(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101605557 B
(45)授权公告日 2013.08.28

(21)申请号 200780051249.3
(22)申请日 2007.12.12
(30)优先权数据
0624874.4 2006.12.13 GB
(85)PCT申请进入国家阶段日
2009.08.12
(86)PCT申请的申请数据
PCT/EP2007/010904 2007.12.12
(87)PCT申请的公布数据
WO2008/071418 EN 2008.06.19
(73)专利权人 汉莎医药有限公司
地址 瑞典隆德
(72)发明人 L·博乔克 马迪亚斯·科林
阿恩·奥尔森 R·霍默达
K·S·南达库玛 乌纳·莎侬
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 陶贻丰 郑霞
(51)Int.Cl.
A61K 38/47(2006.01)
A61K 38/16(2006.01)
A61P 37/00(2006.01)
(56)对比文件
COLLIN M 等.EndoS, a novel secreted protein from Streptococcus pyogenes with endoglycosidase activity on human IgG.《EMSO JOURNAL》.2001, 第20卷(第12期),3046-3055.
审查员 樊颖

权利要求书1页 说明书19页
序列表66页 附图16页

(54)发明名称

内切糖苷酶EndoS用于治疗免疫球蛋白G介导的疾病的用途

(57)摘要

本发明提供了EndoS多肽或编码EndoS多肽的多核苷酸在制备用于治疗或预防由IgG抗体介导的疾病或疾患的药物中的用途。

CN 101605557 B

1. 由 SEQIDNO :1 的序列组成的多肽在制备用于治疗或预防特发性血小板减少性紫癜或关节炎的药物中的用途，其中所述药物通过注射施用。

2. 由 SEQIDNO :1 的序列组成的多肽在制备用于离体处理采自患有由 IgG 抗体介导的疾病或疾患的患者的血液的组合物中的用途，其中所述由 IgG 抗体介导的疾病或疾患是特发性血小板减少性紫癜或关节炎。

3. 根据权利要求 2 所述的用途，其中所述血液在其与所述多肽接触后被返回到所述患者。

内切糖苷酶 EndoS 用于治疗免疫球蛋白 G 介导的疾病的用途

发明领域

[0001] 本发明涉及用于治疗或预防由 IgG 抗体介导的疾病或疾患（例如自身免疫性疾病、移植排斥、手术后治疗和获得性血友病）的方法。

[0002] 发明背景

[0003] IgG 是包括通过二硫键结合在一起的两个重链和两个轻链的异四聚体，形成被柔性并对蛋白酶敏感的铰链区隔开的三蛋白结构域。两个相同的 Fab 部分结合抗原而单独的 Fc 部分负责效应功能，包括结合并活化补体因子 C1q 和白细胞上的 Fc 受体。

[0004] 除了多肽主链之外，Fc 部分在每个重链上含有与 Asn-297 相连的保守的聚糖。这一寡糖具有以核心岩藻糖与最深处的 N- 乙酰葡糖胺 (GlcNAc) 相连的复杂二天线型。这些聚糖位于 C_H2 结构域（重链的第二恒定结构域）间的界面上。

[0005] EndoS 是由人类病原体化脓性链球菌 (Streptococcus pyogenes) 分泌的内切糖苷酶。EndoS 在两个核心 GlcNAc 残基间特异性地水解 IgG 上天冬酰胺连接的聚糖。与许多相关的需要糖蛋白底物变性或被糖蛋白底物变性加强的内切糖苷酶相比，EndoS 只水解天然 IgG。迄今没有发现 EndoS 的其他底物。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明人表明了 EndoS 在治疗和预防由 IgG 抗体介导的疾病中是有用的。尤其是发明人表明了 EndoS 在人类血液中以及兔体内有效地水解 IgG，经由 EndoS 的 IgG 的去糖基化取消了其在小鼠中引起关节炎的能力，以及 EndoS 在致死的 IgG 促使的特发性血小板减少性紫癜 (ITP) 的小鼠模型中具有保护性作用。病原抗体的 EndoS 预处理抑制这一疾病的发展，而且所述酶还在已出现严重的血小板减少和皮下出血时从已确定的疾病中解救小鼠。

[0008] 根据本发明，因此提供了 EndoS 多肽或编码 EndoS 多肽的多核苷酸在制备用于治疗或预防由 IgG 抗体介导的疾病或疾患的药物中的用途。

[0009] 本发明还提供了：

[0010] -EndoS 肽，或编码 EndoS 多肽的多核苷酸，以用于治疗或预防由 IgG 抗体介导的疾病或疾患的方法中；

[0011] - 在需要其的受治疗者中治疗或预防由 IgG 抗体介导的疾病或疾患的方法，所述方法包括对受治疗者施用治疗有效量的 EndoS 多肽，或编码 EndoS 多肽的多核苷酸；以及

[0012] - 离体处理采自患有由 IgG 抗体介导的疾病或疾患的患者的血液的方法，包括将所述血液与 EndoS 多肽接触。

[0013] 附图简述

[0014] 图 1A 是人类 IgG1 的结构模型。括号标明 IgG 的结合抗原的 Fab 部分和 Fc 效应子部分。箭头标明与重链的 Asn-297 相连的两个保守的聚糖。图 1B 是完全取代的 IgG 重链聚糖的图示。S2 标明完全唾液酸化的糖形，G0 和括号标明 G0 糖形的范围。LCA 标明用于凝集素 (lectin) 实验的扁豆 (Lensculinaris) 凝集素 (agglutinin) 的结合位点而 EndoS

标明所述酶的切割位点。

[0015] 图 2 是来自不同化脓性链球菌血清型（马链球菌 (S.equi) 和兽疫链球菌 (S.zooepidemicus)）的 EndoS 同系物的 ClustalW 氨基酸序列比对。株系名称、种和 M 血清型示于左边。氨基酸同一性和相似性以灰色表示而共有序列在比对下方表示。框出了保守的几丁质酶基序并用比对下方的星号标记活性必需的谷氨酸。

[0016] 图 3 是 EndoS 的 α 结构域和来自 Elizabethkingia meningoseptica 的 $EndoF_2$ 以及来自假结核棒状杆菌 (Corynebacterium pseudotuberculosis) 的 CP40 的 ClustalW 氨基酸序列比对。蛋白名称示于左边。以灰色表示氨基酸同一性和相似性而共有序列在比对下方表示。框出了保守的几丁质酶基序并用比对下方的星号标记活性必需的谷氨酸。

[0017] 图 4 显示了 EndoS 的结构域组织。全长 EndoS(SEQ ID NO :2) 的 995 个氨基酸的图示。Ss 标明信号肽，标明了 α - 结构域中几丁质酶家族 18 活性位点基序并用箭头标明了产生两个结构域的 SpeB 切割位点。

[0018] 图 5 显示了对人类血液中 EndoS 活性的分析。图 5A 显示了对来自与逐渐增加浓度的重组 EndoS(rEndoS) 一起孵育的人类血液的纯化的 IgG 的 SDS-PAGE 分析。图 5B 显示了对来自与逐渐增加浓度的 rEndoS 一起孵育的人类全血的纯化的 IgG 的 LCA 凝集素印迹分析。图 5C 显示了对从与逐渐增加浓度的 rEndoS 一起孵育的人类血液纯化的 IgG 的凝集素印迹的光密度分析。

[0019] 图 6 显示了对兔中 EndoS 体内活性的分析。图 6A 显示了对来自在第一次静脉内注射 500μg 的 rEndoS 后于标明的时间点从兔采集的血清样品的纯化的 IgG 的 SDS-PAGE（染色）和凝集素印迹分析 (LCA 印迹）。图 6B 显示了对来自在第二次施用 rEndoS 后于标明的时间点从兔采集的血清样品的纯化的 IgG 的 SDS-PAGE（染色）和凝集素印迹分析 (LCA 印迹）。图 6C 显示了对来自在第三次施用 rEndoS 后于标明的时间点从兔采集的血清样品的纯化的 IgG 的 SDS-PAGE（染色）和凝集素印迹分析 (LCA 印迹）。

[0020] 图 7 显示了兔抗体对 rEndoS 的反应。在第一次、第二次和第三次注射 rEndoS 后于标明的时间点从兔采集血清样品。在蛋白质印迹中，将所述血清作为第一抗血清，用于具有 SDS-PAGE 分离的纯化的 rEndoS 的不同的膜条上。

[0021] 图 7A 也显示了兔抗体对 rEndoS 的反应。血清样品与图 7 的相同。插图 :如图 7 中的使用第一次注射后的血清样品作为第一抗血清的蛋白质印迹。主图 :第一次、第二次和第三次注射后的血清样品用作使用固定 EndoS 进行的 ELISA 实验中的第一抗血清。抗 EndoS 的 IgG 的浓度 (ng/ml) 与第一次注射前的浓度相比出现增加。展示了一个代表性实验。

[0022] 图 8 显示了对与和不与 EndoS 孵育并通过 10％的 SDS-PAGE 分离的 IgG 单克隆抗体 (CIIC1 和 M2139) 的 SDS-PAGE（染色）和凝集素印迹分析（印迹）。通过考马斯蓝染色（染色）或通过对用 GNL 凝集素探测的膜的印迹（印迹）分析凝胶。CIIC1(IgG2a) 单克隆抗体与 EndoS（泳道 1) 以及不与 EndoS（泳道 2) 孵育 ;M2139(IgG2b) 单克隆抗体与 EndoS（泳道 3) 以及不与 EndoS（泳道 4) 孵育。

[0023] 图 9 显示了来自用正常的和 EndoS 处理的 CII 结合抗体 :(a)M2139、(b)M2139D、(c)CIIC1、(d)CIIC1D 和 (e) 对照处理的大鼠的并染色的关节切片 (10μm)。放大倍率为 x10。用 EndoS 去糖基化的抗体标明为“D”。对 1-2 日龄的新生大鼠腹膜内注射 1mg 的 CII 结合抗体（正常的和 EndoS 处理的）。抗体传输二十四小时后将爪解剖并在 OCT 化合物中

用异戊烷和干冰迅速冷冻。用生物素化的抗小鼠 κ (187.1) 抗体和 HRP 轭合的第二抗体作为检测系统用标准实验方案进行免疫组织化学分析。

[0024] 图 10 显示了接受未处理的或 EndoS 处理的抗 CII 单克隆抗体的小鼠中关节炎的发生率 (a) 和严重度 (b)。在 0 天用 9mg 未处理的 (n = 7) 或 EndoS 处理的 (n = 5) 抗 CII 单克隆抗体 (M2139 和 CIIC1) 注射雄性 (BALB/c X B10.Q)F1 小鼠组。在第 5 天用 50μg 的大肠杆菌 (E.coli)LPS 腹膜内注射所有小鼠。将所有小鼠用于计算。误差条线标明平均值 ±SEM。

[0025] 图 11 显示了接受未处理的或 EndoS 处理的抗 CII 单克隆抗体的小鼠中关节炎的发生率 (a) 和严重度 (b)。在 0 天用 9mg 未处理的 (n = 11) 或 EndoS 处理的 (n = 12) 抗 CII 单克隆抗体 (M2139 和 CIIC1) 注射雄性 B10.RIII 小鼠。在第 5 天用 50μg 的大肠杆菌 LPS 腹膜内注射所有小鼠。将所有小鼠用于计算。误差条线标明平均值 ±SEM。

[0026] 图 12 显示了补体成分 C1q 在 :(a) 使用不同浓度的正常 (BALB/c xB10.Q)F1 血清的 CII 包被的抗体结合板上 ;和 (b) 以 0.25％的正常 (BALB/cx B10.Q)F1 血清直接抗体包被的板上的沉积。误差条线标明平均值 ±SD。

[0027] 图 13 显示了补体成分 C3b 在 :(a) 使用不同浓度的正常 (BALB/c xB10.Q)F1 血清的 CII 包被的抗体结合板上 ;和 (b) 以 0.125％正常 (BALB/c xB10.Q)F1 血清直接抗体包被的板上的沉积。误差条线标明平均值 ±SD。

[0028] 图 14 显示了单克隆抗体的去糖基化对嗜中性粒细胞 (PMNL) 氧化猝发的影响。将正常的 (M2139 或 CIIC1) 或去糖基化的 (M2139-D 或 CIIC1-D) 单克隆抗体包被在羧化聚苯乙烯微粒 (1μm) 上。在将来自肝素化的全血样品的 PMNL 与抗体包被的珠孵育后使用 FACS 测定它们的氧化猝发能力。结果是来自每组中 5 只小鼠的平均值。使用了具有三种不同基因型的 B10.Q 小鼠 (FcgR+/+、FcgR-/- 和 FcgR+/-)。“培养基”和“珠”组构成两组不同的阴性对照。PMA 组是阳性对照。用 RB6-APC 轭合物识别 PMNL。

[0029] 图 15 显示了在静脉内 (第 1 天和第 5 天) 传输 9mg 的单克隆抗体混合物 (M2139 和 CIIC1 或 M2139D 和 CIIC1D) 的 B10.RIII 小鼠的血清中通过 ELISA 测量的抗 CII 抗体的水平。使用多标记计数仪 (VICTOR 1420, Wallac) 测量平均铕荧光单位。

[0030] 图 16 显示了病原 IgG 抗体的 EndoS 预处理抑制了小鼠中抗体介导的血小板减少。图片 A :雌性 BALB/c 小鼠 (n = 3) 接受腹膜内注射的兔抗小鼠血小板 IgG(αPLT-IgG)。每隔一定间隔采集血液样品并用流式细胞术测定血小板计数。图片 B :用已用 GST-EndoS(n = 4) 或 GST(n = 4) 预处理的 αPLT-IgG 注射的 BALB/c 小鼠的存活标绘图。图片 C :通过流式细胞术对来自已接受 GST-EndoS 预处理的 αPLT-IgG 的小鼠的血液样品测定的随时间的血小板计数。

[0031] 图 17 显示了 EndoS 从致死的 IgG 介导的血小板减少解救小鼠。图片 A :用 αPLT-IgG 注射并且随后在施用 αPLT-IgG 3 小时后用 GST-EndoS(n = 8) 或 GST(n = 8) 处理的 BALB/c 小鼠的存活标绘图。图片 B :从注射 αPLT-Ig24、48 或 72(仅 GST-EndoS 处理) 小时后 GST-EndoS 或 GST- 处理的小鼠纯化的 IgG 的 SDS-PAGE 分析 (染色) 和 LCA 凝集素印迹分析 (LCA 印迹)。图片 C :在接受 GST-EndoS 处理的小鼠中每隔一定间隔采集血液样品并用流式细胞术测定血小板计数。图片 D :注射 αPLT-Ig 并随后在出现明显的腹内出血迹象时 (施用 αPLT-Ig 后 5-7h) 用 GST-EndoS(n = 7) 或 GST(n = 7) 处理的 BALB/c

小鼠的存活标绘图。

[0032] 序列简述

[0033] SEQ ID NO:1 是从化脓性链球菌 AP1 分离的 EndoS 的氨基酸序列。

[0034] SEQ ID NO:2 是从化脓性链球菌 AP1 分离的 EndoS 的氨基酸序列，包括信号序列。

[0035] SEQ ID NO:3 是从化脓性链球菌 AP1 分离的编码 EndoS 的核酸序列，包括信号序列。

[0036] 发明详述

[0037] 本发明提供了治疗或预防由 IgG 抗体介导的疾病或疾患的方法，该方法包括对受治疗者施用 EndoS 多肽或编码 EndoS 多肽的多核苷酸。

[0038] 本发明人发现 EndoS 在人类血液中以及兔体内水解 IgG，经由 EndoS 的 IgG 的去糖基化取消了其在小鼠中引起关节炎的能力，以及 EndoS 在致死的 IgG 促使的特发性血小板减少性紫癜 (ITP) 的小鼠模型中具有保护性作用。病原抗体的 EndoS 预处理抑制了这一疾病的发展，而且所述酶还在已出现严重的血小板减少和皮下出血时从已确定的疾病中解救了小鼠。因此，EndoS 可用于治疗或预防由 IgG 抗体介导的疾病或疾患。

[0039] 多肽

[0040] EndoS 多肽优选为化脓性链球菌 EndoS 或保留了 IgG 内切糖苷酶活性的化脓性链球菌 EndoS 的变体或片段。所述变体可是来自另一生物体例如另一细菌的 EndoS 多肽。所述细菌优选为链球菌例如马链球菌、兽疫链球菌或优选地化脓性链球菌。可选地，所述变体可来自假结核棒状杆菌例如 CP40 蛋白；粪肠球菌 (Enterococcus faecalis) 例如 EndoE 蛋白；或 Elizabethkingia meningoseptica(以前称为脑膜脓毒性黄杆菌 (Flavobacterium meningosepticum)) 例如 $EndoF_2$ 蛋白。来自不同化脓性链球菌血清型以及来自马链球菌和兽疫链球菌的 EndoS 变体的序列示于图 2。图 3 显示了 EndoS 的 α 结构域和来自 Elizabethkingia meningoseptica 的 $EndoF_2$ 以及来自假结核棒状杆菌的 CP40 的比对。

[0041] EndoS 多肽可含有：

[0042] (a)SEQ ID NO:1 的氨基酸序列；

[0043] (b) 与 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列具有至少 50％的同一性并具有 IgG 内切糖苷酶活性的其变体；或

[0044] (c) 具有 IgG 内切糖苷酶活性的其任一片段。

[0045] 优选地，所述多肽含有或由 SEQ ID NO:1 的序列组成。SEQ ID NO:1 是没有信号序列的成熟形式的 EndoS 的序列，并相应于 SEQ ID NO:2 的氨基酸 37 至 995。

[0046] 此外多肽可包含信号序列。因此 EndoS 多肽可含有：

[0047] (a)SEQ ID NO:2 的氨基酸序列；

[0048] (b) 与 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列具有至少 50％的同一性并具有 IgG 内切糖苷酶活性的其变体；或

[0049] (c) 具有 IgG 内切糖苷酶活性的其任一片段。

[0050] EndoS 多肽可由 SEQ ID NO:2 中所示的序列组成。

[0051] 变体多肽是氨基酸序列与 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:2 中的序列不同但保留了与 EndoS 相同的本质特征或基本功能性的那些多肽。因此变体多肽可显示出 IgG 内切糖苷酶活性。通常，与 SEQ ID NO:1 或 SEQ IDNO:2 的氨基酸序列具有大于约 50％、55％或 65％的

同一性，优选至少 70％、至少 80％、至少 90％并尤其优选至少 95％、至少 97％或至少 99％的同一性的多肽被认为是所述蛋白的变体。只要所述肽保留了 EndoS 的基本功能性，这些变体可包含等位基因的变体和蛋白序列中单个氨基酸或氨基酸组的缺失、修饰或添加。可在 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :2 中所示序列的至少 100、至少 250、至少 500、至少 750、至少 800、至少 850、至少 900、至少 950、至少 955 或更多连续氨基酸的区域上或更优选地在 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :2 的全长上测量 SEQ ID NO :1 或 SEQ ID NO :2 的变体的同一性。

[0052] 可使用任何适合的算法计算氨基酸同一性。例如 UWGCG 包提供了可用来计算同源性（例如在其默认设置上使用）的 BESTFIT 程序 (Devereux 等人 (1984)Nucleic Acids Research 12,387-395)。PILEUP 和 BLAST 算法可用于计算同源性或比对 (line up) 序列（例如鉴定相等或相应的序列（通常在他们的默认设置上）），例如，如 Altschul S.F.(1993)J Mol Evol36 :290-300 ;Altschul,S,F 等人 (1990)J Mol Biol 215 :403-10 中所描述的。

