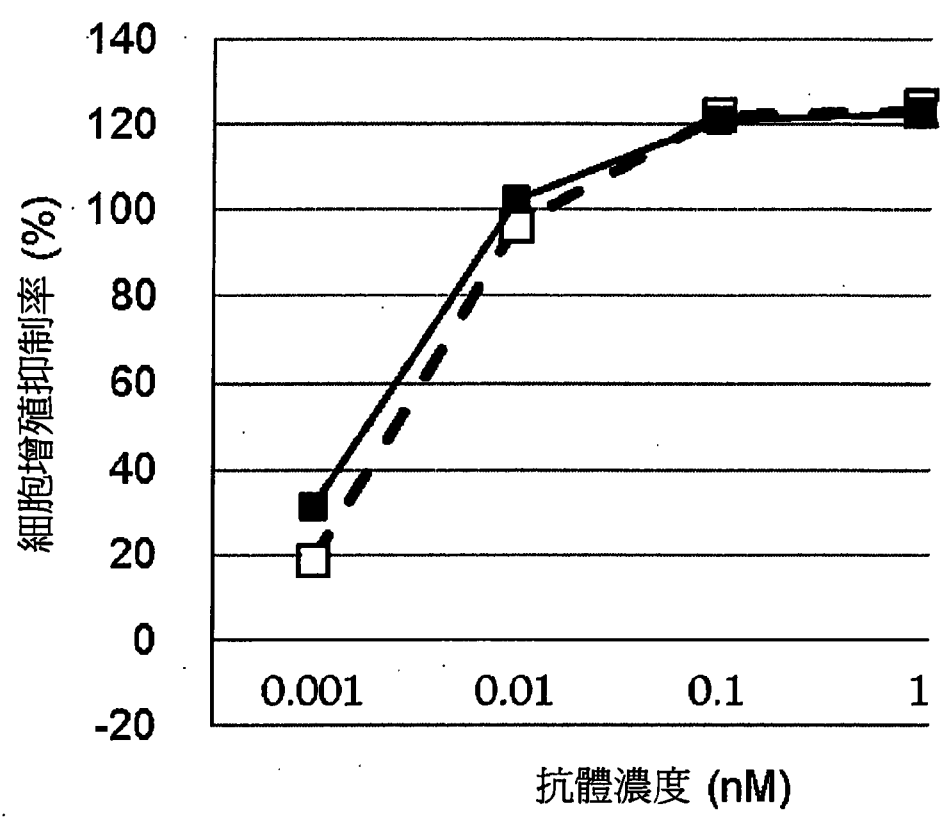


圖14

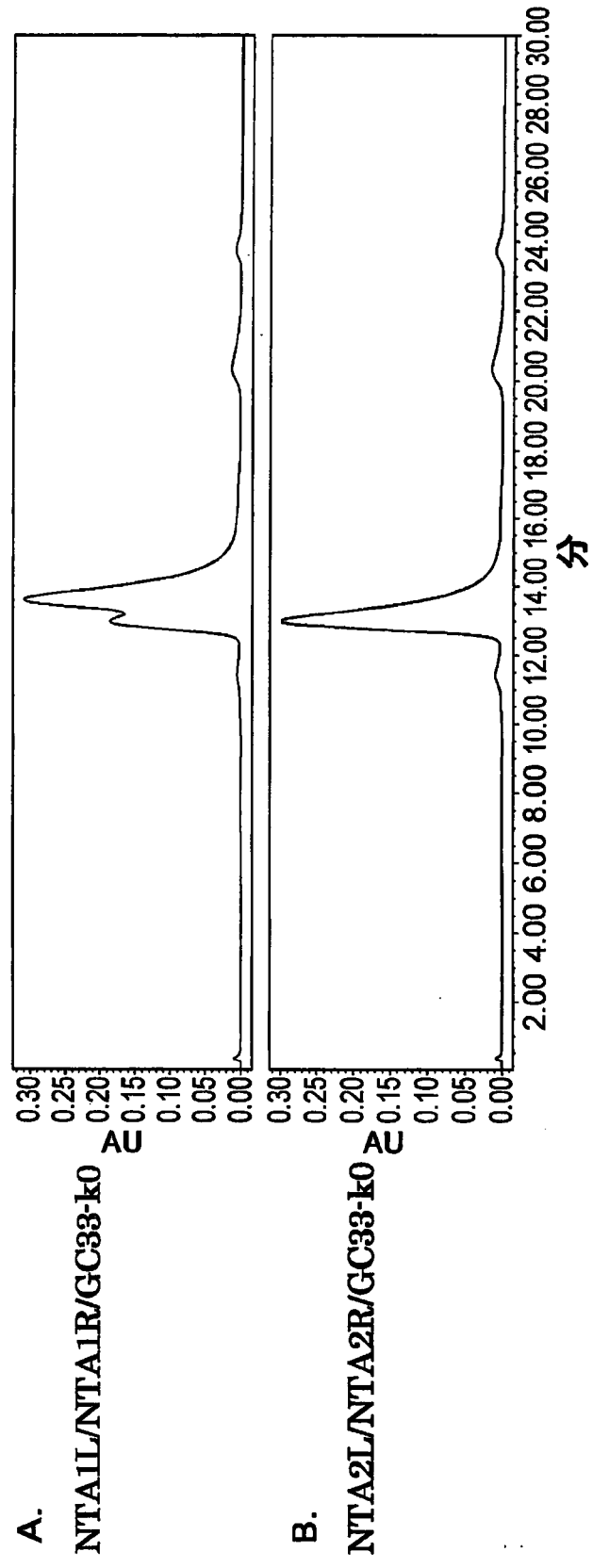


圖15

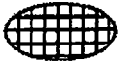
-  抗癌抗原 (GPC3、EpCAM、EGFR) 抗體H鏈可變區域
-  抗癌抗原 (GPC3、EpCAM、EGFR) 抗體L鏈可變區域
-  抗CD3抗體H鏈可變區域
-  抗CD3抗體L鏈可變區域
-  抗體恆定區
-  靜默Fc變異
-  異質Fc組合化變異