[0053] 进行 BLAST 分析的软件是可通过 National Center for BiotechnologyInformation（美国国家生物技术信息中心）(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) 公开获得的。这一算法包括首先在查询序列中通过鉴定长度 W 的短字（其在与数据库序列中同等长度的字比对时匹配或满足某个正值的阈值分 T) 鉴定高分序列对 (HSP)。T 被称为相邻字得分阈值 (Altschul 等人，同上）。这些最初的相邻字匹配 (hits) 起到用于开始搜索以找到含有它们的 HSP 的种子的作用。只要累积的比对得分可增加就将字匹配沿每一个序列向两个方向延伸。当 :累积的比对得分从其达到的最大值下降数量 X ;由于一个或多个负分残基比对的积累，累积得分变为零或以下 ;或到达任一个序列的末端时，停止字匹配在每个方向上的延伸。BLAST 算法参数 W、T 和 X 决定了比对的敏感度和速度。BLAST 程序使用字长 (W)11，BLOSUM62 得分矩阵（参见 Henikoff 和 Henikoff(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89 :10915-10919) 比对 (B)50，期望值 (E)10，M ＝ 5，N ＝ 4 和对比两条链为默认值。

[0054] BLAST 算法在两序列间进行相似性的统计分析；参见，例如 Karlin 和 Altschul(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90 :5873-5787。由 BLAST 算法提供的一个相似性尺度是最小和概率 (P(N))，其提供了在两个多核苷酸或氨基酸序列之间的匹配随机发生的概率的标示。例如，如果在一序列和另一序列的比较中最小和概率小于约 1，优选地小于约 0.1，更优选地小于约 0.01 并且最优选地小于约 0.001，那么认为第一序列与第二序列相似。

[0055] 通常变体序列相差至少 1、2、3、5、10、20、30、50、100 或更多突变（其可是氨基酸的取代、缺失或插入）。例如，可形成从 1 至 100、2 至 50、3 至 30 或 5 至 20 个氨基酸的取代、缺失或插入。修饰的多肽通常保留作为 IgG 特异性内切糖苷酶的活性。取代优选地是（例如依照下表的）保守的取代。第二列中同一区中的氨基酸以及优选地第三列中同一行中的氨基酸可互相取代 :

[0056]

脂肪族	非极性	GAP
		ILV
	极性无电荷	CSTM
		NQ
	极性带电荷	DE
		KR
芳香族		HFWY

[0057] SEQ ID NO:1的氨基酸序列的变体优选地含有SEQ ID NO:1的残基191至199,即SEQ ID NO:1的Leu-191、Asp-192、Gly-193、Leu-194、Asp-195、Val-196、Asp-197、Val-198和Glu-199(其对应于SEQ ID NO:2的残基227至235,即SEQ ID NO:2的Leu-227、Asp-228、Gly-229、Leu-230、Asp-231、Val-232、Asp-233、Val-234和Glu-235)。这些氨基酸构成了以谷氨酸结尾的完美的几丁质酶家族18活性位点。几丁质酶活性位点中的谷氨酸对酶促活性来说是必须的。因此最优选地,SEQ ID NO:1的变体含有SEQ ID NO:1的Glu-199而SEQ ID NO:2的变体含有SEQ IDNO:2的Glu-235。假如SEQ ID NO:1的变体含有SEQ ID NO:1的Glu-199,那么所述变体可含有具有一个或多个保守性取代的SEQ ID NO:1的残基191至199。可选择地,假如SEQ ID NO:2的变体含有SEQ ID NO:2的Glu-235,那么所述变体可含有具有一个或多个保守性取代的SEQ ID NO:2的残基227至235。

[0058] 用于本发明的EndoS多肽的片段通常为至少10例如至少20、30、40、50或更多个氨基酸长度直至100、200、250、300、500、750、800、850、900、950或955个氨基酸长度,只要其保持EndoS的IgG内切糖苷酶活性。优选地,用于本发明的EndoS多肽的片段包含SEQ ID NO:1的残基191至199,即SEQ ID NO:1的Leu-191、Asp-192、Gly-193、Leu-194、Asp-195、Val-196、Asp-197、Val-198和Glu-199(SEQ ID NO:2的残基227至235,即SEQ ID NO:2的Leu-227、Asp-228、Gly-229、Leu-230、Asp-231、Val-232、Asp-233、Val-234和Glu-235)。SEQ ID NO:2的优选片段由SEQ ID NO:2的氨基酸37至995即SEQ ID NO:1组成,其相应于去除信号肽后的由化脓性链球菌分泌的EndoS形式。本发明的另一个优选片段由SEQ ID NO:1的氨基酸1至409(SEQ ID NO:2的氨基酸37至445)组成,其相应于通过链球菌半胱氨酸蛋白酶SpeB切割产生的EndoS的酶学活性α结构域。

[0059] 用于本发明的多肽可被化学修饰,例如翻译后修饰。例如它们可被糖基化、磷酸化或含有修饰的氨基酸残基。它们可通过添加组氨酸残基以帮助它们纯化或通过添加信号序列以促进对细胞膜的插入来修饰。这些修饰的多肽属于本文所用的术语“多肽”的范围。

[0060] 通常,依照本发明使用的多肽表现出免疫球蛋白内切糖苷酶活性尤其是IgG内切糖苷酶活性。优选地,所述多肽水解IgG的天冬酰胺连接的聚糖的β-1,4-二-N-乙酰壳二糖核。优选地,所述活性是对IgG特异性的。内切糖苷酶活性可通过适当的测定方法测定。例如可将测试多肽与IgG在适当的温度例如37℃孵育。之后可通过SDS PAGE分析起始材料和反应产物。通常如果测试多肽具有IgG内切糖苷酶活性,则IgG重链的分子量被减少约3kDa。另一种用于测定测试多肽是否具有IgG内切糖苷酶活性的测定是经由使用

扁豆凝集素 (LCA)，可选择地使用辣根过氧化物酶和过氧化物酶底物的糖基化 IgG 的检测。通常，如果测试多肽具有 IgG 内切糖苷酶活性，则糖类信号被减小。另一种用于测定测试多肽是否具有 IgG 内切糖苷酶活性的测定是通过将测试多肽与纯化的 IgG 的 Fc 片段孵育，之后用 10mM 二硫苏糖醇还原样品并用质谱法 (MALDI-TOF) 分析。通常如果测试多肽具有 IgG 内切糖苷酶活性，则单体 IgG 的 Fc 的质量被减少 1417±14Da。

[0061] 多肽的内切糖苷酶活性可通过抑制研究被进一步表征。

[0062] 多肽的内切糖苷酶活性通常是 IgG 特异性的，因为当与这些免疫球蛋白在允许切割 IgG 的条件下孵育时，所述多肽不能降解其他类型的 Ig，即 IgM、IgA、IgD 和 IgE。EndoS 多肽具有水解待治疗的受治疗者中存在的 IgG 分子的能力。因此，当受治疗者是人类时，EndoS 多肽能够水解人类 IgG。EndoS 能够水解所有四个亚类的人类 IgG(IgG_{1-4})。在优选的实施方案中，EndoS 多肽具有水解人类、猕猴、小鼠、大鼠、兔、马、山羊、犬和猪 IgG 的能力。

[0063] 用于本发明的多肽可以是基本上分离的形式。应当理解的是多肽可与不干扰所述多肽的预期作用的载体或稀释剂混合并依旧被认为是基本上分离的。用于本发明的多肽还可以是大致纯化的形式，在这种情况下其将通常在制品中含有所述多肽，其中制品中多于 50％，例如多于 80％、90％、95％或 99％重量的多肽是本发明的多肽。

[0064] 用于本发明的多肽可从表达 EndoS 多肽或 EndoS 多肽变体的任何适当的生物体中分离。通常，EndoS 多肽从适当的链球菌的 EndoS 表达菌株，优选地化脓性链球菌的菌株中分离。适当的生物体和菌株可通过许多技术鉴定。例如，最初可测试化脓性链球菌菌株的 ndoS 基因的存在。可以例如 SEQ ID NO：1、2 或 3 为基础设计多核苷酸引物或探针。之后可通过使用了这样的引物的 PCR 或通过探针与所述化脓性链球菌菌株的基因组 DNA 杂交证实 ndoS 基因的存在。

[0065] 可通过测定培养物上清液中 IgG 内切糖苷酶活性或通过使用针对 EndoS 的抗体进行免疫检测来鉴定表达活性 EndoS 或其变体的链球菌菌株。已被证实为表达活性 EndoS 的链球菌菌株是化脓性链球菌 M1 血清型菌株 AP1 和 SF370、马链球菌菌株 4047 和兽疫链球菌菌株 H70。此外，在下列化脓性链球菌菌株中发现了 ndoS 基因：M1 血清型菌株 SSI-1 和 MGAS5005、M2 血清型菌株 MGAS10270、M3 血清型菌株 MGAS315、M4 血清型菌株 MGAS10750、M5 血清型菌株 Manfredo、M6 血清型菌株 MGAS10394、M12 血清型菌株 MGAS9429、M18 血清型菌株 MGAS8232、M28 血清型菌株 MGAS6180 和 M49 血清型菌株 591。

[0066] 从表达的化脓性链球菌培养物或从表达 EndoS 的其他细胞的培养物分离和纯化 EndoS 通常是以 IgG 内切糖苷酶活性为基础的。优选地纯化方法包括硫酸铵沉淀步骤和离子交换层析步骤。根据一种方法，通过加入逐渐增加量的硫酸铵分级培养基。硫酸铵的量可为 10％至 80％。优选地用 50％的硫酸铵分级培养基，并将所得上清液用 70％的硫酸铵进一步沉淀。之后粒状沉淀的多肽可经历离子交换层析，例如通过 Mono Q 柱上的 FPLC。可测定洗脱级分的 IgG 内切糖苷酶活性并收集峰值活性的级分。可通过 SDS PAGE 分析级分。可将级分贮存于 -80℃。在可选择的纯化 EndoS 的方法中，使用 GST 基因融合系统 (Amersham-Pharmacia Biotech，Uppsala，Sweden) 在大肠杆菌中表达没有信号序列的 EndoS(即，具有 SEQ ID NO：1 的序列)。使用具有 BamHI 位点（下划线的）的引物 5′ -ACT-GGG-ATC-CCG-GAG-GAG-AAG-ACT-3′ 和具有 XhoI 位点（下划线的）引物 5′ -TTA-ATC-TCG-AGG-TTG-CTA-TCT-AAG-3′ 从化脓性链球菌基因组 DNA 扩增覆盖 ndoS 序列的碱基 304

至3232的2929碱基对的PCR产物。将这一片段用BamHI和XhoI消化并连接至pGEX-5X-3产生用于转化大肠杆菌BL21(DE3)pLys的质粒pGEXndoS。用0.1mM异丙基β-D-硫代半乳糖吡喃糖苷诱导pGEXndoS/BL21(DE3)pLys。诱导后,用BugBuster™(Novagen)裂解细菌并在谷胱甘肽-琼脂糖凝胶®(Glutathione-Sepharose®)上纯化GST-EndoS融合蛋白。根据实验方案(Amersham-Pharmacia Biotech)使用因子Xa去除GST标记并用Xarrest™琼脂糖(Novagen)去除剩余的因子Xa。这产生了均质的重组EndoS(rEndoS)的制品,如通过SDS-PAGE和使用EndoS特异性抗体的蛋白质印迹所估定的。体内实验之前通过0.2μm的过滤器(Millipore)灭菌过滤蛋白样品。将纯化的EndoS蛋白于-80℃贮存于磷酸盐缓冲盐水中。

[0067] 本发明使用的多肽还可被制备为这些分离的多肽的片段。此外,还可合成性地或通过重组的方法制得所述EndoS多肽。例如,可通过用含有与适当的控制序列可操作地相连的编码所述多肽的核苷酸序列的表达载体转染培养中的哺乳动物细胞,培养细胞,提取并纯化由细胞产生的EndoS多肽来生产重组EndoS多肽。

[0068] 用于本发明的多肽的氨基酸序列可被修饰以含有非天然存在的氨基酸或增加化合物的稳定性。当通过合成的方法生产多肽时,可在生产过程中引入这些氨基酸。多肽还可在合成或重组生产后被修饰。

[0069] 还可用D-氨基酸生产用于本发明的多肽。在这样的情况中,氨基酸将以C至N的反向的顺序连接。对于生产这种多肽来说,这在本领域中是常规的。

[0070] 在本领域中许多侧链修饰是已知的而且可用于EndoS多肽的侧链,只要多肽保留IgG内切糖苷酶活性。

[0071] 多核苷酸

[0072] 编码EndoS多肽或变体的多核苷酸可用于治疗或预防由病原IgG抗体介导的疾病或疾患。特别地,多核苷酸可包括或由下列物质组成:(a)SEQID NO:3的编码序列;(b)由于遗传密码而对于如(a)中所定义的序列为简并的序列;(c)与如(a)或(b)中所定义的序列具有至少60%同一性并编码具有IgG内切糖苷酶活性的多肽的序列;或(d)如(a)、(b)或(c)中所定义的序列中的任何一个的片段,其编码具有IgG内切糖苷酶活性的多肽。

[0073] 通常,多核苷酸是DNA。但多核苷酸可以是RNA多核苷酸。多核苷酸可以是单链或双链并可包括合成的或修饰的核苷酸。

[0074] 本发明的多核苷酸通常可与SEQ ID NO:3的编码序列或编码序列的互补序列在显著高于背景的水平上杂交。例如,由于DNA文库中存在的其他DNA,可发生背景杂交。本发明的多核苷酸和SEQ ID NO:3的编码序列或编码序列的互补序列之间的相互作用产生的信号水平通常为其他多核苷酸和SEQ ID NO:3的编码序列之间相互作用强度的至少10倍,优选地至少100倍。可通过例如放射性标记探针(诸如用^{32}P)测量相互作用强度。通常可使用中至高严格度的条件实现选择性的杂交。但可在本领域已知的任何适合的条件下进行这种杂交(参见Sambrook等人,MolecularCloning:A Laboratory Manual(分子克隆:实验室手册),1989)。例如,如果需要高严格度,那么适合的条件包括于60℃直到65℃下从0.1至0.2xSSC。如果需要较低的严格度,那么适合的条件包括于60℃下2xSSC。

[0075] 可通过核苷酸取代(例如从1、2或3至10、25、50、100、200、500或750个取代)修饰SEQ ID NO:3的编码序列。可通过一个或多个插入和/或缺失和/或通过任一或两端

的延伸可选择地或另外地修饰 SEQ IDNO :3 的多核苷酸。还可包括附加序列例如信号序列。修饰的多核苷酸通常编码具有 IgG 特异性内切糖苷酶活性的多肽。如例如上文表中所示，可进行简并取代和 / 或进行当修饰的序列被翻译时产生保守性氨基酸取代的取代。

[0076] 能够与 SEQ ID NO :3 的 DNA 编码序列的互补序列选择性地杂交的核苷酸序列通常与 SEQ ID NO :3 的编码序列在至少 20，优选地至少 30，例如至少 40、至少 60、至少 100、至少 200、至少 500，更优选地至少 750 个相连核苷酸的区域中或最优选地在 SEQ ID NO :3 的全长或编码具有 SEQ ID NO :1 或 2 中所示序列的多肽的 SEQ ID NO :3 长度中具有至少 60％、至少 70％、至少 80％、至少 90％、至少 95％、至少 98％或至少 99％的序列同一性。可通过任何适合的方法（例如如前文描述的）测定序列同一性。

[0077] 可用上文提及的序列同一性程度和最小大小的任何组合定义本发明的多核苷酸，同时更严格的组合（即在较长的长度上较高的序列同一性）是优选的。因此，例如和在 500 个核苷酸上具有至少 95％序列同一性的多核苷酸一样，在 60，优选地 100 个核苷酸上具有至少 90％序列同一性的多核苷酸形成本发明的一个方面。

[0078] 多核苷酸片段优选地为至少 20，例如至少 25、至少 30 或至少 50 个核苷酸长度。通常它们将多达 100、150、250 或 500 个核苷酸长度。片段可长于 500 个核苷酸长度，例如多达 600、700、800、900、1000、1500、2000、2500 或 3000 个核苷酸长度，或者甚至直到缺少 SEQ ID NO :3 编码序列的很少的核苷酸例如 5、10 或 15 个核苷酸。

[0079] 可重组地、合成地或通过对本领域技术人员来说可行的任何方法生产用于本发明的多核苷酸。还可通过标准技术克隆它们。多核苷酸通常以分离和 / 或纯化的形式提供。

[0080] 通常，通过合成的方法生产短的多核苷酸，所述方法包括一次一个核苷酸的逐步制备所需核酸序列。在本领域中，使用自动化技术完成这一方法的技术是很容易获得的。

[0081] 通常使用重组方法例如用 PCR（聚合酶链式反应）克隆技术生产较长的多核苷酸。这包括制备需要克隆的 ndoS 基因区域的一对引物（例如约 15-30 个核苷酸），将引物与从细菌细胞获得的 DNA 相接触，在发生所需区域的扩增的条件下进行聚合酶链式反应，分离扩增的片段（例如通过在琼脂糖凝胶上纯化反应混合物）并回收扩增的 DNA。可将引物设计为含有适当的限制性酶识别位点，以便可将扩增的 DNA 克隆至适合的克隆载体中。

[0082] 这些技术可被用来获得本文描述的 ndoS 基因序列的全部或部分。尽管通常本文所提及的技术是本领域熟知的，还是特别引用了 Sambrook 等人 (1989)。

[0083] 如本文所描述的 EndoS 多核苷酸在用于本发明的多肽的生产中有用，其可在体外、体内或离体进行。多核苷酸本身可用作治疗剂或可用于重组蛋白合成。

[0084] 通常将用于本发明的多核苷酸并入重组的可复制载体中。载体可用于在相容的宿主细胞中复制核酸。因此可通过将 EndoS 多核苷酸引入可复制载体，将所述载体引入相容的宿主细胞并在发生载体复制的条件下培养宿主细胞来制备用于本发明的多核苷酸。宿主细胞可以是例如大肠杆菌细胞。

[0085] 优选地载体是含有编码 EndoS 多肽的核酸序列的表达载体。这种表达载体通常在分子生物学领域中被常规地构建并可例如包括使用质粒 DNA 和适当的起始密码子、启动子、增强子和其他元件，例如诸如加 A 信号，它们为使蛋白表达所必需的并以正确方向安置。对本领域的技术人员来说其他适合的载体是清楚的。作为这一方面进一步的实例我们引用 Sambrook 等人 (1989)。

[0086] 优选地，载体中用于本发明的多核苷酸被可操作地连接于能够提供通过宿主细胞表达编码序列的控制序列，即载体是表达载体。术语“可操作地连接”意指毗邻，其中所描述的组分所处的关系允许它们以它们预期的方式发挥作用。以在与调节序列相容的条件下实现编码序列的表达的方式安置“可操作地连接”于编码序列的调节序列例如启动子。

[0087] 载体可以是例如具有复制起点、可选择地表达所述多核苷酸的启动子和可选择地所述启动子的调节子的质粒、病毒或噬菌体载体。载体通常适应于体内使用。

[0088] 启动子和其他表达调节信号可选择为与针对其设计表达的宿主细胞相容。可使用哺乳动物启动子例如 β-肌动蛋白启动子。组织特异性启动子是尤其优选的。还可使用病毒启动子例如莫洛尼氏鼠白血病病毒长末端重复序列(MMLV LTR)、劳斯肉瘤病毒(RSV)LTR启动子、SV40 启动子、人类巨细胞病毒(CMV)IE 启动子、腺病毒、HSV 启动子(诸如 HSV IE 启动子)或 HPV 启动子，尤其是 HPV 上游调节区(URR)。本领域中可容易地获得病毒启动子。

[0089] 载体可进一步包括侧翼于所述多核苷酸的序列，产生含有与真核基因组序列优选哺乳动物基因组序列同源的序列的多核苷酸。这将允许将本发明的多核苷酸通过同源重组引入真核细胞的基因组。特别是，含有具有侧翼病毒序列的表达盒的质粒载体可用于制备适于将本发明的多核苷酸递送至哺乳动物细胞的病毒载体。适合的病毒载体的其他实例包括单纯疱疹病毒载体和包括慢病毒、腺病毒、腺伴随病毒和 HPV 病毒的逆转录病毒。使用这些病毒的基因转移技术是本领域技术人员已知的。逆转录病毒载体例如可用于稳定地整合多核苷酸，导致多核苷酸进入宿主基因组。相比之下复制缺陷型腺病毒载体保持游离并因此允许瞬时表达。

[0090] 疾病和疾患

[0091] EndoS 多肽或多核苷酸可用于治疗或预防由病原 IgG 抗体介导的疾病或疾患。本领域中所熟知的是许多不同的疾病和疾患的发病机理涉及 IgG 抗体。本发明人发现可使用 EndoS 多肽或多核苷酸抑制这类疾病中病原 IgG 抗体的作用。

[0092] 所述疾病或疾患可以是自身免疫性疾病。这类疾病包括艾迪生病、斑秃、强直性脊柱炎(ankylosing spondilitis)、抗磷脂综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性胃炎、自身免疫性听力丧失、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性甲状旁腺功能减退症、自身免疫性垂体炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴增生综合征、自身免疫性心肌炎、自身免疫性卵巢炎、自身免疫性睾丸炎、自身免疫性多内分泌腺病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、丘-施二氏综合征(Churg-Strauss syndrome)、腹腔疾病(coeliac disease)、克罗恩病、CREST 综合征、德戈斯病(Degos disease)、获得性大疱性表皮松解症、原发性混合型冷球蛋白血症、巨细胞动脉炎、肾小球肾炎、古德帕斯丘综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征(Guillan-Barre syndrome)、桥本甲状腺炎、特发性血小板减少性紫癜、炎症性肠病、川崎病、梅尼埃综合征、混合性结缔组织病、莫伦氏溃疡、多发性硬化、重症肌无力、落叶型天疱疮、寻常型天疱疮、恶性贫血、结节性多动脉炎、1 型多腺体自身免疫性综合征(PAS-1)、2 型多腺体自身免疫性综合征(PAS-2)、3 型多腺体自身免疫性综合征(PAS-3)、多肌炎/皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、银屑病关节炎、雷诺氏综合征、赖特尔综合征、类风湿性关节炎、结节病、硬皮病、舍格伦综合征(Sjögren's syndrome)、亚急性甲状腺炎、交感性眼炎、系统性红斑狼疮、高

安氏动脉炎 (Takayasu′ s arteritis)、I 型糖尿病、白癜风、伏格特 - 小柳 - 原田疾病 (Vogt-Koyanagi-Harada disease) 或韦格纳氏肉芽肿病。优选地，所述自身免疫性疾病是类风湿性关节炎 (RA)、系统性红斑狼疮或特发性血小板减少性紫癜。

[0093] 疾病或疾患可是哮喘。哮喘可是急性或慢性哮喘。

[0094] IgG 活化补体系统中的经典途径。因此 EndoS 多肽和多核苷酸可用于治疗其中补体活化对患者有害的疾病和疾患。例如 EndoS 多肽和多核苷酸可用于治疗移植引起的病症例如移植排斥（诸如急性或慢性的同种异体移植物排斥或异种移植物排斥）和移植物抗宿主病。移植引起的病症可由于患者中组织或器官的移植而发生。

[0095] EndoS 多肽和多核苷酸也可用于手术后治疗，例如经历过心脏旁路手术的患者的治疗中。

[0096] 此外，EndoS 多肽和多核苷酸可用于治疗获得性血友病，即除去已产生对凝血因子的自身抗体的血友病患者中的 IgG。

[0097] 通常受治疗者是哺乳动物受治疗者例如小鼠、大鼠或灵长类动物（例如绒猴或猴）。受治疗者可以是人类或非人类的动物。当受治疗者是实验室动物例如小鼠、大鼠或灵长类动物时，可处理动物以诱导由病原 IgG 抗体介导的疾病或疾患。例如可使用 Nandakumar 等人描述的小鼠抗 CII 抗体诱导的关节炎 (CAIA) 模型 (Am. J. Pathol. 163(5)：1827-1837，2003) 或这种模型的修饰形式。

[0098] 治疗和预防

[0099] 本发明提供了 EndoS 多肽和多核苷酸治疗或预防由病原 IgG 抗体介导的疾病或疾患的用途。治疗可以是治疗性或预防性的。

[0100] 为预防所述疾病或疾患的一种或多种症状的发作，可对个体施用 EndoS 多肽或多核苷酸。在这一实施方案中，受治疗者可是无症状的。受治疗者可具有对所述疾病的遗传易感性。将预防有效量的多肽或多核苷酸施用于这样的个体。预防有效量是预防疾病或疾患的一种或多种症状的发作的量。

[0101] EndoS 多肽或多核苷酸的治疗有效量是对改善疾病或疾患的一种或多种症状有效的量。优选地，待治疗的个体是人类。

[0102] 可通过任何适合的方法对受治疗者施用 EndoS 多肽或多核苷酸。可通过肠内或肠胃外的途径例如经由口、口腔、肛门、肺、静脉内、动脉内、肌肉内、腹膜内、关节内、局部或其他适当的施用路线施用所述多肽或多核苷酸。

[0103] 可以诸如对特定部位的靶向治疗的方式对受治疗者施用 EndoS 多肽或多核苷酸。例如可将 EndoS 多肽直接施用于器官移植的部位。可将 EndoS 多肽局部地例如在关节内或一个或多个关节注射。对于类风湿性关节炎 (RA) 的预防或治疗来说，对关节局部施用 EndoS 是尤其优选的。可将 EndoS 多肽与特异性结合软骨的试剂轭合。对于 EndoS 多核苷酸来说，可使用编码 EndoS 多肽的表达载体直接将 EndoS 表达于特定的组织，例如通过使用组织特异性启动子或 RNAi。

[0104] 本文提及的任何多肽和多核苷酸的制剂将取决于例如多肽或多核苷酸的性质和待治疗的疾患的因素。可以不同的剂型施用多肽或多核苷酸。它可是口服（例如片剂、糖锭 (troche)、锭剂 (lozenge)、水性或油状悬浮液、可分散的粉剂或粒剂）、肠胃外、皮下、静脉内、肌肉内、胸骨内、经皮或通过输注技术施用的。还可将多肽或多核苷酸作为栓剂施用。

医生能够确定每个特定的患者所需要的施用路线。

[0105] 通常将多肽或多核苷酸与药学上可接受的载体或稀释剂一起配制以便使用，而且这可使用制药领域中的常规方法实现。药物载体或稀释剂可是例如等渗溶液。例如固体口服形式可含有（与活性化合物一起的）稀释剂，诸如乳糖、葡萄糖、蔗糖、纤维素、玉米淀粉或马铃薯淀粉；润滑剂，诸如硅石、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁或硬脂酸钙和/或聚乙二醇；粘合剂，诸如淀粉、阿拉伯胶、明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素或聚乙烯吡咯烷酮；崩解剂(disaggregating agent)，诸如淀粉、海藻酸、海藻酸盐或淀粉乙醇酸钠；泡腾混合物；着色剂；甜味剂；润湿剂诸如卵磷脂、聚山梨醇酯、十二烷基硫酸盐(laurylsulphate)；以及通常无毒并且药理上无活性的用于药物制剂的物质。可以已知的方法，例如通过混合、粒化、压片、包糖衣或薄膜包衣过程制备这样的药物制品。

[0106] 用于口服施用的液体分散体可是糖浆、乳剂和悬浮液。糖浆可含有作为载体的例如蔗糖或蔗糖与甘油和/或甘露醇和/或山梨醇。

[0107] 悬浮液和乳剂可含有作为载体的例如天然树胶、琼脂、海藻酸钠、果胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素或聚乙烯醇。用于肌肉内注射的悬浮液或溶液可含有（与活性化合物一起的）药学上可接受的载体，例如无菌水、橄榄油、油酸乙酯、二醇诸如丙二醇以及如果需要，适量的盐酸利多卡因。

[0108] 用于静脉内或输注的溶液可含有作为载体的例如无菌水或优选地它们可是无菌的、含水的、等渗的盐水溶液的形式。

[0109] 对于栓剂，传统的粘合剂和载体可包括例如聚亚烷基二醇或甘油三酸酯；这种栓剂可从含有0.5％至10％、优选地1％至2％范围内的活性组分的混合物形成。

[0110] 口服制剂包括像例如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁以及类似物这样的通常使用的赋形剂。这些组合物采取溶液、悬浮液、片剂、丸剂、胶囊、持续释放制剂或粉剂的形式并含有10％至95％、优选地25％至70％的活性成分。当药物组合物被冷冻干燥时，冷冻干燥的材料可在施用前复原为例如悬浮液。优选地在缓冲液中实现复原。

[0111] 用于对患者口服施用的胶囊、片剂和丸剂可具有肠溶包衣，包括例如Eudragit“S”、Eudragit“L”、醋酸纤维素、醋酸邻苯二甲酸纤维素或羟丙基甲基纤维素。

[0112] 还可使用适于通过无针注射（例如经皮）递送的药物组合物。

[0113] 施用治疗有效量的多肽或多核苷酸。可根据不同的参数，尤其是根据所使用的多肽或多核苷酸；待治疗的患者的年龄、体重和疾患；施用路线和所需的治疗方案确定剂量。再一次地，医生能够确定任何特定患者所需的施用路线和剂量。依照特异性抑制剂的活性，待治疗的受治疗者的年龄、体重和疾患，疾病的类型和严重度以及施用的频率和路线，典型的日剂量是从约0.1至50mg/kg体重，优选地从约0.1mg/kg至10mg/kg体重。优选地日剂量水平为5mg至2g。

[0114] 上文描述的EndoS核苷酸序列和含有这样的序列的表达载体也可用作如上文概括的药物制剂。优选地，以可在待治疗个体的细胞中表达的表达载体的形式提供核酸，例如RNA或DNA，尤其是DNA。疫苗可含有裸露的核苷酸序列或与阳离子的脂质、聚合物或靶向系统结合的核苷酸序列。可通过任何可用的技术递送疫苗。例如可通过针注射，优选地皮内、皮下或肌肉内地引入核酸。可选择地，可使用核酸递送设备例如粒子介导的基因递送直接

穿过皮肤递送核酸。可对皮肤或通过例如鼻内、口、阴道内或直肠内施用对粘膜表面局部地施用核酸。

[0115] 可通过几种已知的转染技术（例如包括使用转染剂的那些）增强核酸构建体的摄入。这些剂的实例包括阳离子剂例如磷酸钙和 DEAE-Dextran(DEAE- 葡聚糖）以及脂质转染剂例如 lipofectam 和 transfectam。可改变待施用的核酸的剂量。通常以 1pg 至 1mg，优选地对粒子介导的基因递送来说 1pg 至 10μg 以及对其他路线来说 10μg 至 1mg 的核酸范围施用核酸。

[0116] 本发明还提供了离体处理采自患有由病原 IgG 抗体介导的疾病或疾患的患者的血液的方法，其包括将血液与 EndoS 多肽接触。因此 EndoS 可被用于血液的体外处理。EndoS 可用于处理血液的一种或多种组分例如血浆或血清。本文描述的离体方法可对已从患者身体取出的血液实施。在与 EndoS 多肽接触后可将血液或血液产品可选择地返回到患者。

[0117] 下列实施例示例性说明本发明：

[0118] 实施例 1：在人类血液中 EndoS 有效地水解 IgG

[0119] 为了在作为抗病理 IgG 的治疗剂时有效，在人类全血环境中 EndoS 需要在低浓度时有活性。为了研究这一点，如以前所描述的生产并纯化没有信号序列（即具有 SEQ ID NO：1 的序列）的重组 EndoS(rEndoS)(Collin&Olsén，2001，Infect. Immun. 69：7187-7189)。将逐渐增加终浓度的 (0、0.31、0.63、1.25、2.5、5、10 和 20μg/ml) 的 rEndoS 在 500μl 的来自健康志愿者的肝素化的人类血液中于 37℃翻滚 (end over end) 旋转孵育 1 小时。将样品于 4℃以 720x g 离心 10 分钟，之后用蛋白 G 琼脂糖凝胶依照制造商的使用说明 (GE Healthcare Biosciences，Uppsala，Sweden) 纯化血浆中的 IgG。与之前关于 IgG 结合蛋白蛋白 H（来自化脓性链球菌）和蛋白 A（来自金黄色葡萄球菌 (Staphylococcus aureus)）的发现 (Collin&Olsén2001，EMBO J. 20：3046-3055) 一致，完全糖基化的 IgG 和 EndoS 处理的 IgG 在对蛋白 G 的结合效力上没有差别。在 10％的 SDS-PAGE 上分离纯化的 IgG，用考马斯染色或电印迹至 PVDF(Immobilon-P，Millipore，Bedford，MA) 上。用 5μg/ml 生物素化的扁豆凝集素 (LCA) 和 1μg/ml 的链霉抗生物素 - 辣根过氧化物酶 (Vector Laboratories，Burlingame，CA) 和 SuperSignalWest Pico 过氧化物酶底物 (Pierce，Rockford，IL) 检测糖基化的 IgG。用 Chemidoc XRS 成像系统和 Quantity One 图像分析软件 (Bio-Rad，Hercules，CA) 分析膜。

[0120] 这些实验显示逐渐增加浓度的 EndoS 逐渐将 IgG 重链转变为小了约 3kDa 的表观分子量并且在 2.5-5μg/ml 以上浓度的 rEndoS 时几乎看不到完整大小的重链（图 5A）。对同样的样品进行的 LCA 凝集素印迹实验显示逐渐增加浓度的 rEndoS 逐渐产生较低的糖信号并且事实上在 2.5-5μg/ml 以上浓度的 rEndoS 时没有信号（图 5B）。先前显示过缺乏凝集素信号与如由质谱法分析的完全的 IgG 聚糖水解很好地对应 (Collin&Fischetti，2004，J. Biol. Chem. 279：22558-22570)。此外峰密度分析显示在大约 5μg/ml 的 rEndoS 浓度的背景水平时变平的剂量响应曲线（图 5C）。

[0121] 这些结果表明 5μg/ml 的 rEndoS 在 1 小时内完全水解了人类血液中的 IgG 库。假定 IgG 血浆浓度为 10mg/ml，这将意味着以 1 ： 2000 的 rEndoS ： IgG 比率在 1 小时内完全水解 IgG。因此，在如人类血液这样复杂的环境中，rEndoS 显示出对功能上重要的 IgG 聚糖的显著有效的水解。

[0122] 实施例 2 :在兔中 EndoS 有效地水解 IgG

[0123] 为了进一步证实 EndoS 作为治疗剂的用途,研究了在活体动物的循环中 EndoS 的 IgG 聚糖水解活性。相应于约 1 ： 2000 的 rEndoS ： IgG 比率 (假定 rEndoS 仅在血液中分布),用 1mg 的 rEndoS 静脉内注射体重约 3kg 的 Swedish loop 兔。动物没有显示疾病迹象。在 0、1、2、4、6、8 和 12 小时以及第 1、2、3、4、5、6、8 和 10 天采集血清样品。如前文对人类血液描述过的用 SDS-PAGE 和凝集素印迹分析来分析血清 IgG 的糖基化状况。

[0124] 这些实验显示,在注射前,IgG 重链的表观分子量与完全糖基化完整的兔 IgG 相当 (图 6A,染色、0 小时以及 IgG)。相比之下, rEndoS 注射后 1 小时已经有 IgG 重链向小约 3kDa 的蛋白条带的部分转变。rEndoS 注射后 4 小时 IgG 重链被完全转变为较小表观分子量形式并且这一结果被维持直到注射后第 10 天的最后的样品 (图 6A,染色,4 小时至第 10 天)。相同样品的凝集素印迹分析显示在 rEndoS 注射后 6-8 小时 IgG 重链糖信号几乎消失并且这一结果被维持直到第 10 天,此时凝集素信号只有轻微增加 (图 6A,LCA 印迹)。

[0125] 为了了解 rEndoS 在已经暴露于酶的动物中是否有活性,在第一次注射后第 35 天用 1mg 的 rEndoS 进行第二次注射。再一次地,动物看起来没有受注射影响并且如上文采集并分析血清样品。SDS-PAGE 显示在第二次注射前 IgG 重链变为与完全糖基化的对照兔 IgG 重链一样 (图 6B,0 小时,IgG)。1 小时后,IgG 重链部分地向小 3kDa 的表观分子量转变,而 6-8 小时后 IgG 重链被完全转变并且这一转变被维持直到这一第二次施用后的第 10-14 天 (图 6B,染色,1 小时至第 14 天)。凝集素印迹分析显示在 rEndoS 注射后 1-2 小时 IgG 重链糖信号几乎消失并且这一结果被维持直到第 8 天,此时凝集素信号有轻微增加并在第 10 和 14 天之间进一步轻微增加 (图 6B,LCA 印迹,第 1-14 天)。

[0126] 为了研究 rEndoS 在已经两次静脉内暴露于 rEndoS 的动物中是否仍然有活性,在第一次注射后 130 天用 1mg 的 rEndoS 进行第三次注射。再一次地,动物没有受注射影响并且如上文采集并分析血清样品。SDS-PAGE 显示在第三次注射前, IgG 重链变为与完全糖基化的对照兔 IgG 重链一样 (图 6C,0 小时, IgG)。1 小时后, IgG 重链部分地向小 3kDa 的分子量转变,并且这一转变被维持直到这一第三次施用后的第 8-10 天 (图 6C,染色,1 小时至第 14 天)。凝集素印迹分析显示在第三次 rEndoS 注射后一小时 IgG 重链糖信号消失并且这一结果被维持直到第 5 天,此时凝集素信号有轻微增加并在第 6 和 14 天之间进一步增加 (图 6C, LCA 印迹,第 1-14 天)。

[0127] 总体来看,这些结果表明低浓度的 EndoS 于体内有效地水解了全兔 IgG 库上的重链聚糖。此外,之前静脉内暴露于 EndoS 没有显著影响 EndoS 的体内酶促活性。