圖16

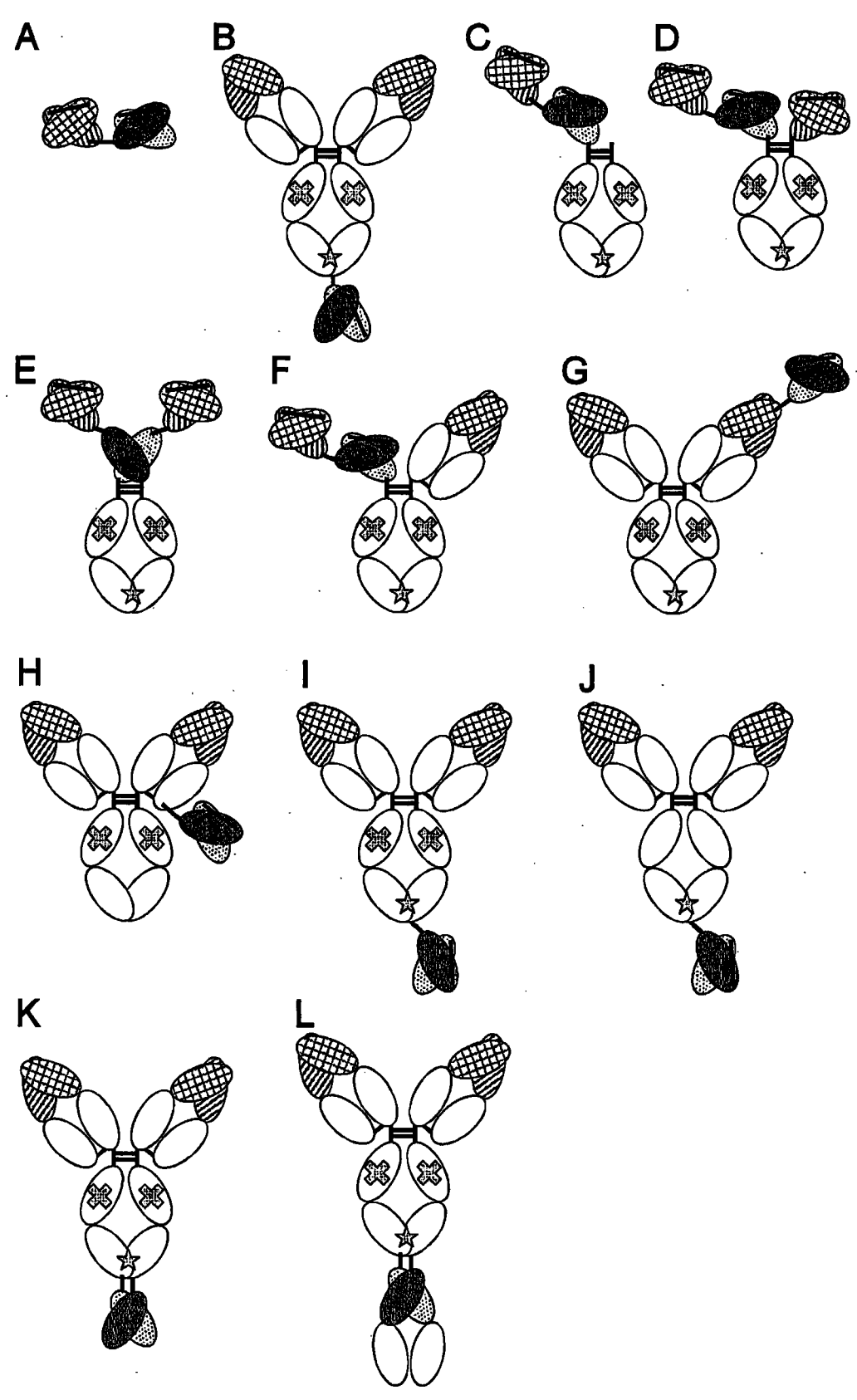


圖17

81回

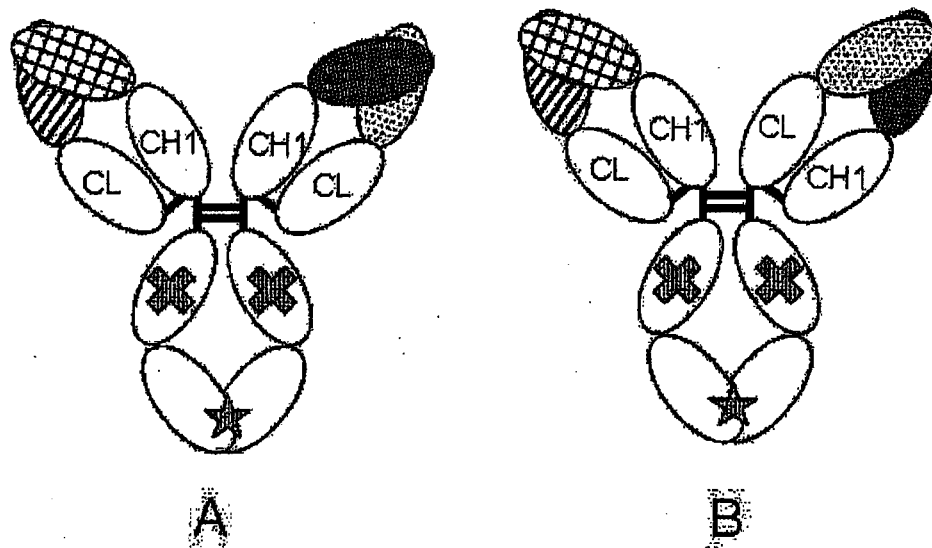


圖19

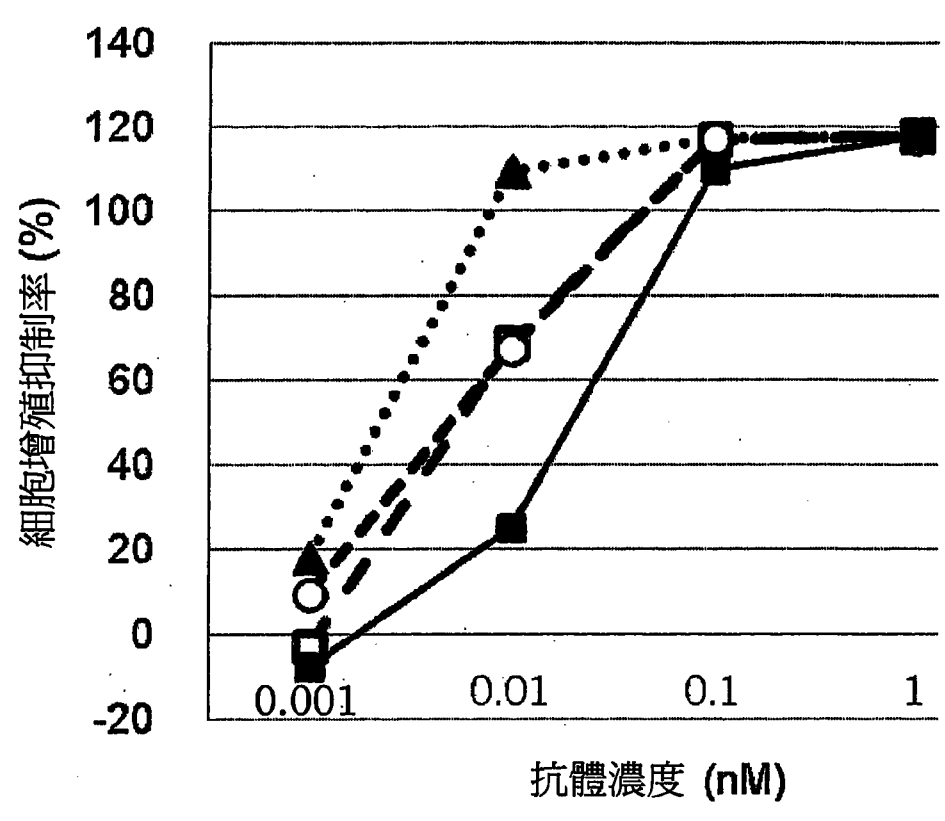


圖20

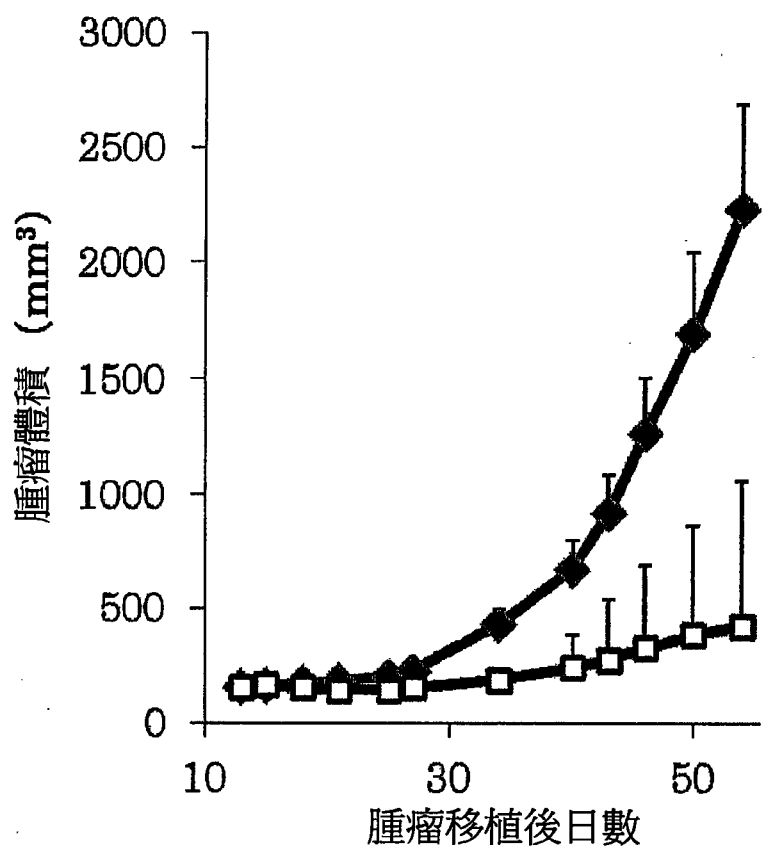


圖21

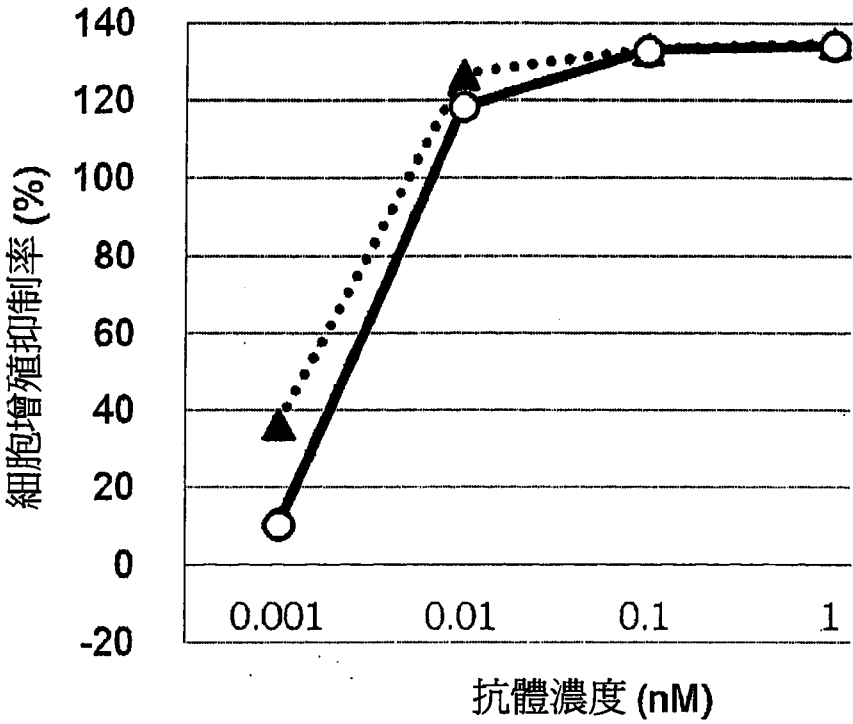


圖22

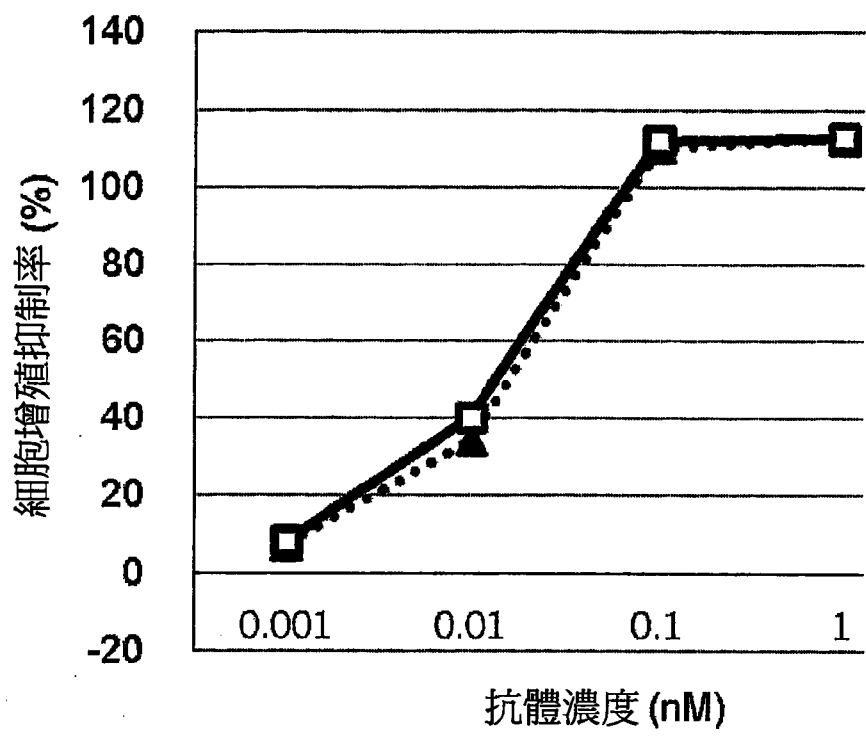


圖23

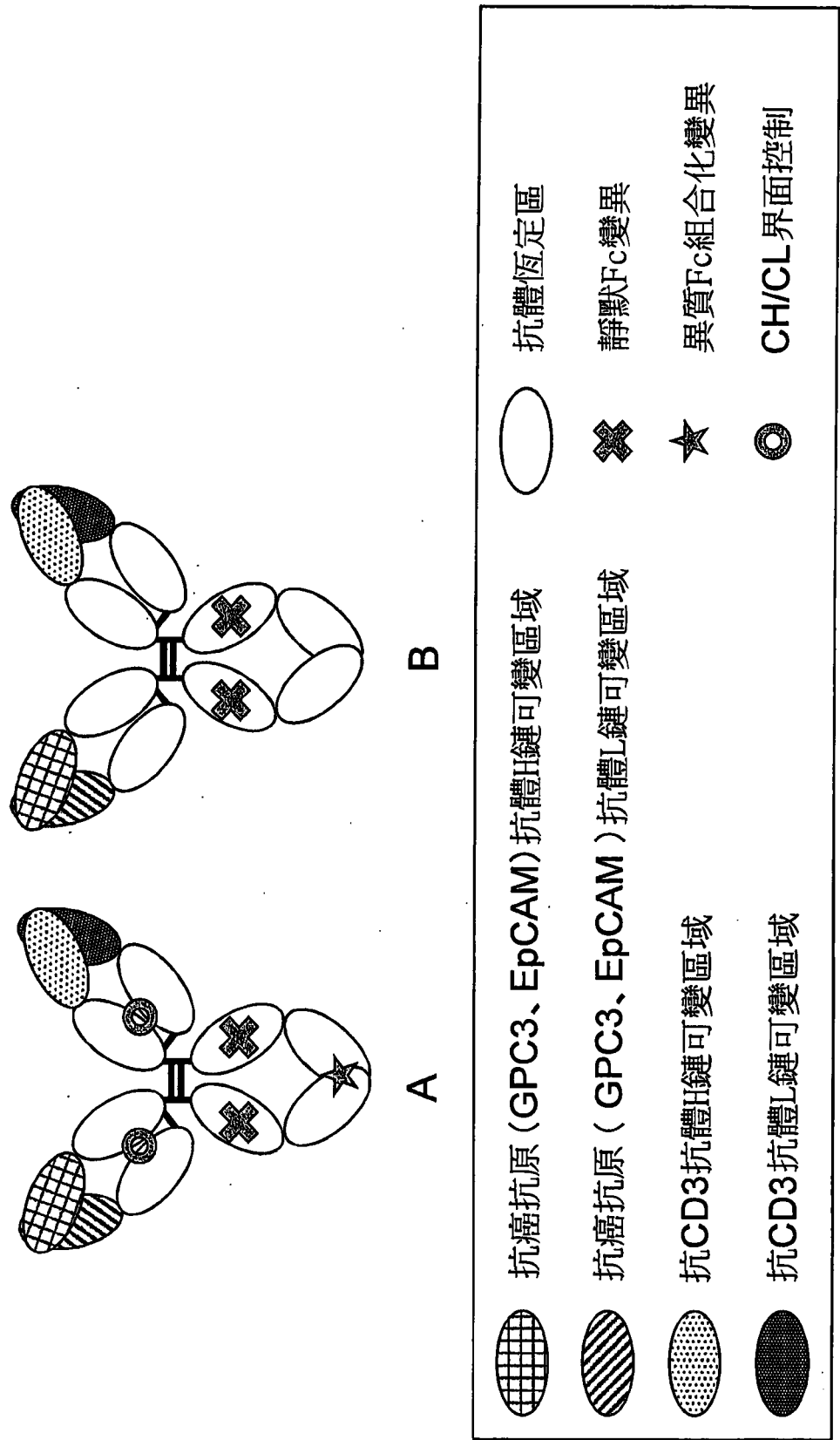


圖24

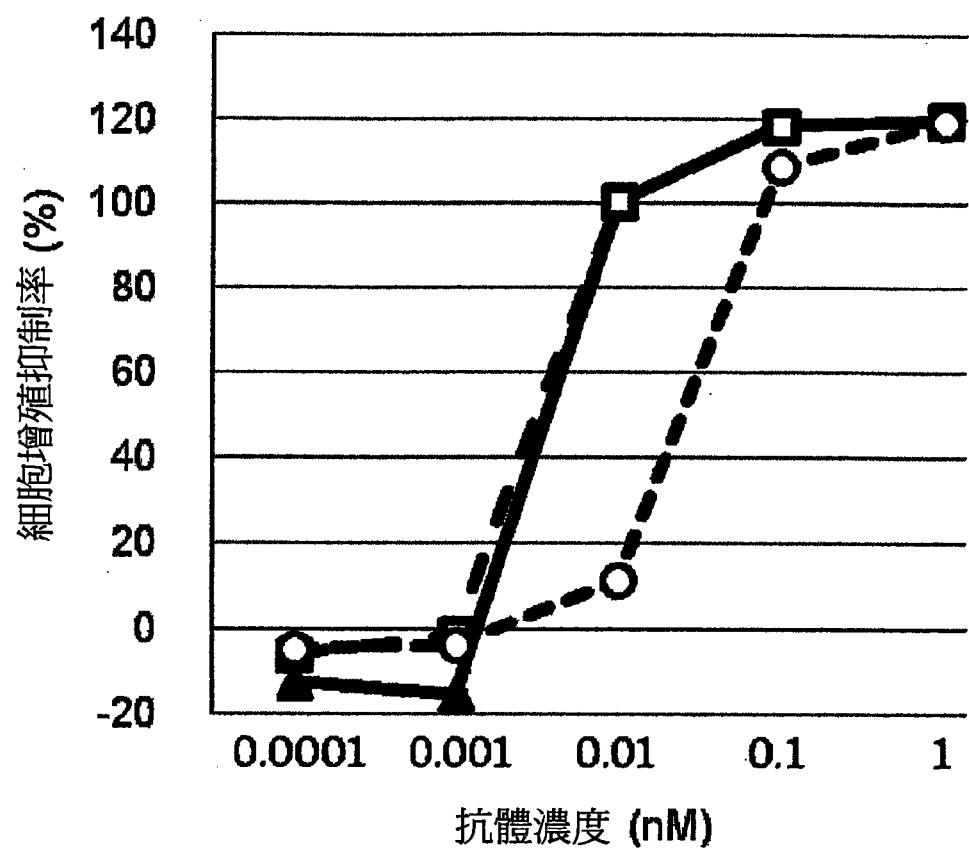


圖25

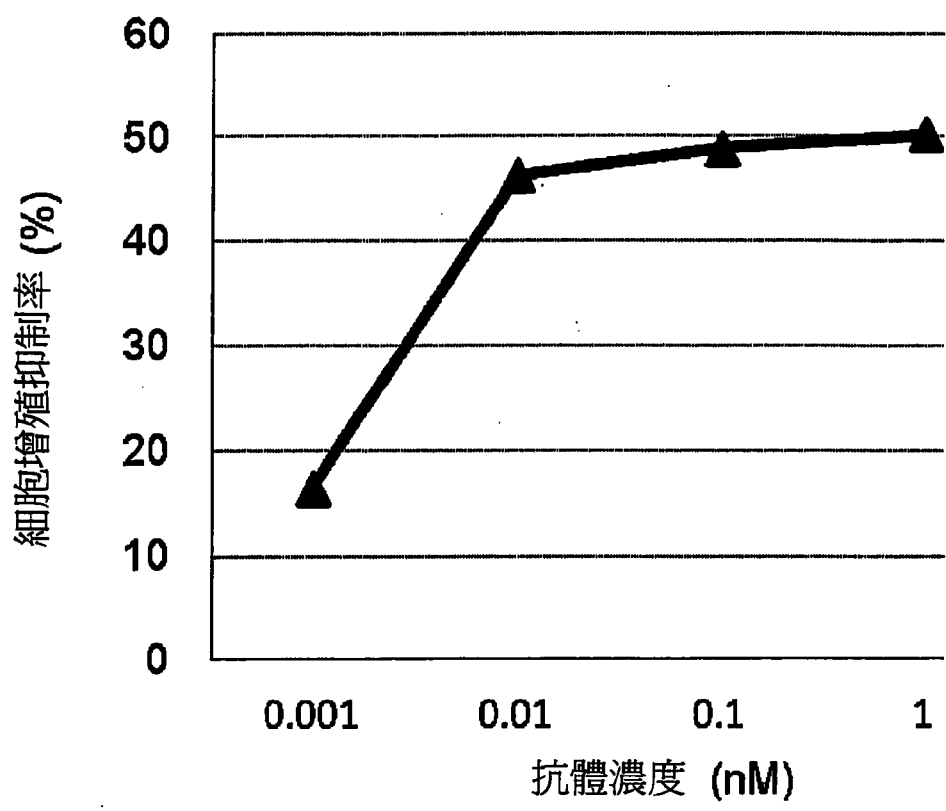


圖26

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

七、申請專利範圍：

1. 一種多胜肽聯合體，包括下列的域(domain)；

(1)癌抗原結合域，