[0128] 实施例 3 :尽管有针对 EndoS 酶的抗体但 EndoS 在兔中是有活性的

[0129] 由于在注射第二次和第三次时 EndoS 具有完全的活性,因此确定这是由于对酶的免疫应答是没有或低水平的还是具有不干扰酶促活性的抗 EndoS 的特异性抗体是令人感兴趣的。自从已知健康个体和用化脓性链球菌感染的那些个体都有抗 EndoS 的抗体 (Åkesson 等人,2004, J. Infect. Dis. 189 :797-804) 以来,这是尤其令人感兴趣的。

[0130] 为了研究这一点,在 10％ SDS-PAGE 上分离纯化的 rEndoS 并电印迹至被切割为 1.5mn 的条的 PVDF 上。将条与来自第一次、第二次和第三次注射的所有血清样品的 1 ： 500 的稀释液孵育,之后用过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体 (Pierce) 孵育。如上文对凝集素印迹描述过的将条用化学发光显影。

[0131] 这一实验显示在第一次注射前已有与rEndoS反应的抗体（图7，第一次注射，0小时）。注射后10天对rEndoS的反应性上仅有轻微增加（图7，第一次注射和图7A插图），但是在注射后6和8小时之间有个反应性缺口（图7，第一次注射）。这一发现的一种可能的原因是结合于rEndoS的特异性抗体被复合并被网状内皮组织系统从循环中除去。恰好在第二次注射rEndoS前，抗rEndoS的反应性与第一次注射前相当或略高，并且在注射后的最初3天中反应性没有增加（图7，第二次注射，0小时－第3天）。第二次注射后从第4天到第14天，抗rEndoS的反应性逐渐增加（图7，第二次注射，第4天-14天）。第三次注射rEndoS前，抗rEndoS的反应性比第二次注射前略高，并且反应性在注射后的第一天中没有增加（图7，第三次注射，0小时-1天）。第三次注射后从第2天到第14天，抗rEndoS反应性增加（图7，第三次注射，第2-14天），尽管高信号水平使测定增加的水平变得困难。

[0132] 考虑到来自第二次和第三次注射后获得的样品的蛋白质印迹中的非常高的信号水平，还通过ELISA分析了全部三次注射之前和之后的样品。对于ELISA实验，用2μg的EndoS包被微量滴定板(Nunc，Roskilde，Denmark)，之后用溶于PBS中的20mg/ml的牛血清白蛋白封闭。将来自EndoS注射前和注射后0.5、1、5和10天的动物的血清以1：100至1：200,000的系列稀释用作第一抗血清。过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体(Pierce)用作第二抗体而ABTS(Roche，IN)作为过氧化物酶底物。通过用系列稀释的多克隆兔IgG(Sigma)如上文包被微量滴定板并用过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体为第二抗体生成兔IgG的标准曲线。在Victor3多标记读数器(Perkin-Elmer，Waltham，MS)中于405nm分析板。

[0133] ELISA实验证实了恰好在第二次注射EndoS前，抗EndoS反应性与第一次注射前相当或略高，并在注射后5天时反应性仍旧没有增加（图7A，第一次和第二次注射）。第二次注射后从第5至10天，抗EndoS反应性逐渐增加（图7A，第二次注射，第5-10天）。在第三次注射EndoS前，ELISA数据证实抗EndoS反应性比第二次注射前略高，并且在注射后第一天中反应性没有增加（图7A，第三次注射，第0-1天）。第三次注射后从第5至10天，ELISA数据显示抗EndoS反应性显著增加（图7A，第三次注射，第5-10天）。

[0134] 这些结果表明在未暴露的动物中存在针对EndoS的抗体并且在兔中重复静脉内暴露时rEndoS产生免疫应答。但是在三次连续的施用期间这些抗体没有干扰rEndoS在循环中的活性。

[0135] 此外重复的施用没有影响酶的大约12小时的循环时间（定义为检测EndoS的能力），如通过对来自兔血清样品的EndoS的免疫沉淀和蛋白质印迹分析所分析的。

[0136] 实施例4：EndoS切割CII特异性单克隆抗体

[0137] 进行了与和不与EndoS孵育的并用10％的SDS-PAGE分离的IgG单克隆抗体(CIIC1和M2139)的SDS-PAGE和凝集素印迹分析并将结果示于图8。

[0138] EndoS特异性地水解免疫球蛋白(IgG)的天冬酰胺连接的聚糖的β-1，4-二-N-乙酰壳二糖核。用EndoS除去糖侧链之后，IgG分子量降低。在染色的凝胶图片中可清楚地看到用EndoS处理的IgG样品和未处理的IgG之间γ-链大小的差异。

[0139] 为了证实IgG的大小变化是由EndoS活性而不是由蛋白水解性的降解导致的并且产生γ-链上的聚糖部分的去除，进行了凝集素印迹分析。来自雪花莲(Galanthus nivalis)(GNL)的凝集素优先识别存在于γ-链上二天线型聚糖中的α-1，3甘露糖残基。

当与EndoS孵育时，使用GNL凝集素的相同样品的凝集素印迹分析显示出显著下降的信号。相比之下，在不存在EndoS的情况下孵育时，γ-链依旧是糖基化的。这些数据表明EndoS具有从小鼠IgG的γ-链除去含有α-1,3甘露糖的结构的能力。

[0140] 实施例5：去糖基化的抗体在体内结合于软骨

[0141] 进行这一实验以了解从II型胶原蛋白(CII)特异性IgG单克隆抗体(mAb)除去糖部分是否影响其在体内对II型胶原蛋白的结合能力。

[0142] 用1mg的CII结合抗体(正常的和EndoS处理的)腹膜内注射1-2日龄的新生大鼠。抗体传输二十四小时后将爪解剖并在OCT化合物中用异戊烷和干冰迅速冷冻。用生物素化的抗小鼠κ(187.1)抗体和HRP轭合的第二抗体作为检测系统用标准实验方案进行免疫组织化学分析。结果示于图9。EndoS处理和未处理的抗体在体内对关节软骨的结合模式上没有差别。

[0143] 实施例6：通过抗CII单克隆抗体的去糖基化的关节炎致病力(arthritogenicity)丧失

[0144] CII特异性单克隆抗体在小鼠中诱导了急性型关节炎，即Nandakumar等人(2003)中描述的所谓的胶原蛋白抗体诱导的关节炎(CAIA)。CAIA类似于关节炎的效应阶段而不涉及免疫应答的引发阶段。这种抗体介导的关节炎取决于补体成分，FcγR，效应细胞因子TNF-α和IL-1β以及取决于嗜中性粒细胞和巨噬细胞。CAIA用于本研究中以了解通过EndoS处理将IgG去糖基化的重要性。使用含有两种抗体：结合于J1表位(551-564；GERGAAGIAGPK)的M2139mAb(IgG2b)和结合于II型胶原蛋白的$C1^1$(359-363；ARGLT)的CIIC1(IgG2a)的单克隆抗体混合物诱导急性型关节炎，CAIA。

[0145] 为了测定去除糖侧链是否影响II型胶原蛋白的病原单克隆抗体诱导关节炎的能力，将用EndoS处理或或未处理的这一单克隆抗体的混合物注射入小鼠中。在0天用9mg未处理(n = 7)或EndoS处理的(n = 5)抗CII单克隆抗体(M2139和CIIC1)注射雄性(BALB/c X B10.Q)F1小鼠组。第5天时用50μg的大肠杆菌LPS腹膜内注射所有小鼠。关节炎发生率(a)和平均关节炎得分(b)示于图10。

[0146] 如可从图10a和10b见到的，在早期显示为对胶原蛋白抗体诱导的关节炎(CAIA)高度易感的(BALB/c X B10.Q)F1小鼠中出现了临床关节炎的完全抑制。因此，明显是通过EndoS从IgG的γ-链去除糖取消了其关节炎诱导能力(关节炎致病力)。

[0147] 为了证实通过除去IgG的糖侧链的单克隆抗体的关节炎致病力的丧失，在具有另一种遗传背景B10.RIII的小鼠中诱导了CAIA。

[0148] 在0天用9mg的未处理的(n = 11)或EndoS处理的(n = 12)的抗CII单克隆抗体(M2139和CIIC1)注射雄性B10.RIII小鼠。在第5天时用50μg的大肠杆菌LPS腹膜内注射所有小鼠。关节炎发生率(a)和平均关节炎得分(b)示于图11。如从图11所看到的，在B10.RIII小鼠中，与未处理的mAb混合物相比，由EndoS处理的mAb混合物诱导的关节炎的发生率和严重度显著下降。

[0149] 实施例7：体外经由CII反应性单克隆抗体的补体活化

[0150] 为了了解为什么从IgG的γ-链除去糖降低或取消了mAb的临床关节炎诱导能力，用EndoS处理或未处理的抗体进行体外实验以评估它们诱导补体活化的能力。

[0151] 图12显示了在与II型胶原蛋白(a)或直接与塑料表面(b)结合的mAb上沉积的

第一补体成分 C1q。在通过 EndoS 处理 (M2139D) 和未处理 (M2139) 的抗体的补体系统的活化之间没有差别。CIIC1(EndoS 处理和未处理的)mAb 根本没有活化补体。G11(IgG2b) 和 L243(IgG2a) 是结合于无关抗原的对照单克隆抗体。

[0152] 图 13 显示了补体成分 C3 的切割产物 (C3b) 在与 II 型胶原蛋白 (a) 或直接与塑料表面 (b) 结合的 mAb 上的沉积。在通过 EndoS 处理 (M2139D) 和未处理 (M2139) 的抗体的补体系统的活化之间没有差别。CIIC1(EndoS 处理和未处理的)mAb 根本没有活化补体。G11(IgG2b) 和 L243(IgG2a) 是结合于无关抗原的对照单克隆抗体。

[0153] 实施例 8 :CII 特异性单克隆抗体的去糖基化对嗜中性粒细胞 (PMNL) 氧化猝发的影响

[0154] 为了测定在糖基化和去糖基化抗体在诱导多形核白细胞 PMNL(嗜中性粒细胞) 的氧化猝发的能力上是否有功能性差异,将聚苯乙烯微粒用 EndoS 处理和未处理的抗体包被并和来自具有三种不同基因型 (FcgR+/+、FcgR-/- 和 FcgR+/-) 的小鼠的全血孵育。之后用 FACS(荧光激活细胞分选术) 分析进行氧化猝发测定。用 RB6 抗体识别 PMNL。

[0155] 结果示于图 14。糖基化和去糖基化的抗体之间的氧化猝发的活化没有差别。

[0156] 实施例 9 :小鼠爪的组织学

[0157] 为了检查来自接受糖基化或 EndoS 处理的 mAb 的小鼠的爪的关节的组织学状态,用标准的苏木精 - 伊红染色给来自用 9mg 未处理的、去糖基化的或未处理和 EndoS 处理的抗体混合物的等量混合物注射的 (BALB/c xB10.Q)F1 小鼠 (n = 3-4) 的福尔马林固定的脱钙关节的 6μm 切片染色。

[0158] 结果表明在来自用糖基化抗体注射的小鼠的关节中出现大量的细胞浸润以及软骨和骨的糜烂。相比之下,用 EndoS 处理的抗体注射的小鼠爪仅显示较小的骨糜烂并且没有大量的细胞浸润。在这些小鼠中软骨看上去是正常的。

[0159] 实施例 10 :体内正常和去糖基化抗体的清除率

[0160] 为了测定去糖基化抗体的减小的关节炎致病力是否是由于这些抗体与糖基化抗体相比从小鼠中早期并且提高的清除率,用在第 1 和 5 天从 B10.RIII 小鼠收集的血清进行通过 ELISA(酶联免疫吸附测定) 的 II 型胶原蛋白结合抗体的分析。结果示于图 15。用糖基化和 EndoS 处理的 mAb 注射的小鼠的血清中存在的抗体水平之间没有差异,表明去糖基化的抗体从小鼠的正常的清除率水平。

[0161] 实施例 11 :通过去糖基化抗体的免疫复合体的形成

[0162] 我们想要确定除对 FcγR 分子的结合差异之外,糖基化和 EndoS 处理的抗体之间是否存在任何的显著差异。最有可能的是在抗体传输关节炎模型中最初的触发事件中的第一步骤是软骨表面上或滑膜中胶原蛋白 -IgG 免疫复合体的形成。胶原蛋白表位位于在软骨表面上形成的重复结构中,因此可能的是两种不同的抗体可在关节表面上形成多体复合体,以通过最佳的补体活化或通过与 FcγR 负载细胞结合来促进关节炎致病力。

[0163] 为了研究稳定的免疫复合体形成的问题,在琼脂糖上进行抗体的单向免疫扩散。将以 1mg/ml 溶于含有 0.05% 叠氮钠的 PBS 的大鼠 CII 浸润至 1% 的琼脂糖 (低成胶温度琼脂糖 26-30℃) 凝胶中。将 25ul 的 1mg/ml 浓度的抗体对每孔上样。用考马斯蓝对凝胶染色。结果显示去糖基化的抗体与糖基化的 mAb 相比没有形成稳定的免疫复合体。对形成稳定免疫复合体的这种无能力可能是对去糖基化抗体丧失关节炎致病力的另一种解释。

[0164] 实施例 12 :EndoS 从致死的抗体介导的血小板减少中解救小鼠

[0165] 证实 EndoS 在体内有效地水解 IgG 聚糖并且动物耐受所述酶的施用之后，我们研究了 EndoS 治疗严重的 IgG 介导的疾病的用途。所选择的疾病模型是免疫性血小板减少性紫癜 (ITP) 的小鼠模型。在这一模型中，腹膜内注射对抗小鼠血小板的多克隆兔 IgG(αPLT-IgG)，导致严重的血小板减少、出血和在较高剂量的 IgG 时的最终的死亡。

[0166] 抗小鼠血小板的兔抗血清是从 Inter-Cell Technologies(Jupiter，FL) 购得。使用蛋白 G 琼脂糖凝胶从这一血清分离 IgG 级分。通过 SDS-PAGE 分析确认蛋白纯度并用 Advanced Protein Assay Reagent(高级蛋白测定试剂)(Cytoskeleton，Denver，CO) 测定蛋白浓度。对使用预处理的 IgG 的实验，将纯化的兔抗小鼠血小板 IgG(αPLT-IgG) 以 1 ： 500 的酶比底物比率用纯化的 GST-EndoS 或 GST 于 37℃孵育 24 小时，之后在谷胱甘肽 - 琼脂糖凝胶 (GE Healthcare) 上除去 GST-EndoS 和 GST。如上文所述通过 SDS-PAGE 和使用 LCA 的凝集素印迹确认 IgG 聚糖的水解。在标准的光照和温度条件下安置雌性 BALB/c 小鼠 (约重 20g) 并用标准的实验室食物和水随意喂食。将溶于 0.25ml PBS 的 1.2mg 抗小鼠血小板 IgG(未处理、EndoS 处理或 GST 处理的) 通过腹膜内注射 (i.p.) 施用于动物。监测动物粘膜与皮肤的出血、身体活动、从组中的孤立并记录存活时间。

[0167] 在即将注射兔抗小鼠血小板 IgG 之前以及在实验过程中每隔一定间隔从小鼠收集血液样品。从预热的尾静脉将 5μl 全血收集至含有 45μl 溶于 PBS 的 0.1M 柠檬酸钠 / 柠檬酸 (pH6.5) 的管中。用流式细胞术确认这些血液样品中的血小板群。用仓鼠抗小鼠 CD-61 PE(BD Biosciences，SanJose，CA) 于室温标记样品 10 分钟。将 10μl 的 SPHERO[a] 彩色校准粒子 (BDBiosciences) 加至每一个试管以使得能够计数。用 Utilyse[a](Dako Cytomation，Glostrup，Denmark) 裂解红细胞群并在 FacsCalibur 流式细胞计 (BDBiosciences) 上以对数模式分析样品。通过在 Neubauer 室中人工计数来延续红细胞裂解后血液样品中的血小板数目计算。

[0168] 在预实验 (pilot experiment) 中，用 1.2mg 的 αPLT-IgG 注射三只雌性 BALB/c 小鼠并如上文描述的用流式细胞术和显微镜方法观察随时间的血小板计数。这显示出所有三只小鼠迅速发生血小板减少并在 αPLT-Ig 施用后 24 小时内发生死亡 (图 16A)。

[0169] 接下来，我们测试了在对小鼠施用前用 GST-EndoS 或作为对照的 GST 预处理 αPLT-IgG 是否对疾病的发生和存活率有任何影响。用 GST-EndoS 处理的 αPLT-IgG 注射的所有动物 (n ＝ 4) 没有发生疾病的任何征兆都存活了，而用 GST 处理的 αPLT-Ig 注射的所有动物 (n ＝ 4) 发生严重的皮下出血并在 24 小时内死亡 (图 16B)。这代表在两组动物中统计学上显著的差异 (p ＝ 0.0082)。此外，通过流式细胞术的每日血小板计数分析显示 GST-EndoS 处理的 αPLT-IgG 对小鼠血小板计数没有明显的影响，而 GST 处理的 αPLT-IgG 导致了血小板计数的迅速下降 (图 16C)。这些实验证明 αPLT-IgG 的离体 EndoS 处理取消了 IgG 抗体的致病力，这一结果与 EndoS 的体内活性一起促使我们去研究是否可在疾病发作后对小鼠施用 EndoS 以阻止致死的血小板减少的发展。用 1.2mg 的 αPLT-IgG 注射小鼠 (n ＝ 8 只 / 组)，之后在施用 αPLT-Ig 后 3 小时腹膜内注射 100μg 的 GST-EndoS 或 GST。所有用 GST 处理的动物 (8/8) 在两天内死亡，而只有 2/8 的用 GST-EndoS 处理的动物死亡 (图 17A)。这代表了在组之间存活率的统计学上的显著差异 (p ＝ 0.003)。来自 GST-EndoS 或 GST 处理的小鼠的总 IgG 的 SDS-PAGE 和凝集素印迹分析显示在 GST-EndoS 处理的动物

中 α PLT-IgG 处理后 24、48 和 72 小时重链聚糖被完全水解，而 GST 处理的动物中的 IgG 是完全糖基化的直到在 24 小时死亡发生（图 17B）。此外如流式细胞术所分析的血小板计数显示 α PLT-IgG 的施用诱导了血小板计数的迅速下降，但是在 GST-EndoS 处理的小鼠中血小板计数开始稳步上升并在 2-3 天后达到正常值（图 17C）。

[0170] 为了进一步质询我们的假设，我们试图模拟 ITP 患者的临床情况。当这些患者寻求医疗帮助时，血小板计数常常非常低并且已显露出皮下和其他的出血并发症。因此我们在小鼠 (n = 14) 中用 α PLT-IgG 诱导疾病但直到在 α PLT-IgG 注射后 5-7 小时动物表现出明显可见的皮肤血肿才开始用 GST-EndoS 或 GST 处理。在这些实验中，5/7 的用 GST-EndoS 处理的小鼠存活并恢复，而所有 (7/7) 用 GST 处理的小鼠在两天内死亡，再次代表了在两组之间存活率的统计学上显著的差异 (p = 0.0015)（图 17D）。总之我们的结果证明了小鼠中 α PLT-IgG 的致病特性取决于抗体的糖基化状态，并且 EndoS 在离体和体内都强烈地降低了抗血小板 IgG 抗体的致病力。总的来说，在用 EndoS 酶预处理病原抗体时和在疾病过程中早期或晚期施用 EndoS 时，EndoS 对血小板计数和存活率都具有显著的积极影响。据发明人所知，将 IgG 聚糖的体内水解用作自身免疫性疾病的实验性治疗尚属首次。

[0171] 由于发明人先前发现 IgG 的 EndoS 水解抑制所有亚类的 IgG 与 FcR 的结合并且还减少了补体活化，因此 EndoS 的积极影响的机制从理论观点上讲是非常清楚的。尤其令人感兴趣的是 EndoS 不仅抑制 IgG 与 FcR 结合，并且还可通过水解重链聚糖释放已经与 FcR 结合的 IgG。还应注意到的是似乎有一种 IgG-FcR 相互作用没有像其他相互作用那样受到影响；在某些条件下 EndoS 水解的 IgG 比未水解的 IgG 与人类 FcR11b 的确结合得更好（数据未显示）。由于 IgG 与 FcR11b 的相互作用已经显示出对用于治疗自身免疫性疾患的静脉内注射免疫球蛋白 (IVIG) 的抗炎活性来说是重要的，因此在抗炎活性的背景下这可能具有相关性。没有被任何假设束缚，发明人提出 EndoS 在一定条件下可通过直接抑制病原 IgG 与活化的 FcR 的结合和向通过 FcR11b 介导的抑制活性的转变而具有双倍的抗炎活性。

[0172] EndoS 的特性使其成为对涉及病原抗体的疾患的现有治疗的具有吸引力的替代方案，尤其是鉴于几项最近的研究证实 IgG 聚糖为 IgG 效应调节的关键。这包括发明人自己的关于这一聚糖的 EndoS 水解几乎取消了通过经典通路的补体活化并且减低了对白细胞上 Fc 受体的结合的发现。基于发明人的观察结果，显示 EndoS 可用于治疗其中 IgG 抗体起到病原作用的疾患，包括如本文通过 ITP 示例性说明的自身免疫性疾病和急性的抗体介导的器官同种异体移植物排斥。

[0001]

序列表

<110> 汉莎医药有限公司
<120> 内切糖苷酶 EndoS 用于治疗免疫球蛋白 G 介导的疾病的用途
<130> N99679A SER/GML
<140> PCT/EP2007/010904
<141> 2007-12-12
<150> GB 0624874.4
<151> 2006-12-13
<160> 29
<170> PatentIn 3.0 版

<210> 1
<211> 959
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 1

Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Gly Leu Pro Ser Ile Asp Ser
1 5 10 15
Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe Lys Glu Glu Leu
20 25 30
Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val Lys Glu Ile Leu Ala Lys
35 40 45
Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala Lys Met Lys Ile
50 55 60
Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Pro Leu Tyr Gly Gly
65 70 75 80
Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95
Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val Asp Leu Ala Phe
100 105 110
Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe Trp Lys Glu Leu
115 120 125
Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly Thr Arg Val Ile
130 135 140
Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp Asn Ser Gly Ile
145 150 155 160
Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu Gly Asn Lys Ala
165 170 175
Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys Tyr Asn Leu Asp
180 185 190

[0002]

Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro Lys Val Asp Lys
195 200 205
Lys Glu Asp Thr Ala Gly Val Glu Arg Ser Ile Gln Val Phe Glu Glu
210 215 220
Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val Asp Lys Ser Arg Leu Phe
225 230 235 240
Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro Leu Ile Glu Arg
245 250 255
Gly Ala Pro Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Val Gln Val Tyr Gly Ser Gln
260 265 270
Gly Glu Lys Gly Gly Trp Glu Pro Val Ser Asn Arg Pro Glu Lys Thr
275 280 285
Met Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile Arg Pro Glu Gln
290 295 300
Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Ala Gln Glu Gly Asn
305 310 315 320
Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp Lys Ala Asn Gly
325 330 335
Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg Tyr Ala Arg Trp
340 345 350
Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe Ser Tyr Ala Ile
355 360 365
Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Lys Tyr Ala Lys Gln Lys
370 375 380
Glu Phe Lys Asp Ala Thr Asp Asn Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val
385 390 395 400
Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu
405 410 415
Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met
420 425 430
Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr
435 440 445
Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys
450 455 460
Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr
465 470 475 480
Lys Leu Asp Arg Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp
485 490 495
Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu
500 505 510
Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly
515 520 525
Leu Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly
530 535 540

[0003]

Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly
545 550 555 560
Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp
565 570 575
Thr Met Leu Ser Thr Ile Ser Asn His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr
580 585 590
Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr
595 600 605
Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu Lys Val Asp Leu
610 615 620
Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile
625 630 635 640
Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly
645 650 655
Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser
660 665 670
Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr
675 680 685
Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp
690 695 700
Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val
705 710 715 720
Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala
725 730 735
Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Pro Val Asn Ala Arg Lys Val Phe
740 745 750
Asp Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr Asp Asn Ile Ser Leu Gly Trp Asp
755 760 765
Ser Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys Leu Lys Glu Asp Gly Leu Ile Lys
770 775 780
His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Arg Asn Pro Glu Thr Thr Asn
785 790 795 800
Lys Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu Gln Ile Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
805 810 815
Asn Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn Pro Asn Lys Phe Asp Asp Glu Lys
820 825 830
Tyr Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr Ser Ala Gln Gly Glu Arg Ala Thr
835 840 845
Ala Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn Ile Thr Ser Lys Tyr Trp Arg Val
850 855 860
Val Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg Tyr Ser Ser Pro Val Val Pro Glu
865 870 875 880
Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys
885 890 895

[0004]

Thr Val Thr Thr Ala Lys Glu Leu Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser
900 905 910
Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr
915 920 925
Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala
930 935 940
Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
945 950 955

<210> 2
<211> 995
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌
<400> 2

Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val Cys Ala
1 5 10 15
Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser Leu Asn
20 25 30
Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Gly Leu Pro
35 40 45
Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe
50 55 60
Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val Lys Glu
65 70 75 80
Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala
85 90 95
Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Pro
100 105 110
Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro
115 120 125
Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val
130 135 140
Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe
145 150 155 160
Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly
165 170 175
Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp
180 185 190
Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu
195 200 205
Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys
210 215 220

[0005]

Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro
225 230 235 240
Lys Val Asp Lys Lys Glu Asp Thr Ala Gly Val Glu Arg Ser Ile Gln
245 250 255
Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val Asp Lys
260 265 270
Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro
275 280 285
Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Val Gln Val
290 295 300
Tyr Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Gly Trp Glu Pro Val Ser Asn Arg
305 310 315 320
Pro Glu Lys Thr Met Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile
325 330 335
Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Ala
340 345 350
Gln Glu Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp
355 360 365
Lys Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg
370 375 380
Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe
385 390 395 400
Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Lys Tyr
405 410 415
Ala Lys Gln Lys Glu Phe Lys Asp Ala Thr Asp Asn Ile Phe His Ser
420 425 430
Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys
435 440 445
Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg
450 455 460
Glu Ala Val Met Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg
465 470 475 480
Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu
485 490 495
Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu
500 505 510
Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp Arg Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys
515 520 525
Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp
530 535 540
Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser
545 550 555 560
Gly Leu Thr Gly Leu Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu
565 570 575

[0006]

Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val
580 585 590
Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg
595 600 605
Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu Ser Thr Ile Ser Asn His Val Gly Ser
610 615 620
Asn Glu Gln Thr Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr
625 630 635 640
Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu
645 650 655
Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln
660 665 670
Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His
675 680 685
Lys Ile Ala Gly Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn
690 695 700
Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr
705 710 715 720
Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr
725 730 735
Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His
740 745 750
Thr Ala Lys Val Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu
755 760 765
Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Pro Val Asn Ala
770 775 780
Arg Lys Val Phe Asp Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr Asp Asn Ile Ser
785 790 795 800
Leu Gly Trp Asp Ser Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys Leu Lys Glu Asp
805 810 815
Gly Leu Ile Lys His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Arg Asn Pro
820 825 830
Glu Thr Thr Asn Lys Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu Gln Ile Phe Asn
835 840 845
Ile Lys Asp Tyr Asn Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn Pro Asn Lys Phe
850 855 860
Asp Asp Glu Lys Tyr Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr Ser Ala Gln Gly
865 870 875 880
Glu Arg Ala Thr Ala Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn Ile Thr Ser Lys
885 890 895
Tyr Trp Arg Val Val Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg Tyr Ser Ser Pro
900 905 910
Val Val Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp
915 920 925

[0007]

Thr Ile Met Lys Thr Val Thr Thr Ala Lys Glu Leu Ser Gln Gln Lys
930 935 940
Asp Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met
945 950 955 960
Ala Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile
965 970 975
Asn Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu
980 985 990
Leu Lys Lys
995

<210> 3
<211> 3403
<212> DNA
<213> 化脓性链球菌
<400> 3

ctcttttgtc ctgccatgga tggcaggttg gcaaaaaaat gagaaaagcc taaaaacctt 60
aaatttgtgt tattttacct atactttgta ccttgttttt tttaataaag tgttgttata 120
cttaaggcga actataggaa tgcgcttaca tggatggtat atcaactggg aagccatgac 180
ttagtaccaa aaataaggag tgtccaaatg gataaaacatt tgttggtaaa aagaacacta 240
gggtgtgttt gtgctgcaac gttgatggga gctgccttag cgacccacca tgattcactc 300
aatactgtaa aagcggagga gaagactgtt caggttcaga aaggattacc ttctatcgat 360
agcttgcatt atctgtcaga gaatagcaaa aaagaattta aagaagaact ctcaaaagcg 420
gggcaagaat ctcaaaaggt caaagagata ttagcaaaag ctcagcaggc agataaacaa 480
gctcaagaac ttgccaaaat gaaaattcct gagaaaatac cgatgaaacc gttacatggt 540
cctctctacg gtggttactt tagaacttgg catgacaaaa catcagatcc aacagaaaaa 600
gacaaagtta actcgatggg agagcttcct aaagaagtag atctagcctt tattttccac 660
gattggacaa aagattatag cctttttgg aaagaattgg ccaccaaaca tgtgccaaag 720
ttaaacaagc aagggacacg tgtcattcgt accattccat ggcgtttcct agctgggggt 780
gataacagtg gtattgcaga agataccagt aaatacccaa atacaccaga gggaaataaa 840
gctttagcca aagctattgt tgatgaatat gtttataaat acaaccttga tggcttagat 900
gtggatgttg aacatgatag tattccaaaa gttgacaaaa aagaagatac agcaggcgta 960
gaacgctcta ttcaagtgtt tgaagaaatt gggaaattaa ttggaccaaa aggtgttgat 1020
aaatcgcggt tatttattat ggatagcacc tacatggctg ataaaaaccc attgattgag 1080
cgaggagctc cttatattaa tttattactg gtacaggtct atggttcaca aggagagaaa 1140
ggtggttggg agcctgtttc taatcgacct gaaaaaacaa tggaagaacg atggcaaggt 1200
tatagcaagt atattcgtcc tgaacaatac atgattggtt tttctttcta tgaggaaaat 1260
gctcaagaag ggaatctttg gtatgatatt aattctcgca aggacgagga caaagcaaat 1320
ggaattaaca ctgacataac tggaacgcgt gccgaacggt atgcaaggtg gcaacctaag 1380
acaggtgggg ttaagggagg tatcttctcc tacgctattg accgagatgg tgtagctcat 1440
caacctaaaa aatatgctaa acagaaagag tttaaggacg caactgataa catcttccac 1500
tcagattata gtgtctccaa ggcattaaag acagttatgc taaaagataa gtcgtatgat 1560

[0008]

ctgattgatg agaaagattt cccagataag gctttgcgag aagctgtgat ggcgcaggtt 1620
ggaaccagaa aaggtgattt ggaacgtttc aatggcacat tacgattgga taatccagcg 1680
attcaaagtt tagaaggtct aaataaattt aaaaaattag ctcaattaga cttgattggc 1740
ttatctcgca ttacaaagct cgaccgttct gttttacccg ctaatatgaa gccaggcaaa 1800
gataccttgg aaacagttct tgaaacctat aaaaaggata acaaagaaga acctgctact 1860
atcccaccag tatctttgaa ggtttctggt ttaactggtc tgaaagaatt agatttgtca 1920
ggttttgacc gtgaaacctt ggctggtctt gatgccgcta ctctaacgtc tttagaaaaa 1980
gttgatattt ctggcaacaa acttgatttg gctccaggaa cagaaaatcg acaaattttt 2040
gatactatgc tatcaactat cagcaatcat gttggaagca atgaacaaac agtgaaattt 2100
gacaagcaaa aaccaactgg gcattaccca gatacctatg ggaaaactag tctgcgctta 2160
ccagtggcaa atgaaaaagt tgatttgcaa agccagcttt tgtttgggac tgtgacaaat 2220
caaggaaccc taatcaatag cgaagcagac tataaggctt accaaaatca taaaattgct 2280
ggacgtagct ttgttgattc aaactatcat tacaataact ttaaagtttc ttatgagaac 2340
tataccgtta aagtaactga ttccacattg ggaaccacta ctgacaaaac gctagcaact 2400
gataaagaag agacctataa ggttgacttc tttagcccag cagataagac aaaagctgtt 2460
catactgcta aagtgattgt tggtgacgaa aaaaccatga tggttaattt ggcagaaggc 2520
gcaacagtta ttggaggaag tgctgatcct gtaaatgcaa gaaaggtatt tgatgggcaa 2580
ctgggcagtg agactgataa tatctcttta ggatgggatt ctaagcaaag tattatattt 2640
aaattgaaag aagatggatt aataaagcat tggcgtttct tcaatgattc agcccgaaat 2700
cctgagacaa ccaataaacc tattcaggaa gcaagtctac aaatttttaa tatcaaagat 2760
tataatctag ataatttgtt ggaaaatccc aataaatttg atgatgaaaa atattggatt 2820
actgtagata cttacagtgc acaaggagag agagctactg cattcagtaa tacattaaat 2880
aatattacta gtaaatattg gcgagttgtc tttgatacta aaggagatag atatagttcg 2940
ccagtagtcc ctgaactcca aattttaggt tatccgttac ctaacgccga cactatcatg 3000
aaaacagtaa ctactgctaa agagttatct caacaaaaag ataagttttc tcaaaagatg 3060
cttgatgagt taaaaataaa agagatggct ttagaaactt ctttgaacag taagattttt 3120
gatgtaactg ctattaatgc taatgctgga gttttgaaag attgtattga gaaaaggcag 3180
ctgctaaaaa aataaacaaa gtaactttct tagatagcaa cattcagatt aaattaacaa 3240
aatgtgacta tgataaaggt ttgctggaat tgattaacca aaagactaaa aatctgagat 3300
gaatagtccc agatttttag tcttttatag gttttgatga cataaagcta aataatcgtt 3360
agactaccag aaagggcgct tgtccgtgag acatggctgt ctt 3403

<210> 4
<211> 995
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 4

Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val Cys Ala
1 5 10 15
Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser Leu Asn
20 25 30

[0009]

Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Gly Leu Pro
35 40 45
Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe
50 55 60
Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val Lys Glu
65 70 75 80
Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala
85 90 95
Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Pro
100 105 110
Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro
115 120 125
Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val
130 135 140
Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe
145 150 155 160
Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly
165 170 175
Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp
180 185 190
Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu
195 200 205
Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys
210 215 220
Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro
225 230 235 240
Lys Val Asp Lys Lys Glu Asp Thr Ala Gly Val Glu Arg Ser Ile Gln
245 250 255
Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val Asp Lys
260 265 270
Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro
275 280 285
Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Val Gln Val
290 295 300
Tyr Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Gly Trp Glu Pro Val Ser Asn Arg
305 310 315 320
Pro Glu Lys Thr Met Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile
325 330 335
Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Ala
340 345 350
Gln Glu Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp
355 360 365
Lys Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg
370 375 380

[0010]

Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe
385 390 395 400
Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Lys Tyr
405 410 415
Ala Lys Gln Lys Glu Phe Lys Asp Ala Thr Asp Asn Ile Phe His Ser
420 425 430
Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys
435 440 445
Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg
450 455 460
Glu Ala Val Met Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg
465 470 475 480
Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu
485 490 495
Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu
500 505 510
Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp Arg Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys
515 520 525
Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp
530 535 540
Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser
545 550 555 560
Gly Leu Thr Gly Leu Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu
565 570 575
Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val
580 585 590
Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg
595 600 605
Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu Ser Thr Ile Ser Asn His Val Gly Ser
610 615 620
Asn Glu Gln Thr Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr
625 630 635 640
Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu
645 650 655
Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln
660 665 670
Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His
675 680 685
Lys Ile Ala Gly Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn
690 695 700
Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr
705 710 715 720
Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr
725 730 735

[0011]

Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His
740 745 750
Thr Ala Lys Val Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu
755 760 765
Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Pro Val Asn Ala
770 775 780
Arg Lys Val Phe Asp Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr Asp Asn Ile Ser
785 790 795 800
Leu Gly Trp Asp Ser Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys Leu Lys Glu Asp
805 810 815
Gly Leu Ile Lys His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Arg Asn Pro
820 825 830
Glu Thr Thr Asn Lys Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu Gln Ile Phe Asn
835 840 845
Ile Lys Asp Tyr Asn Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn Pro Asn Lys Phe
850 855 860
Asp Asp Glu Lys Tyr Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr Ser Ala Gln Gly
865 870 875 880
Glu Arg Ala Thr Ala Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn Ile Thr Ser Lys
885 890 895
Tyr Trp Arg Val Val Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg Tyr Ser Ser Pro
900 905 910
Val Val Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp
915 920 925
Thr Ile Met Lys Thr Val Thr Thr Ala Lys Glu Leu Ser Gln Gln Lys
930 935 940
Asp Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met
945 950 955 960
Ala Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile
965 970 975
Asn Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu
980 985 990
Leu Lys Lys
995

<210> 5
<211> 995
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<220>
<221> misc_feature
<222> (27)..(27)

[0012]

<223> Xaa 可以是 Arg、His、 Pro 或 Leu

<400> 5

Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val Cys Ala
1 5 10 15
Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr Xaa His Asp Ser Leu Asn
20 25 30
Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Gly Leu Pro
35 40 45
Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe
50 55 60
Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val Lys Glu
65 70 75 80
Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala
85 90 95
Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Ser
100 105 110
Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro
115 120 125
Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val
130 135 140
Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe
145 150 155 160
Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly
165 170 175
Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp
180 185 190
Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu
195 200 205
Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys
210 215 220
Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro
225 230 235 240
Lys Val Asp Lys Lys Glu Asp Thr Ala Gly Val Glu Arg Ser Ile Gln
245 250 255
Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val Asp Lys
260 265 270
Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro
275 280 285
Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Val Gln Val
290 295 300
Tyr Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Gly Trp Glu Pro Val Ser Asn Arg
305 310 315 320

[0013]

Pro Glu Lys Thr Met Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile
325 330 335
Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Ala
340 345 350
Gln Glu Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp
355 360 365
Lys Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg
370 375 380
Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe
385 390 395 400
Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Lys Tyr
405 410 415
Ala Lys Gln Lys Glu Phe Lys Asp Ala Thr Asp Asn Ile Phe His Ser
420 425 430
Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys
435 440 445
Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg
450 455 460
Glu Ala Val Met Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg
465 470 475 480
Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu
485 490 495
Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu
500 505 510
Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp Arg Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys
515 520 525
Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp
530 535 540
Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser
545 550 555 560
Gly Leu Thr Gly Leu Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu
565 570 575
Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val
580 585 590
Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg
595 600 605
Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu Ser Thr Ile Ser Asn His Val Gly Ser
610 615 620
Asn Glu Gln Thr Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr
625 630 635 640
Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu
645 650 655
Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln
660 665 670