(2)包含對 Fc γ 受體結合活性低落的 Fc 區域之域，其活性低落係相較於包含序列編號：23 至 26 任一者所示之 Fc 區域之對照多胜肽聯合體，及

(3)T 細胞受體複合體結合域，其中該 T 細胞受體複合體結合域為 Fab，且其中

(i) 構成癌抗原結合域的一價 Fab 的重鏈 Fv 片段，以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域的一個多胜肽，該 Fab 的輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，且構成 T 細胞受體結合域的 Fab 的重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域的另一個多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結；

(ii) 構成癌抗原結合域的一價 Fab 的重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域的一個多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，構成 T 細胞受體結合域的 Fab 的輕鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域的另一個多胜肽，且該 Fab 之重鏈 Fv 片段與 CL 區域連結；

(iii) 構成癌抗原結合域的一價 Fab 的重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域的一個多胜肽，該 Fab 的輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，構成 T 細胞受體結合域的 Fab 的重鏈 Fv 片段以中間為 CL 區域連結於

構成 Fc 區域的另一個多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CH1 區域連結；

(iv) 構成 T 細胞受體結合域的一價 Fab 的重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域的一個多胜肽，該 Fab 的輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，構成癌抗原結合域的 Fab 的輕鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域的另一個多胜肽，該 Fab 之重鏈 Fv 片段與 CL 區域連結；

(v) 構成 T 細胞受體結合域的一價 Fab 的重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域的一個多胜肽，該 Fab 的輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結，構成癌抗原結合域的 Fab 的重鏈 Fv 片段以中間為 CL 區域連結於構成 Fc 區域的另一個多胜肽，該 Fab 之輕鏈 Fv 片段與 CH1 區域連結；或

(vi) 該癌抗原結合域具有 $F(ab')_2$ 的構造，構成具有 $F(ab')_2$ 構造的域之重鏈恆定區的二個多胜肽分別連結於構成 Fc 區域的二個多胜肽，CD3 結合域連結於構成 Fc 區域的一個或二個 CH3，構成 CD3 結合域的重鏈 Fv 片段連結於構成 Fc 區域的一個 CH3，構成 CD3 結合域的輕鏈 Fv 片段連結於構成 Fc 區域之另一個 CH3，構成 CD3 結合域之重鏈 Fv 片段連結於抗體的 CH1 域，以及輕鏈 Fv 片段連結於抗體之 CL 域。

2. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中，該 T 細胞受體複合體結合域為 T 細胞受體結合域。

3. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中，該 T 細胞受體複合體結合域為 CD3 結合域。

4. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中 (vi) 為包括下列 (1) 及 (2) 的多胜肽聯合體：

(1) 結合於抗原的一價 Fab 構造的重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成該 Fc 區域的一個多胜肽且該 Fab 構造的輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結的癌抗原結合域；以及

(2) 結合於 T 細胞受體複合體的一價 Fab 構造的重鏈 Fv 片段以中間為 CH1 區域連結於構成 Fc 區域之另一個多胜肽且該 Fab 構造的輕鏈 Fv 片段與 CL 區域連結的 T 細胞受體複合體結合域；