[0014]

Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His
675 680 685
Lys Ile Ala Gly Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn
690 695 700
Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr
705 710 715 720
Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr
725 730 735
Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His
740 745 750
Thr Ala Lys Val Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu
755 760 765
Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Pro Val Asn Ala
770 775 780
Arg Lys Val Phe Asp Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr Asp Asn Ile Ser
785 790 795 800
Leu Gly Trp Asp Ser Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys Leu Lys Glu Asp
805 810 815
Gly Leu Ile Lys His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Arg Asn Pro
820 825 830
Glu Thr Thr Asn Lys Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu Gln Ile Phe Asn
835 840 845
Ile Lys Asp Tyr Asn Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn Pro Asn Lys Phe
850 855 860
Asp Asp Glu Lys Tyr Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr Ser Ala Gln Gly
865 870 875 880
Glu Arg Ala Thr Ala Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn Ile Thr Ser Lys
885 890 895
Tyr Trp Arg Val Val Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg Tyr Ser Ser Pro
900 905 910
Val Val Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp
915 920 925
Thr Ile Met Lys Thr Val Thr Thr Ala Lys Glu Leu Ser Gln Gln Lys
930 935 940
Asp Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met
945 950 955 960
Ala Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile
965 970 975
Asn Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu
980 985 990
Leu Lys Lys
995

[0015]

<210> 6
<211> 999
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 6

Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val Cys Ala
1 5 10 15
Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser Leu Asn
20 25 30
Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Glu Leu Pro
35 40 45
Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe
50 55 60
Lys Glu Glu Leu Ser Lys Glu Lys Val Pro Glu Lys Val Lys Glu Ile
65 70 75 80
Leu Glu Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala Lys
85 90 95
Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Pro Leu
100 105 110
Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro Thr
115 120 125
Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val Asp
130 135 140
Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe Trp
145 150 155 160
Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly Thr
165 170 175
Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp Asn
180 185 190
Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu Gly
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys Tyr
210 215 220
Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro Lys
225 230 235 240
Val Asn Gly Lys Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser Ile Asp Val
245 250 255
Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Ala Asp Lys Ser
260 265 270
Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro Leu
275 280 285

[0016]

Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val Gln Val Tyr
290 295 300
Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Val Phe Gln Asn Asp Thr Lys Leu Val
305 310 315 320
Thr Asp Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile Arg
325 330 335
Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Arg Ala Gly
340 345 350
Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp Lys
355 360 365
Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg Tyr
370 375 380
Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe Ser
385 390 395 400
Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Glu Lys Val Ala
405 410 415
Gln Gln Asp Lys His Ser Gln Thr Gln Val Asp Glu Ile Thr Asp Asn
420 425 430
Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met
435 440 445
Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp
450 455 460
Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly
465 470 475 480
Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile
485 490 495
Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp
500 505 510
Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp Gln Ser Val Leu Pro
515 520 525
Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr
530 535 540
Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser
545 550 555 560
Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu Lys Ala Leu Asp Leu Ser Gly
565 570 575
Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser
580 585 590
Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly
595 600 605
Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu Ser Thr Val Ser Asn
610 615 620
His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro
625 630 635 640

[0017]

Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro
645 650 655
Val Ala Asn Glu Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr
660 665 670
Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala
675 680 685
Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr
690 695 700
His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val
705 710 715 720
Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp
725 730 735
Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr
740 745 750
Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met
755 760 765
Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp
770 775 780
Pro Val Asn Ala Arg Lys Val Phe Asp Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr
785 790 795 800
Asp Asn Ile Ser Leu Gly Trp Asp Ser Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys
805 810 815
Leu Lys Glu Asp Gly Leu Ile Lys His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser
820 825 830
Ala Arg Asn Pro Glu Thr Thr Asn Lys Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu
835 840 845
Gln Ile Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Asn Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn
850 855 860
Pro Asn Lys Phe Asp Asp Glu Lys Tyr Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr
865 870 875 880
Ser Ala Gln Gly Glu Arg Ala Thr Ala Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn
885 890 895
Ile Thr Ser Lys Tyr Trp Arg Val Val Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg
900 905 910
Tyr Ser Ser Pro Val Val Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu
915 920 925
Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys Thr Val Thr Thr Ala Lys Gly Leu
930 935 940
Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys
945 950 955 960
Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp
965 970 975
Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu
980 985 990

[0018]

Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
995

<210> 7
<211> 995
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 7

Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val Cys Ala
1 5 10 15
Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser Leu Asn
20 25 30
Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Gly Leu Pro
35 40 45
Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe
50 55 60
Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val Lys Glu
65 70 75 80
Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala
85 90 95
Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Pro
100 105 110
Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro
115 120 125
Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val
130 135 140
Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe
145 150 155 160
Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly
165 170 175
Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp
180 185 190
Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu
195 200 205
Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys
210 215 220
Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro
225 230 235 240
Lys Val Asp Lys Lys Glu Asp Thr Ala Gly Val Glu Arg Ser Ile Gln
245 250 255
Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val Asp Lys
260 265 270

[0019]

Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro
275 280 285
Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Val Gln Val
290 295 300
Tyr Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Gly Trp Glu Pro Val Ser Asn Arg
305 310 315 320
Pro Glu Lys Thr Met Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile
325 330 335
Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Ala
340 345 350
Gln Glu Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp
355 360 365
Lys Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg
370 375 380
Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe
385 390 395 400
Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Lys Tyr
405 410 415
Ala Lys Gln Lys Glu Phe Lys Asp Ala Thr Asp Asn Ile Phe His Ser
420 425 430
Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys
435 440 445
Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg
450 455 460
Glu Ala Val Met Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg
465 470 475 480
Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu
485 490 495
Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu
500 505 510
Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp Arg Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys
515 520 525
Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp
530 535 540
Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser
545 550 555 560
Gly Leu Thr Gly Leu Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu
565 570 575
Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val
580 585 590
Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg
595 600 605
Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu Ser Thr Ile Ser Asn His Val Gly Ser
610 615 620

[0020]

Asn Glu Gln Thr Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr
625 630 635 640
Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu
645 650 655
Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln
660 665 670
Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His
675 680 685
Lys Ile Ala Gly Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn
690 695 700
Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr
705 710 715 720
Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr
725 730 735
Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His
740 745 750
Thr Ala Lys Val Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu
755 760 765
Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Pro Val Asn Ala
770 775 780
Arg Lys Val Phe Asp Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr Asp Asn Ile Ser
785 790 795 800
Leu Gly Trp Asp Ser Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys Leu Lys Glu Asp
805 810 815
Gly Leu Ile Lys His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Arg Asn Pro
820 825 830
Glu Thr Thr Asn Lys Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu Gln Ile Phe Asn
835 840 845
Ile Lys Asp Tyr Asn Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn Pro Asn Lys Phe
850 855 860
Asp Asp Glu Lys Tyr Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr Ser Ala Gln Gly
865 870 875 880
Glu Arg Ala Thr Ala Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn Ile Thr Ser Lys
885 890 895
Tyr Trp Arg Val Val Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg Tyr Ser Ser Pro
900 905 910
Val Val Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp
915 920 925
Thr Ile Met Lys Thr Val Thr Thr Ala Lys Glu Leu Ser Gln Gln Lys
930 935 940
Asp Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met
945 950 955 960
Ala Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile
965 970 975

[0021]

Asn Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu
980 985 990
Leu Lys Lys
995

<210> 8
<211> 1021
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 8

Met Val Tyr Gln Leu Gly Ser His Asp Leu Val Pro Lys Ile Arg Ser
1 5 10 15
Val Gln Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val
20 25 30
Cys Ala Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser
35 40 45
Leu Asn Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Glu
50 55 60
Leu Ser Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys
65 70 75 80
Glu Phe Lys Glu Glu Leu Ser Lys Glu Lys Val Pro Glu Lys Val Lys
85 90 95
Glu Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu
100 105 110
Thr Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly
115 120 125
Pro Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp
130 135 140
Pro Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu
145 150 155 160
Val Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu
165 170 175
Phe Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln
180 185 190
Gly Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly
195 200 205
Asp Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Ala Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro
210 215 220
Glu Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr
225 230 235 240
Lys Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile
245 250 255

[0022]

Pro Lys Val Asn Gly Glu Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser Ile
260 265 270
Asp Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Ala Asp
275 280 285
Lys Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn
290 295 300
Pro Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val Gln
305 310 315 320
Val Tyr Gly Ala Arg Gly Glu Gln Gly Glu Phe Gln Asn Asp Thr Lys
325 330 335
Leu Val Thr Glu Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr
340 345 350
Ile Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Arg
355 360 365
Ala Gly Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu
370 375 380
Asp Thr Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu
385 390 395 400
Arg Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Ile Lys Gly Gly Ile
405 410 415
Phe Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Gln
420 425 430
Ile Ala Glu Lys Asp Lys Gln Asn Val Lys Asn Asn Gln Pro Gln Ile
435 440 445
Pro Glu Ile Thr Asp Asn Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val Ser Lys
450 455 460
Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile Asp
465 470 475 480
Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met Ala Gln
485 490 495
Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu Arg
500 505 510
Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe Lys
515 520 525
Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr Lys Leu
530 535 540
Asp Arg Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr Leu
545 550 555 560
Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro Ala
565 570 575
Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu Lys
580 585 590
Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu Asp
595 600 605

[0023]

Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn Lys
610 615 620
Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr Met
625 630 635 640
Leu Ser Thr Val Ser Asn His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr Val Lys
645 650 655
Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly Lys
660 665 670
Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Glu Gly Asn Ile Asp Leu Gln Ser
675 680 685
Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn Ser
690 695 700
Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly Arg Ser
705 710 715 720
Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Ser Asn Phe Lys Val Ser Tyr Glu
725 730 735
Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr Asp
740 745 750
Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe Phe
755 760 765
Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Ile His Thr Ala Lys Val Ile Val
770 775 780
Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu Ala Ala Gly Ala Thr Val
785 790 795 800
Ile Gly Gly Ser Ala Asp Lys Glu Met Ser Arg Asn Val Phe Asp Gly
805 810 815
Ser Leu Gly Gly Asp Arg Ser Asn Leu Leu Gly Met Ser Gly Pro Lys
820 825 830
Ser Thr Ile Ile Phe Asn Leu Lys Glu Ser Gly Ile Val Lys His Trp
835 840 845
Arg Phe Phe Asn Asp Arg Ala Arg Ser Pro Gln Asn Pro Ala Glu Asp
850 855 860
Ile Gln Glu Ile Lys Leu Gln Val Phe Asp Ser Glu Lys Tyr Asp Ile
865 870 875 880
Glu Thr Leu Leu Lys Thr Pro Asn Gln Phe Asp Lys Asp Asp Tyr Trp
885 890 895
Ile Thr Val Asp Ser Tyr Lys Ser Lys Ser Glu Thr Val Asn Asn Tyr
900 905 910
Asp Gln Val Leu Lys Met Asn Ser Ala Lys Tyr Trp Arg Val Thr Val
915 920 925
Asp Thr Lys Gly Gly Asn Tyr Ser Trp Pro Ser Leu Pro Glu Leu Gln
930 935 940
Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys Thr Val
945 950 955 960

[0024]

Thr Thr Ala Lys Gly Leu Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln Lys
965 970 975
Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr Ser Leu
980 985 990
Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala Gly Val
995 1000 1005
Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
1010 1015 1020

<210> 9
<211> 999
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 9

Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val Cys Ala
1 5 10 15
Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser Leu Asn
20 25 30
Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Glu Leu Pro
35 40 45
Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe
50 55 60
Lys Glu Glu Leu Ser Lys Glu Lys Val Pro Glu Lys Val Lys Glu Ile
65 70 75 80
Leu Glu Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala Lys
85 90 95
Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Pro Leu
100 105 110
Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro Thr
115 120 125
Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val Asp
130 135 140
Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe Trp
145 150 155 160
Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly Thr
165 170 175
Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp Asn
180 185 190
Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu Gly
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys Tyr
210 215 220

[0025]

Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro Lys
225 230 235 240
Val Asn Gly Lys Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser Ile Asp Val
245 250 255
Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Ala Asp Lys Ser
260 265 270
Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro Leu
275 280 285
Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val Gln Val Tyr
290 295 300
Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Val Phe Gln Asn Asp Thr Lys Leu Val
305 310 315 320
Thr Asp Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile Arg
325 330 335
Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Arg Ala Gly
340 345 350
Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp Lys
355 360 365
Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg Tyr
370 375 380
Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe Ser
385 390 395 400
Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Glu Lys Val Ala
405 410 415
Gln Gln Asp Lys His Ser Gln Thr Gln Val Asp Glu Ile Thr Asp Asn
420 425 430
Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met
435 440 445
Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp
450 455 460
Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly
465 470 475 480
Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile
485 490 495
Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp
500 505 510
Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp Gln Ser Val Leu Pro
515 520 525
Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr
530 535 540
Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser
545 550 555 560
Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu Lys Ala Leu Asp Leu Ser Gly
565 570 575

[0026]

Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser
580 585 590
Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly
595 600 605
Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu Ser Thr Val Ser Asn
610 615 620
His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro
625 630 635 640
Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro
645 650 655
Val Ala Asn Glu Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr
660 665 670
Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala
675 680 685
Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr
690 695 700
His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val
705 710 715 720
Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp
725 730 735
Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr
740 745 750
Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met
755 760 765
Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp
770 775 780
Pro Val Asn Ala Arg Lys Val Phe Asp Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr
785 790 795 800
Asp Asn Ile Ser Leu Gly Trp Asp Ser Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys
805 810 815
Leu Lys Glu Asp Gly Leu Ile Lys His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser
820 825 830
Ala Arg Asn Pro Glu Thr Thr Asn Lys Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu
835 840 845
Gln Ile Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Asn Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn
850 855 860
Pro Asn Lys Phe Asp Asp Glu Lys Tyr Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr
865 870 875 880
Ser Ala Gln Gly Glu Arg Ala Thr Ala Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn
885 890 895
Ile Thr Ser Lys Tyr Trp Arg Val Val Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg
900 905 910
Tyr Ser Ser Pro Val Val Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu
915 920 925

[0027]

Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys Thr Val Thr Thr Ala Lys Gly Leu
930 935 940
Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys
945 950 955 960
Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp
965 970 975
Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu
980 985 990
Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
995

<210> 10
<211> 1022
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 10

Met Val Tyr Gln Leu Gly Ser His Asp Leu Val Pro Lys Ile Arg Ser
1 5 10 15
Val Gln Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val
20 25 30
Cys Ala Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser
35 40 45
Leu Asn Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Glu
50 55 60
Leu Ser Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys
65 70 75 80
Glu Phe Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val
85 90 95
Lys Glu Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu
100 105 110
Leu Ala Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Leu Met Lys Pro Leu His
115 120 125
Gly Pro Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser
130 135 140
Asp Pro Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys
145 150 155 160
Glu Val Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser
165 170 175
Leu Phe Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys
180 185 190
Gln Gly Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly
195 200 205

[0028]

Gly Asp Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr
210 215 220
Pro Glu Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val
225 230 235 240
Tyr Lys Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser
245 250 255
Ile Pro Lys Val Asn Gly Glu Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser
260 265 270
Ile Asp Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val
275 280 285
Asp Lys Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys
290 295 300
Asn Pro Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val
305 310 315 320
Gln Val Tyr Gly Ala Arg Gly Glu Gln Gly Glu Phe Gln Asn Asp Thr
325 330 335
Lys Leu Val Thr Glu Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys
340 345 350
Tyr Ile Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu
355 360 365
Arg Ala Gly Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp
370 375 380
Asp Asp Lys Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala
385 390 395 400
Glu Arg Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly
405 410 415
Ile Phe Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys
420 425 430
Gln Ile Ala Glu Lys Asp Lys Gln Asn Val Lys Asn Asn Gln Pro Gln
435 440 445
Ile Pro Glu Ile Thr Asp Asn Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val Ser
450 455 460
Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile
465 470 475 480
Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met Ala
485 490 495
Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu
500 505 510
Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe
515 520 525
Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu Ser Cys Ile Thr Lys
530 535 540
Leu Asp Gln Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr
545 550 555 560

[0029]

Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro
565 570 575
Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu
580 585 590
Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu
595 600 605
Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn
610 615 620
Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr
625 630 635 640
Met Leu Ser Ile Ile Ser Asn His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr Val
645 650 655
Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly
660 665 670
Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu Lys Val Asp Leu Gln
675 680 685
Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn
690 695 700
Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly Arg
705 710 715 720
Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser Tyr
725 730 735
Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr
740 745 750
Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe
755 760 765
Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val Ile
770 775 780
Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr
785 790 795 800
Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Pro Val Asn Ala Arg Lys Val Phe Asp
805 810 815
Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr Asp Asn Ile Ser Leu Gly Trp Asp Ser
820 825 830
Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys Leu Lys Glu Asp Gly Leu Ile Lys His
835 840 845
Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Arg Asn Pro Glu Thr Thr Asn Lys
850 855 860
Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu Gln Ile Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Asn
865 870 875 880
Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn Pro Asn Lys Phe Asp Asp Glu Lys Tyr
885 890 895
Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr Ser Ala Gln Gly Glu Arg Ala Thr Ala
900 905 910

[0030]

Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn Ile Thr Ser Lys Tyr Trp Arg Val Val
915 920 925
Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg Tyr Ser Ser Pro Val Val Pro Glu Leu
930 935 940
Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys Thr
945 950 955 960
Val Thr Thr Ala Lys Glu Leu Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln
965 970 975
Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr Ser
980 985 990
Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala Gly
995 1000 1005
Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
1010 1015 1020

<210> 11
<211> 990
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 11

Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val Cys Ala
1 5 10 15
Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser Leu Asn
20 25 30
Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Glu Leu Ser
35 40 45
Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe
50 55 60
Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val Lys Glu
65 70 75 80
Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala
85 90 95
Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Pro
100 105 110
Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro
115 120 125
Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val
130 135 140
Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe
145 150 155 160
Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly
165 170 175

[0031]

Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp
180 185 190
Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu
195 200 205
Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys
210 215 220
Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro
225 230 235 240
Lys Val Asn Gly Glu Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser Ile Asp
245 250 255
Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val Asp Lys
260 265 270
Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro
275 280 285
Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val Gln Val
290 295 300
Tyr Gly Ala Arg Gly Glu Gln Gly Glu Phe Gln Asn Asp Thr Lys Leu
305 310 315 320
Val Thr Glu Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile
325 330 335
Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Arg Ala
340 345 350
Gly Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp
355 360 365
Thr Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg
370 375 380
Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Ile Lys Gly Gly Ile Phe
385 390 395 400
Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Gln Ile
405 410 415
Ala Glu Lys Asp Lys Gln Asn Val Lys Asn Asn Gln Pro Gln Ile Pro
420 425 430
Glu Ile Thr Asp Asn Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala
435 440 445
Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu
450 455 460
Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met Ala Gln Val
465 470 475 480
Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu
485 490 495
Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys
500 505 510
Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp
515 520 525

[0032]

Gln Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu
530 535 540
Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr
545 550 555 560
Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu Lys Glu
565 570 575
Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala
580 585 590
Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu
595 600 605
Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu
610 615 620
Ser Thr Ile Asn Asn His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr Val Lys Phe
625 630 635 640
Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr
645 650 655
Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln
660 665 670
Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu
675 680 685
Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly Arg Ser Phe
690 695 700
Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn
705 710 715 720
Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys
725 730 735
Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser
740 745 750
Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val Ile Val Gly
755 760 765
Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile
770 775 780
Lys Ser Glu Asn Asp Glu Asn Ala Lys Lys Val Phe Asn Gly Ile Met
785 790 795 800
Glu Tyr Asn Pro Ile Ser Thr Gln Asn Arg Ala Ser Ile Ile Phe Glu
805 810 815
Met Lys Asp Pro Ser Leu Ala Lys Tyr Trp Arg Leu Phe Asn Asn Ser
820 825 830
Ser Lys Gly Glu Asp Asp Tyr Ile Lys Glu Ala Lys Leu Glu Val Phe
835 840 845
Thr Gly Gln Leu Asn Ala Glu Ala Asp Val Lys Thr Ser Leu Glu Lys
850 855 860
Ser Asp Asp Trp Gln Thr Val Ser Thr Tyr Ser Gly Gln Glu Gln Val
865 870 875 880

[0033]

Phe Ser His Ala Leu Asp Asn Ile Ser Ala Lys Tyr Trp Arg Ile Thr
885 890 895
Val Asp Asn Lys Lys Asn Gln Tyr Gly Tyr Val Ser Leu Pro Glu Leu
900 905 910
Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys Thr
915 920 925
Val Thr Thr Ala Lys Gly Leu Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln
930 935 940
Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr Ser
945 950 955 960
Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala Gly
965 970 975
Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
980 985 990

<210> 12
<211> 1017
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 12

Met Val Tyr Gln Leu Gly Ser His Asp Leu Val Pro Lys Ile Arg Ser
1 5 10 15
Val Gln Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val
20 25 30
Cys Ala Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser
35 40 45
Leu Asn Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Glu
50 55 60
Leu Ser Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys
65 70 75 80
Glu Phe Lys Glu Glu Leu Ser Lys Glu Lys Val Pro Glu Lys Val Lys
85 90 95
Glu Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu
100 105 110
Ala Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Ser
115 120 125
Pro Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp
130 135 140
Pro Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu
145 150 155 160
Val Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu
165 170 175

[0034]

Phe Trp Lys Glu Leu Ala Ile Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln
180 185 190
Gly Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly
195 200 205
Asp Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro
210 215 220
Glu Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr
225 230 235 240
Lys Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile
245 250 255
Pro Lys Val Asn Gly Lys Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser Ile
260 265 270
Asp Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Ala Asp
275 280 285
Lys Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn
290 295 300
Pro Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val Gln
305 310 315 320
Val Tyr Gly Ala Arg Gly Glu Gln Gly Glu Phe Gln Asn Asp Thr Arg
325 330 335
Leu Val Thr Glu Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr
340 345 350
Ile Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Arg
355 360 365
Ala Gly Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu
370 375 380
Asp Lys Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu
385 390 395 400
Arg Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile
405 410 415
Phe Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Glu Lys
420 425 430
Val Ala Gln Gln Asp Lys Arg Ser Gln Thr Gln Val Asp Glu Ile Thr
435 440 445
Asp Asn Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala Leu Lys Thr
450 455 460
Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu Lys Asp Phe
465 470 475 480
Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met Ala Gln Val Gly Thr Arg
485 490 495
Lys Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro
500 505 510
Ala Ile Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys Leu Ala Gln
515 520 525

[0035]

Leu Asp Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp Gln Ser Val
530 535 540
Leu Pro Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu Thr Val Leu
545 550 555 560
Glu Thr Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr Ile Pro Pro
565 570 575
Val Ser Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu Lys Glu Leu Asp Leu
580 585 590
Ser Gly Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala Ala Thr Leu
595 600 605
Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Ala
610 615 620
Pro Gly Thr Gln Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu Ser Thr Val
625 630 635 640
Ser Asn His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr Val Lys Phe Asp Lys Gln
645 650 655
Lys Pro Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr Ser Leu Arg
660 665 670
Leu Pro Val Ala Asn Glu Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln Leu Leu Phe
675 680 685
Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr
690 695 700
Lys Ala Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly Arg Ser Phe Val Asp Ser
705 710 715 720
Asn Tyr His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Val
725 730 735
Lys Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys Thr Leu Ala
740 745 750
Thr Asp Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser Pro Ala Asp
755 760 765
Lys Thr Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val Ile Val Gly Asp Glu Lys
770 775 780
Thr Met Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Ser
785 790 795 800
Ala Asp Pro Val Asn Ala Arg Lys Val Phe Asp Gly Gln Leu Gly Ser
805 810 815
Glu Thr Asp Asn Ile Ser Leu Gly Trp Asp Ser Lys Gln Ser Ile Ile
820 825 830
Phe Lys Leu Lys Glu Asp Gly Leu Ile Lys Tyr Trp Arg Phe Phe Asn
835 840 845
Asp Ser Ala Arg Asn Pro Lys Thr Thr Asn Lys Pro Ile Gln Glu Ala
850 855 860
Ser Leu Gln Ile Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Asn Leu Asp Asn Leu Leu
865 870 875 880

[0036]

Glu Asn Pro Asn Lys Phe Asp Asp Glu Lys Tyr Trp Ile Thr Val Asp
885 890 895
Thr Tyr Ser Ala Gln Gly Glu Arg Ala Thr Ala Phe Ser Asn Thr Leu
900 905 910
Asn Asn Ile Thr Ser Lys Tyr Trp Arg Val Val Phe Asp Thr Lys Gly
915 920 925
Asp Arg Tyr Ser Ser Pro Val Val Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr
930 935 940
Pro Leu Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys Thr Val Thr Thr Ala Lys
945 950 955 960
Gly Leu Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu
965 970 975
Leu Lys Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile
980 985 990
Phe Asp Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys
995 1000 1005
Ile Glu Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
1010 1015

<210> 13
<211> 1013
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 13

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

[0037]

Asp Pro Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys
145 150 155 160
Glu Val Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser
165 170 175
Leu Phe Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys
180 185 190
Gln Gly Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly
195 200 205
Gly Asp Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr
210 215 220
Pro Glu Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val
225 230 235 240
Tyr Lys Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser
245 250 255
Ile Pro Lys Val Asn Gly Glu Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser
260 265 270
Ile Asp Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val
275 280 285
Asp Lys Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys
290 295 300
Asn Pro Leu Ile Glu Arg Gly Ala Ser Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Val
305 310 315 320
Gln Val Tyr Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Val Phe Gln Asn Asp Thr
325 330 335
Lys Leu Val Thr Asp Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys
340 345 350
Tyr Ile Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu
355 360 365
Asn Ala Gln Glu Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp
370 375 380
Glu Asp Thr Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala
385 390 395 400
Glu Arg Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Ala Lys Gly Gly
405 410 415
Ile Phe Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys
420 425 430
Lys Tyr Ala Lys Gln Lys Glu Phe Lys Asp Ala Thr Asp Asn Ile Phe
435 440 445
His Ser Asp Tyr Ser Val Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys
450 455 460
Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala
465 470 475 480
Leu Arg Glu Ala Val Met Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu
485 490 495

[0038]

Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser
500 505 510
Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile
515 520 525
Gly Leu Ser Arg Ile Thr Lys Leu Asp Gln Ser Val Leu Pro Ala Asn
530 535 540
Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys
545 550 555 560
Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys
565 570 575
Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp
580 585 590
Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu
595 600 605
Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu
610 615 620
Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr Met Leu Ser Thr Val Ser Asn His Val
625 630 635 640
Gly Ser Asn Lys Gln Thr Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly
645 650 655
His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala
660 665 670
Asn Glu Lys Val Asp Leu Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr
675 680 685
Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln
690 695 700
Asn Gln Gln Ile Ala Gly Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr
705 710 715 720
Asn Asn Phe Lys Val Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp
725 730 735
Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu
740 745 750
Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala
755 760 765
Val His Thr Ala Lys Val Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val
770 775 780
Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Lys Glu
785 790 795 800
Met Ser Arg Asn Val Phe Asp Gly Ser Leu Gly Gly Asp Arg Ser Asn
805 810 815
Leu Leu Gly Met Ser Gly Pro Lys Ser Thr Ile Ile Phe Asn Leu Lys
820 825 830
Glu Ser Gly Ile Val Lys His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Arg Ala Arg
835 840 845

[0039]

Ser Pro Gln Asn Pro Ala Glu Asp Ile Gln Glu Ile Lys Leu Gln Val
850 855 860
Phe Asp Ser Glu Lys Tyr Asp Ile Glu Thr Leu Leu Lys Thr Pro Asn
865 870 875 880
Gln Phe Asp Lys Asp Asp Tyr Trp Ile Thr Val Asp Ser Tyr Lys Ser
885 890 895
Lys Ser Glu Thr Val Asn Asn Tyr Asp Gln Val Leu Lys Met Asn Ser
900 905 910
Ala Lys Tyr Trp Arg Val Thr Val Asp Thr Lys Gly Gly Asn Tyr Ser
915 920 925
Trp Pro Ser Leu Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn
930 935 940
Ala Asp Thr Ile Met Lys Thr Val Thr Ile Ala Lys Gly Leu Ser Gln
945 950 955 960
Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys
965 970 975
Glu Met Ala Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr
980 985 990
Ala Ile Asn Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg
995 1000 1005
Gln Leu Leu Lys Lys
1010

<210> 14
<211> 975
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 14

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

[0040]

Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro
115 120 125
Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val
130 135 140
Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe
145 150 155 160
Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly
165 170 175
Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp
180 185 190
Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Ala Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu
195 200 205
Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys
210 215 220
Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro
225 230 235 240
Lys Val Asn Gly Glu Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser Ile Asp
245 250 255
Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Thr Asp Lys
260 265 270
Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro
275 280 285
Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Val Gln Val
290 295 300
Tyr Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Gly Trp Glu Pro Val Ser Asn Arg
305 310 315 320
Pro Glu Lys Thr Met Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile
325 330 335
Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Arg Ala
340 345 350
Gly Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Val Glu Asp Glu Ser Asn
355 360 365
Pro Asn Ile Gly Lys Glu Ile Lys Gly Thr Arg Ala Glu Arg Tyr Ala
370 375 380
Lys Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe Ser Tyr
385 390 395 400
Ala Val Asp Arg Asp Gly Val Ala His Pro Lys Lys Asn Gly Tyr Lys
405 410 415
Asn Pro Lys Leu Asp Asn Ile Val Thr Ser Asp Tyr Ser Val Ser Lys
420 425 430
Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile Asp
435 440 445
Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met Ala Gln
450 455 460

[0041]

Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu Arg
465 470 475 480
Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe Lys
485 490 495
Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr Lys Leu
500 505 510
Asp Gln Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr Leu
515 520 525
Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro Ala
530 535 540
Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu Lys
545 550 555 560
Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu Asp
565 570 575
Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn Lys
580 585 590
Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr Met
595 600 605
Leu Ser Thr Val Ser Asn His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr Val Lys
610 615 620
Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly Lys
625 630 635 640
Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu Lys Val Asp Leu Gln Ser
645 650 655
Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn Ser
660 665 670
Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly Arg Ser
675 680 685
Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser Tyr Glu
690 695 700
Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr Asp
705 710 715 720
Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe Phe
725 730 735
Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val Ile Val
740 745 750
Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr Val
755 760 765
Ile Lys Ser Glu Asn Asp Glu Asn Ala Lys Lys Val Phe Asn Gly Ile
770 775 780
Met Glu Tyr Asn Pro Ile Ser Thr Gln Asn Arg Ala Ser Ile Ile Phe
785 790 795 800
Glu Ile Lys Asp Pro Ser Leu Ala Lys Tyr Trp Arg Leu Phe Asn Asp
805 810 815

[0042]

Ser Ser Lys Asp Lys Lys Asp Tyr Ile Lys Glu Ala Lys Leu Glu Val
820 825 830
Phe Thr Gly Gln Leu Asn Ala Glu Ala Asp Val Lys Thr Ser Leu Glu
835 840 845
Lys Ser Asp Asp Trp Gln Thr Val Ser Thr Tyr Ser Gly Gln Glu Gln
850 855 860
Val Phe Ser His Ala Leu Asp Asn Ile Ser Ala Lys Tyr Trp Arg Ile
865 870 875 880
Thr Val Asp Thr Lys Gly Gly Asn Tyr Ser Trp Pro Ser Leu Pro Glu
885 890 895
Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys
900 905 910
Thr Val Thr Thr Ala Lys Gly Leu Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser
915 920 925
Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr
930 935 940
Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala
945 950 955 960
Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
965 970 975

<210> 15
<211> 1022
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 15

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

[0043]

Gly Pro Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser
130 135 140
Asp Pro Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys
145 150 155 160
Glu Val Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser
165 170 175
Leu Phe Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys
180 185 190
Gln Gly Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly
195 200 205
Gly Asp Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr
210 215 220
Pro Glu Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val
225 230 235 240
Tyr Lys Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser
245 250 255
Ile Pro Lys Val Asn Gly Glu Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser
260 265 270
Ile Asp Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Ala
275 280 285
Asp Lys Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys
290 295 300
Asn Pro Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val
305 310 315 320
Gln Val Tyr Gly Ala Arg Gly Glu Gln Gly Glu Phe Gln Asn Asp Thr
325 330 335
Lys Leu Val Thr Asp Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys
340 345 350
Tyr Ile Arg Pro Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu
355 360 365
Arg Ala Gly Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp
370 375 380
Glu Asp Lys Ala Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala
385 390 395 400
Glu Arg Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly
405 410 415
Ile Phe Ser Tyr Ala Val Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys
420 425 430
Gln Ile Ala Glu Lys Asp Lys Gln Asn Val Lys Asn Asn Gln Pro Gln
435 440 445
Ile Pro Glu Ile Thr Asp Asn Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val Ser
450 455 460
Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ile
465 470 475 480

[0044]

Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met Ala
485 490 495
Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Ile Leu
500 505 510
Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Phe
515 520 525
Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr Lys
530 535 540
Leu Asp Gln Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp Thr
545 550 555 560
Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu Pro
565 570 575
Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly Leu
580 585 590
Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly Leu
595 600 605
Asp Val Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly Asn
610 615 620
Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp Thr
625 630 635 640
Met Leu Ser Thr Val Ser Asn His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr Val
645 650 655
Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly
660 665 670
Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Gly Lys Val Asp Leu Gln
675 680 685
Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn
690 695 700
Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn Gln Gln Ile Ala Gly Arg
705 710 715 720
Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser Tyr
725 730 735
Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr Thr
740 745 750
Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp Phe
755 760 765
Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val Ile
770 775 780
Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr
785 790 795 800
Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Pro Val Asn Ala Arg Lys Val Phe Asp
805 810 815
Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr Asp Asn Ile Ser Leu Gly Trp Asp Ser
820 825 830

[0045]

Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys Leu Lys Glu Asp Gly Leu Ile Lys Tyr
835 840 845
Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Arg Asn Pro Lys Thr Thr Asn Lys
850 855 860
Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu Gln Ile Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Asn
865 870 875 880
Leu Asp Asn Leu Leu Glu Asn Pro Asn Lys Phe Asp Asp Glu Lys Tyr
885 890 895
Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr Ser Ala Gln Gly Glu Arg Ala Thr Ala
900 905 910
Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn Ile Thr Ser Lys Tyr Trp Arg Val Val
915 920 925
Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg Tyr Ser Ser Pro Val Val Pro Glu Leu
930 935 940
Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp Thr Ile Met Lys Thr
945 950 955 960
Val Thr Ile Ala Lys Gly Leu Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln
965 970 975
Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met Ala Leu Glu Thr Ser
980 985 990
Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile Asn Ala Asn Ala Gly
995 1000 1005
Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu Leu Lys Lys
1010 1015 1020

<210> 16
<211> 764
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 16

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

[0046]

Arg Gly Val Asp Gly Leu Asp Ile Asp Ile Glu His Glu Phe Thr Asn
100 105 110
Lys Arg Thr Pro Glu Glu Asp Ala Arg Ala Leu Asn Val Phe Lys Glu
115 120 125
Ile Ala Gln Leu Ile Gly Lys Asn Gly Ser Asp Lys Ser Lys Leu Leu
130 135 140
Ile Met Asp Thr Thr Leu Ser Val Glu Asn Asn Pro Ile Phe Lys Gly
145 150 155 160
Ile Ala Glu Asp Leu Asp Tyr Leu Leu Arg Gln Tyr Tyr Gly Ser Gln
165 170 175
Gly Gly Glu Ala Glu Val Asp Thr Ile Asn Ser Asp Trp Asn Gln Tyr
180 185 190
Gln Asn Tyr Ile Asp Ala Ser Gln Phe Met Ile Gly Phe Ser Phe Phe
195 200 205
Glu Glu Ser Ala Ser Lys Gly Asn Leu Trp Phe Asp Val Asn Glu Tyr
210 215 220
Asp Pro Asn Asn Pro Glu Lys Gly Lys Asp Ile Glu Gly Thr Arg Ala
225 230 235 240
Lys Lys Tyr Ala Glu Trp Gln Pro Ser Thr Gly Gly Leu Lys Ala Gly
245 250 255
Ile Phe Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Val Pro Ser
260 265 270
Thr Tyr Lys Asn Arg Thr Ser Thr Asn Leu Gln Arg His Glu Val Asp
275 280 285
Asn Ile Ser His Thr Asp Tyr Thr Val Ser Arg Lys Leu Lys Thr Leu
290 295 300
Met Thr Glu Asp Lys Arg Tyr Asp Val Ile Asp Gln Lys Asp Ile Pro
305 310 315 320
Asp Pro Ala Leu Arg Glu Gln Ile Ile Gln Gln Val Gly Gln Tyr Lys
325 330 335
Gly Asp Leu Glu Arg Tyr Asn Lys Thr Leu Val Leu Thr Gly Asp Lys
340 345 350
Ile Gln Asn Leu Lys Gly Leu Glu Lys Leu Ser Lys Leu Gln Lys Leu
355 360 365
Glu Leu Arg Gln Leu Ser Asn Val Lys Glu Ile Thr Pro Glu Leu Leu
370 375 380
Pro Glu Ser Met Lys Lys Asp Ala Glu Leu Val Met Val Gly Met Thr
385 390 395 400
Gly Leu Glu Lys Leu Asn Leu Ser Gly Leu Asn Arg Gln Thr Leu Asp
405 410 415
Gly Ile Asp Val Asn Ser Ile Thr His Leu Thr Ser Phe Asp Ile Ser
420 425 430
His Asn Ser Leu Asp Leu Ser Glu Lys Ser Glu Asp Arg Lys Leu Leu
435 440 445

[0047]