其中，以癌抗原結合域中的重鏈 Fv 片段與癌抗原結合域中的輕鏈 Fv 片段聯合、或以 T 細胞受體結合域中的重鏈 Fv 片段與 T 細胞受體結合域中的輕鏈 Fv 片段聯合，控制 CH1 區域與 CL 區域的電荷。

5. 如申請專利範圍第 4 項之多胜肽聯合體，其中，連結於 T 細胞受體複合體結合域中重鏈 Fv 片段的 CH1 區域之胺基酸殘基、及連結於癌抗原結合域中輕鏈 Fv 片段的 CL 區域之胺基酸殘基，具有同種電荷。

6. 如申請專利範圍第 4 項之多胜肽聯合體，其中，連結於癌抗原結合域中重鏈 Fv 片段的 CH1 區域之胺基酸殘基、及連結於 T 細胞受體複合體結合域中輕鏈 Fv 片段的 CL 區域之胺基酸殘基，具有同種電荷。

7. 如申請專利範圍第 4 項之多胜肽聯合體，其中，連

結於 T 細胞受體複合體結合域中重鏈 Fv 片段的 CH1 區域之胺基酸殘基、及連結於癌抗原結合域中輕鏈 Fv 片段的 CL 區域之胺基酸殘基，具有同種電荷，且連結於癌抗原結合域中重鏈 Fv 片段的 CH1 區域之胺基酸殘基、及連結於 T 細胞受體複合體結合域中輕鏈 Fv 片段的 CL 區域之胺基酸殘基，具有同種電荷。

8. 如申請專利範圍第 5 或 7 項之多胜肽聯合體，其中，連結於 T 細胞受體複合體結合域中重鏈 Fv 片段的 CH1 區域之胺基酸殘基、及連結於 T 細胞受體結合域中輕鏈 Fv 片段的 CL 區域之胺基酸殘基，具有異種電荷。

9. 如申請專利範圍第 6 或 7 項之多胜肽聯合體，其中，連結於癌抗原結合域中重鏈 Fv 片段的 CH1 區域之胺基酸殘基、及連結於癌抗原結合域中輕鏈 Fv 片段的 CL 區域之胺基酸殘基，具有異種電荷。

10. 如申請專利範圍第 4 項之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體複合體結合域為 T 細胞受體結合域。

11. 如申請專利範圍第 10 項之多胜肽聯合體，其中，T 細胞受體結合域為 CD3 結合域。

12. 如申請專利範圍第 8 項之多胜肽聯合體，其中，CH1 區域的胺基酸殘基及 CL 區域的胺基酸殘基選自由下列 (a)~(f) 所示的 1 組或 2 組以上的胺基酸殘基所構成的群組，

(a)CH1 區域的胺基酸殘基，EU 編號 147 位的胺基酸殘基，及 CL 區域的的胺基酸殘基，EU 編號 180 位的胺基酸

殘基；

(b) CH1 區域的胺基酸殘基，EU 編號 147 位的胺基酸殘基，及 CL 區域的的胺基酸殘基，EU 編號 131 位的胺基酸殘基；

(c) CH1 區域的胺基酸殘基，EU 編號 147 位的胺基酸殘基，及 CL 區域的的胺基酸殘基，EU 編號 164 位的胺基酸殘基；

(d) CH1 區域的胺基酸殘基，EU 編號 147 位的胺基酸殘基，及 CL 區域的的胺基酸殘基，EU 編號 138 位的胺基酸殘基；

(e) CH1 區域的胺基酸殘基，EU 編號 147 位的胺基酸殘基，及 CL 區域的的胺基酸殘基，EU 編號 123 位的胺基酸殘基；

(f) CH1 區域的胺基酸殘基，EU 編號 175 位的胺基酸殘基，及 CL 區域的的胺基酸殘基，EU 編號 160 位的胺基酸殘基；

且 CH1 區域的胺基酸殘基與 CL 區域的胺基酸殘基為具有異種電荷的胺基酸殘基。

13. 如申請專利範圍第 12 項之多胜肽聯合體，更選自由包含下述(g)所示之胺基酸殘基的群組：

(g) CH1 區域的胺基酸殘基，EU 編號 213 位的胺基酸殘基，及 CL 區域的的胺基酸殘基，EU 編號 123 位的胺基酸殘基。

14. 如申請專利範圍第 12 項之多胜肽聯合體，其中，

該具有異種電荷的胺基酸殘基係選自由下述(X)或(Y)任一
群組所含的胺基酸殘基：

(X)麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)；

(Y)離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

15. 如申請專利範圍第 12 項之多胜肽聯合體，其中，
該具有異種電荷的胺基酸殘基為，CH1 區域的胺基酸殘基
且 EU 編號 175 位之胺基酸殘基為 Lys，CL 區域的胺基酸殘
基且 EU 編號 131 位、160 位及 180 位之胺基酸殘基均為 Glu。

16. 如申請專利範圍第 12 項之多胜肽聯合體，其中，
該具異種電荷之胺基酸殘基為，CH1 區域的胺基酸殘基且
EU 編號 147 位及 175 位之胺基酸殘基為 Glu，CL 區域的胺
基酸殘基且 EU 編號 131 位、160 位及 180 位之胺基酸殘基
均為 Lys。

17. 如申請專利範圍第 16 項之多胜肽聯合體，更為
CH1 區域的胺基酸殘基且 EU 編號 213 位之胺基酸殘基為
Glu，CL 區域的胺基酸殘基且 EU 編號 123 位之胺基酸殘基
為 Lys。

18. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中，
該 Fc 區域為對於 Fc γ I、Fc γ IIA、Fc γ IIB、Fc γ IIIA 及
/或 Fc γ IIIB 任一個 Fc γ 受體的結合活性降低的 Fc 區域。

19. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中，
該 Fc 區域為構成序列編號：23 記載之 Fc 區域、序列編號：
24 記載之 Fc 區域、序列編號：25 記載之 Fc 區域、或序列
編號：26 記載之 Fc 區域的胺基酸經過突變的 Fc 區域。

20. 如申請專利範圍第 19 項之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域為構成 Fc 區域的胺基酸中 EU 編號指定的下列任一胺基酸：

從 118 位至 260 位之胺基酸序列為序列編號：24 記載之序列、從 261 位至 447 位之胺基酸序列為序列編號：26 記載之序列。

21. 如申請專利範圍第 19 項之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域為構成 Fc 區域的胺基酸中 EU 編號指定的下列任一胺基酸經過突變：

220 位、226 位、229 位、231 位、232 位、233 位、234 位、235 位、236 位、237 位、238 位、239 位、240 位、264 位、265 位、266 位、267 位、269 位、270 位、295 位、296 位、297 位、298 位、299 位、300 位、325 位、327 位、328 位、329 位、330 位、331 位、332 位。

22. 如申請專利範圍第 21 項之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域為構成序列編號：23 記載之 Fc 區域的胺基酸經過突變之 Fc 區域。

23. 如申請專利範圍第 22 項之多胜肽聯合體，其中，該 Fc 區域為構成 Fc 區域的胺基酸中 EU 編號指定的下列任一胺基酸取代為對應的 IgG2 或 IgG4 中 EU 編號對應的胺基酸：

233 位、234 位、235 位、236 位、237 位、327 位、330 位、331 位。

24. 如申請專利範圍第 22 項之多胜肽聯合體，其中，

該 Fc 區域為構成 Fc 區域的胺基酸中 EU 編號指定的下列任一胺基酸經過突變：

234 位、235 位、297 位。

25. 如申請專利範圍第 24 項之多胜肽聯合體，其中，234 位的胺基酸突變為丙胺酸、235 位的胺基酸突變為丙胺酸、及 / 或 297 位的胺基酸突變為丙胺酸。

26. 如申請專利範圍第 19 項之多胜肽聯合體，其中，構成 Fc 區域的二個多胜肽序列彼此具有不同的序列。

27. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中，構成 Fc 區域的二個多胜肽的一個多胜肽的胺基酸殘基中，EU 編號指定的 349 位的胺基酸突變為半胱胺酸、366 位的胺基酸突變為色胺酸，另一個多胜肽的胺基酸殘基中，EU 編號指定的 356 位的胺基酸突變為半胱胺酸、366 位的胺基酸突變為絲胺酸、368 位的胺基酸突變為丙胺酸、407 位的胺基酸突變為纈胺酸。

28. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中，構成 Fc 區域之二個多胜肽其中之一的多胜肽之胺基酸殘基當中，依照 EU 編號指定之 356 位之胺基酸突變為離胺酸，另一多胜肽之胺基酸殘基當中，依照 EU 編號指定之 439 位之胺基酸突變為麩胺酸，且任一者的多胜肽的胺基酸殘基當中，依照 EU 編號指定之 435 位之胺基酸突變為精胺酸。

29. 如申請專利範圍第 27 或 28 項之多胜肽聯合體，其中，構成 Fc 區域的二個多胜肽之羧基末端的序列 GK 缺

失。

30. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中，(vi)所述多胜肽聯合體的癌抗原結合域結合於相同的抗原決定基。

31. 如申請專利範圍第 30 項之多胜肽聯合體，其中，相同的抗原決定基存在於由序列編號：2 記載的胺基酸序列所構成的蛋白質中。

32. 如申請專利範圍第 30 項之多胜肽聯合體，其中，相同的抗原決定基存在於由序列編號：4 記載的胺基酸序列所構成的蛋白質中。

33. 如申請專利範圍第 1 項之多胜肽聯合體，其中，(vi)所述多胜肽聯合體的癌抗原結合域結合於不同的抗原決定基。

34. 如申請專利範圍第 33 項之多胜肽聯合體，其中，不同的抗原決定基存在於由序列編號：2 記載的胺基酸序列所構成的蛋白質中。

35. 如申請專利範圍第 33 項之多胜肽聯合體，其中，不同的抗原決定基存在於由序列編號：4 記載的胺基酸序列所構成的蛋白質中。

36. 一種聚核苷酸，編碼如申請專利範圍第 1 至 35 項中任一項之多胜肽聯合體。

37. 一種載體，包含如申請專利範圍第 36 項之聚核苷酸。

38. 一種細胞，攜帶如申請專利範圍第 37 項之載體。

39. 一種多胜肽聯合體之製造方法，包含培養如申請專利範圍第 38 項之細胞並從培養上清液回收多胜肽聯合體的步驟。

40. 一種細胞傷害誘導治療劑，包含如申請專利範圍第 1 至 35 項中任一項之多胜肽聯合體當做有效成分。

41. 如申請專利範圍第 40 項之細胞傷害誘導治療劑，其中，該細胞傷害誘導治療劑為癌症治療劑。

42. 如申請專利範圍第 41 項之細胞傷害誘導治療劑，其中，該癌症為肝癌或肺癌。

43. 一種申請專利範圍第 1 至 35 項中任一項之多胜肽聯合體在製備治療癌症的治療劑之用途。

44. 如申請專利範圍第 43 項之用途，其中，該癌症為肝癌或肺癌。