Met Thr Leu Met Glu Gln Val Ser Asn His Gln Lys Ile Thr Val Lys
450 455 460
Asn Thr Ala Phe Glu Asn Gln Lys Pro Lys Gly Tyr Tyr Pro Gln Thr
465 470 475 480
Tyr Asp Thr Lys Glu Gly His Tyr Asp Val Asp Asn Ala Glu His Asp
485 490 495
Ile Leu Thr Asp Phe Val Phe Gly Thr Val Thr Lys Arg Asn Thr Phe
500 505 510
Ile Gly Asp Glu Glu Ala Phe Ala Ile Tyr Lys Glu Gly Ala Val Asp
515 520 525
Gly Arg Gln Tyr Val Ser Lys Asp Tyr Thr Tyr Glu Ala Phe Arg Lys
530 535 540
Asp Tyr Lys Gly Tyr Lys Val His Leu Thr Ala Ser Asn Leu Gly Glu
545 550 555 560
Thr Val Thr Ser Lys Val Thr Ala Thr Thr Asp Glu Thr Tyr Leu Val
565 570 575
Asp Val Ser Asp Gly Glu Lys Val Val His His Met Lys Leu Asn Ile
580 585 590
Gly Ser Gly Ala Ile Met Met Glu Asn Leu Ala Lys Gly Ala Lys Val
595 600 605
Ile Gly Thr Ser Gly Asp Phe Glu Gln Ala Lys Lys Ile Phe Asp Gly
610 615 620
Glu Lys Ser Asp Arg Phe Phe Thr Trp Gly Gln Thr Asn Trp Ile Ala
625 630 635 640
Phe Asp Leu Gly Glu Ile Asn Leu Ala Lys Glu Trp Arg Leu Phe Asn
645 650 655
Ala Glu Thr Asn Thr Glu Ile Lys Thr Asp Ser Ser Leu Asn Val Ala
660 665 670
Lys Gly Arg Leu Gln Ile Leu Lys Asp Thr Thr Ile Asp Leu Glu Lys
675 680 685
Met Asp Ile Lys Asn Arg Lys Glu Tyr Leu Ser Asn Asp Glu Asn Trp
690 695 700
Thr Asp Val Ala Gln Met Asp Asp Ala Lys Ala Ile Phe Asn Ser Lys
705 710 715 720
Leu Ser Asn Val Leu Ser Arg Tyr Trp Arg Phe Cys Val Asp Gly Gly
725 730 735
Ala Ser Ser Tyr Tyr Pro Gln Tyr Thr Glu Leu Gln Ile Leu Gly Gln
740 745 750
Arg Leu Ser Asn Asp Val Ala Asn Thr Leu Lys Asp
755 760

<210> 17
<211> 1018

[0048]

<212> PRT
<213> 马链球菌

<400> 17

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

[0049]

Tyr Gly Thr Gln Gly Glu Lys Gly Asp Trp Asp Pro Val Ala Arg Lys
305 310 315 320
Pro Glu Lys Thr Met Glu Glu Arg Trp Glu Ser Tyr Ser Lys Tyr Ile
325 330 335
Arg Pro Glu Gln Tyr Met Val Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Ala
340 345 350
Gly Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Glu Arg Lys Asp Asp His
355 360 365
Asn Pro Leu Asn Ser Glu Ile Ala Gly Thr Arg Ala Glu Arg Tyr Ala
370 375 380
Lys Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe Ser Tyr
385 390 395 400
Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Lys Val Ser Asp
405 410 415
Asp Glu Lys Arg Thr Asn Lys Ala Ile Lys Asp Ile Thr Asp Gly Ile
420 425 430
Val Lys Ser Asp Tyr Lys Val Ser Lys Ala Leu Lys Lys Val Met Glu
435 440 445
Asn Asp Lys Ser Tyr Glu Leu Ile Asp Gln Lys Asp Phe Pro Asp Lys
450 455 460
Ala Leu Arg Glu Ala Val Ile Ala Gln Val Gly Ser Arg Arg Gly Asp
465 470 475 480
Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Asp Ile Lys
485 490 495
Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys Leu Lys Lys Leu Ala Lys Leu Glu Leu
500 505 510
Ile Gly Leu Ser Gln Ile Thr Lys Leu Asp Ser Leu Val Leu Pro Ala
515 520 525
Asn Ala Lys Pro Thr Lys Asp Thr Leu Ala Asn Val Leu Glu Ala Tyr
530 535 540
Asp Ser Ala Lys Lys Glu Glu Thr Lys Ala Ile Pro Gln Val Ala Leu
545 550 555 560
Thr Ile Ser Gly Leu Thr Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu Ala Gly Phe
565 570 575
Asp Arg Asp Ser Leu Ala Gly Ile Asp Ala Ala Ser Leu Thr Ser Leu
580 585 590
Glu Lys Val Asp Leu Ser Ser Asn Lys Leu Asp Leu Ala Ala Gly Thr
595 600 605
Glu Asn Arg Gln Ile Leu Asp Thr Met Leu Ala Thr Val Thr Lys His
610 615 620
Gly Gly Val Ser Glu Lys Thr Phe Val Phe Asp His Gln Lys Pro Thr
625 630 635 640
Gly Leu Tyr Pro Asp Thr Tyr Gly Thr Lys Ser Leu Gln Leu Pro Val
645 650 655

[0050]

Ala Asn Asp Thr Ile Asp Leu Gln Ala Lys Leu Leu Phe Gly Thr Val
660 665 670
Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr
675 680 685
Gln Glu Gln Glu Ile Ala Gly His Arg Phe Val Asp Ser Ser Tyr Asp
690 695 700
Tyr Lys Ala Phe Ala Val Thr Tyr Lys Asp Tyr Lys Ile Lys Val Thr
705 710 715 720
Asp Ser Thr Leu Gly Val Thr Asp His Lys Asp Leu Ser Thr Ser Lys
725 730 735
Glu Glu Thr Tyr Lys Val Glu Phe Phe Ser Pro Thr Asn Ser Thr Lys
740 745 750
Pro Val His Glu Ala Lys Val Val Val Gly Ala Glu Lys Thr Met Met
755 760 765
Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala Thr Val Ile Gly Gly Asp Ala Asp Pro
770 775 780
Thr Asn Ala Lys Lys Val Phe Asp Gly Leu Leu Asn Asn Asp Thr Thr
785 790 795 800
Ile Leu Ser Thr Ser Asn Lys Ala Ser Ile Ile Phe Glu Leu Lys Glu
805 810 815
Pro Gly Leu Val Lys Tyr Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Lys Ile Ser
820 825 830
Lys Ala Asp Cys Ile Lys Glu Ala Lys Leu Glu Ala Phe Val Gly His
835 840 845
Leu Glu Ala Gly Ser Lys Val Lys Asp Ser Leu Glu Lys Ser Ser Lys
850 855 860
Trp Val Thr Val Ser Asp Tyr Ser Gly Glu Asp Gln Glu Phe Ser Gln
865 870 875 880
Pro Leu Asn Asn Ile Gly Ala Lys Tyr Trp Arg Ile Thr Val Asp Thr
885 890 895
Lys Gly Gly Arg Tyr Asn Trp Pro Ser Leu Pro Glu Leu Gln Ile Ile
900 905 910
Gly Tyr Gln Leu Pro Ala Ala Asp Leu Val Met Ala Met Leu Ala Thr
915 920 925
Ala Glu Glu Leu Ser Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln Glu Gln Leu
930 935 940
Lys Glu Leu Glu Val Lys Ile Ala Ala Leu Lys Ala Ala Leu Asp Ser
945 950 955 960
Lys Met Phe Asn Ala Asp Ala Ile Asn Ala Ser Thr Ala Asp Leu Lys
965 970 975
Ala Tyr Val Asp Lys Leu Leu Ala Asp Arg Thr Asp Gln Glu Lys Val
980 985 990
Ala Lys Ala Ala Lys Val Glu Gln Pro Val Ala Thr Asp Ile Lys Glu
995 1000 1005

[0051]

Asn Thr Glu Pro Glu Asn Pro Lys Thr Asp
1010 1015

<210> 18
<211> 1013
<212> PRT
<213> 兽疫链球菌

<400> 18

Met Glu Lys Gln Val Leu Val Lys Lys Thr Leu Lys Cys Val Cys Ala
1 5 10 15
Ala Ala Leu Met Val Ala Ile Leu Ala Ala Gln His Asp Ser Leu Val
20 25 30
Thr Val Arg Ala Glu Asp Lys Val Val Gln Thr Ser Pro Ser Val Ser
35 40 45
Ala Ile Asp Asp Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe
50 55 60
Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ala Gly Glu Val Pro Glu Lys Leu Lys Glu
65 70 75 80
Ile Leu Ser Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Lys Thr Leu Ala
85 90 95
Glu Met Lys Val Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu Lys Gly Pro
100 105 110
Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro
115 120 125
Ala Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val
130 135 140
Asp Leu Ala Phe Val Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe
145 150 155 160
Trp Gln Lys Leu Ala Thr Lys His Ile Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly
165 170 175
Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp
180 185 190
His Ser Gly Ile Ala Glu Asp Ala Gln Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu
195 200 205
Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys
210 215 220
Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Ile Glu Arg Asp Ser Ile Pro
225 230 235 240
Lys Val Asn Lys Glu Glu Ser Lys Glu Gly Ile Glu Arg Ser Ile Gln
245 250 255
Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Ala Asp Arg
260 265 270

[0052]

Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro
275 280 285
Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val Gln Val
290 295 300
Tyr Gly Ala Gln Gly Glu Arg Gly Glu Trp Asp Pro Val Ala Arg Lys
305 310 315 320
Pro Glu Lys Thr Met Glu Glu Arg Trp Glu Ser Tyr Ser Lys Tyr Ile
325 330 335
Arg Pro Glu Gln Tyr Met Val Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Ala
340 345 350
Gly Ser Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Glu Arg Lys Asp Asp His
355 360 365
Asn Pro Leu His Ser Glu Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg Tyr Ala
370 375 380
Lys Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe Ser Tyr
385 390 395 400
Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Glu Lys Tyr Ala Lys
405 410 415
Arg Lys Asp Phe Lys Asp Val Thr Asp Lys Ile Phe His Ser Asp Tyr
420 425 430
Lys Val Ser Lys Ala Leu Lys Glu Val Met Val Lys Asp Lys Ser Tyr
435 440 445
Glu Gln Ile Asp Glu Thr Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala
450 455 460
Val Ile Ala Gln Val Gly Ser Arg Arg Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn
465 470 475 480
Gly Thr Leu Arg Leu Asp Asn Pro Asp Ile Lys Ser Leu Glu Gly Leu
485 490 495
Asn Lys Leu Lys Lys Leu Ala Lys Leu Glu Leu Val Gly Leu Ser Gln
500 505 510
Ile Thr Lys Leu Asp Gln Ser Val Leu Pro Glu Asn Ile Lys Pro Thr
515 520 525
Lys Asp Thr Leu Val Ser Val Leu Glu Ala Tyr Lys Lys Asp Asp Gln
530 535 540
Glu Ala Ala Lys Ala Ile Pro Gln Val Ala Leu Thr Ile Ser Gly Leu
545 550 555 560
Thr Gly Leu Lys Glu Leu Asn Leu Ala Gly Phe Glu Arg Glu Thr Leu
565 570 575
Ala Gly Ile Asp Ala Ala Ser Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Leu
580 585 590
Ser Ser Asn Lys Leu Asp Leu Ala Ala Gly Thr Asp Asn Arg Gln Ile
595 600 605
Leu Asp Thr Met Leu Ala Thr Val Thr Lys His Gly Lys Ala Asn Ala
610 615 620

[0053]

Asp Asn Met Thr Phe Asp His Gln Lys Pro Thr Gly Leu Tyr Pro Asp
625 630 635 640
Thr Tyr Gly Thr Lys Ser Leu Gln Leu Pro Val Ala Asn Asp Thr Ile
645 650 655
Asp Leu Gln Ala Lys Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr
660 665 670
Leu Ile Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Glu Gln Glu Ile
675 680 685
Ala Gly Arg Arg Phe Val Asp Pro Ser Tyr Asp Tyr Lys Ala Phe Ala
690 695 700
Val Thr Tyr Asp Ala Tyr Lys Val Arg Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly
705 710 715 720
Val Thr Asp Glu Lys Lys Leu Ser Thr Ser Lys Glu Glu Thr Tyr Lys
725 730 735
Ile Glu Phe Phe Ser Pro Thr Asn Ser Thr Lys Pro Val His Glu Ala
740 745 750
Lys Val Val Val Gly Glu Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu Ala Glu
755 760 765
Gly Ala Thr Ile Ile Gly Gly Ser Ala Asp Gln Thr Asn Ala Lys Lys
770 775 780
Val Phe Asp Gly Leu Leu Asn Asn Asp Thr Thr Thr Leu Ser Thr Ser
785 790 795 800
Asn Lys Ala Ser Ile Ile Phe Glu Leu Lys Glu Ser Gly Leu Val Lys
805 810 815
His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Lys Lys Lys Glu Asp Tyr Ile
820 825 830
Lys Glu Ala Lys Leu Glu Ala Phe Val Gly His Leu Glu Asp Ser Ser
835 840 845
Lys Val Lys Asp Ser Leu Glu Lys Ser Thr Glu Trp Val Thr Val Ser
850 855 860
Asp Tyr Ser Gly Glu Ala Gln Glu Phe Ser Gln Pro Leu Asn Asn Val
865 870 875 880
Gly Ala Lys Tyr Trp Arg Ile Thr Ile Asp Asn Lys Lys Ser Gln Tyr
885 890 895
Gly Tyr Val Ser Leu Pro Glu Leu Gln Leu Ile Gly Tyr Gln Leu Pro
900 905 910
Ala Ala Tyr Pro Val Met Ala Thr Leu Ala Ala Ala Glu Glu Leu Ser
915 920 925
Gln Gln Lys Asp Lys Phe Ser Gln Lys Gln Leu Lys Glu Leu Glu Val
930 935 940
Lys Val Ala Ala Leu Lys Ala Ala Leu Asp Asn Lys Met Phe Asn Ala
945 950 955 960
Asp Thr Ile Asn Ala Ser Phe Ala Asp Val Lys Ala Tyr Val Asp Lys
965 970 975

[0054]

Leu Leu Ala Asp Ala Ala Gly Lys Lys Thr Pro Gly Lys Ala Thr Lys
980 985 990
Glu Ala Gln Leu Val Thr Thr Asp Ala Lys Glu Lys Ala Glu Ser Glu
995 1000 1005
Lys Ser Lys Ala Asp
1010

<210> 19
<211> 1042
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> EndoS 同系物的共有氨基酸序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(18)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc feature
<222> (432)..(435)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc feature
<222> (849)..(850)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (869)..(870)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1011)..(1042)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<400> 19

[0055]

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15
Xaa Xaa Met Asp Lys His Leu Leu Val Lys Arg Thr Leu Gly Cys Val
20 25 30
Cys Ala Ala Thr Leu Met Gly Ala Ala Leu Ala Thr His His Asp Ser
35 40 45
Leu Asn Thr Val Lys Ala Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Glu
50 55 60
Leu Ser Ser Ile Asp Ser Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys
65 70 75 80
Glu Phe Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val
85 90 95
Lys Glu Ile Leu Ala Lys Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu
100 105 110
Leu Ala Lys Met Lys Ile Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His
115 120 125
Gly Pro Leu Tyr Gly Gly Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser
130 135 140
Asp Pro Thr Glu Lys Asp Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys
145 150 155 160
Glu Val Asp Leu Ala Phe Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser
165 170 175
Leu Phe Trp Lys Glu Leu Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys
180 185 190
Gln Gly Thr Arg Val Ile Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly
195 200 205
Gly Asp Asn Ser Gly Ile Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr
210 215 220
Pro Glu Gly Asn Lys Ala Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val
225 230 235 240
Tyr Lys Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser
245 250 255
Ile Pro Lys Val Asn Gly Glu Ala Ser Asp Glu Asn Leu Lys Arg Ser
260 265 270
Ile Asp Val Phe Glu Glu Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Asp
275 280 285
Lys Ser Arg Leu Phe Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn
290 295 300
Pro Leu Ile Glu Arg Gly Ala Pro Tyr Ile Asp Leu Leu Leu Val Gln
305 310 315 320
Val Tyr Gly Ser Gln Gly Glu Lys Gly Phe Gln Asn Asp Thr Leu Val
325 330 335
Thr Thr Pro Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile Arg Pro
340 345 350

[0056]

Glu Gln Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Arg Ala Gly Ser
355 360 365
Gly Asn Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp Lys Ala
370 375 380
Asn Gly Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg Tyr Ala
385 390 395 400
Arg Trp Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe Ser Tyr
405 410 415
Ala Ile Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Lys Ala Lys Xaa
420 425 430
Xaa Xaa Xaa Gln Ile Thr Asp Asn Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val
435 440 445
Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Leu
450 455 460
Ile Asp Glu Lys Asp Phe Pro Asp Lys Ala Leu Arg Glu Ala Val Met
465 470 475 480
Ala Gln Val Gly Thr Arg Lys Gly Asp Leu Glu Arg Phe Asn Gly Thr
485 490 495
Leu Arg Leu Asp Asn Pro Ala Ile Gln Ser Leu Glu Gly Leu Asn Lys
500 505 510
Phe Lys Lys Leu Ala Gln Leu Asp Leu Ile Gly Leu Ser Arg Ile Thr
515 520 525
Lys Leu Asp Gln Ser Val Leu Pro Ala Asn Met Lys Pro Gly Lys Asp
530 535 540
Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Thr Tyr Lys Lys Asp Asn Lys Glu Glu
545 550 555 560
Pro Ala Thr Ile Pro Pro Val Ser Leu Lys Val Ser Gly Leu Thr Gly
565 570 575
Leu Lys Glu Leu Asp Leu Ser Gly Phe Asp Arg Glu Thr Leu Ala Gly
580 585 590
Leu Asp Ala Ala Thr Leu Thr Ser Leu Glu Lys Val Asp Ile Ser Gly
595 600 605
Asn Lys Leu Asp Leu Ala Pro Gly Thr Glu Asn Arg Gln Ile Phe Asp
610 615 620
Thr Met Leu Ser Thr Val Ser Asn His Val Gly Ser Asn Glu Gln Thr
625 630 635 640
Val Lys Phe Asp Lys Gln Lys Pro Thr Gly His Tyr Pro Asp Thr Tyr
645 650 655
Gly Lys Thr Ser Leu Arg Leu Pro Val Ala Asn Glu Lys Val Asp Leu
660 665 670
Gln Ser Gln Leu Leu Phe Gly Thr Val Thr Asn Gln Gly Thr Leu Ile
675 680 685
Asn Ser Glu Ala Asp Tyr Lys Ala Tyr Gln Asn His Lys Ile Ala Gly
690 695 700

[0057]

Arg Ser Phe Val Asp Ser Asn Tyr His Tyr Asn Asn Phe Lys Val Ser
705 710 715 720
Tyr Glu Asn Tyr Thr Val Lys Val Thr Asp Ser Thr Leu Gly Thr Thr
725 730 735
Thr Asp Lys Thr Leu Ala Thr Asp Lys Glu Glu Thr Tyr Lys Val Asp
740 745 750
Phe Phe Ser Pro Ala Asp Lys Thr Lys Ala Val His Thr Ala Lys Val
755 760 765
Ile Val Gly Asp Glu Lys Thr Met Met Val Asn Leu Ala Glu Gly Ala
770 775 780
Thr Val Ile Gly Gly Ser Ala Asp Pro Val Asn Ala Arg Lys Val Phe
785 790 795 800
Asp Gly Gln Leu Gly Ser Glu Thr Asp Asn Ile Ser Leu Gly Trp Asp
805 810 815
Ser Lys Gln Ser Ile Ile Phe Lys Leu Lys Glu Asp Gly Leu Ile Lys
820 825 830
His Trp Arg Phe Phe Asn Asp Ser Ala Arg Asn Pro Thr Thr Asn Lys
835 840 845
Xaa Xaa Pro Ile Gln Glu Ala Ser Leu Gln Ile Phe Asn Ile Lys Asp
850 855 860
Tyr Asn Leu Asp Xaa Xaa Asn Leu Leu Glu Asn Pro Asn Lys Phe Asp
865 870 875 880
Asp Glu Lys Tyr Trp Ile Thr Val Asp Thr Tyr Ser Ala Gln Gly Glu
885 890 895
Arg Ala Thr Ala Phe Ser Asn Thr Leu Asn Asn Ile Thr Ser Lys Tyr
900 905 910
Trp Arg Val Val Phe Asp Thr Lys Gly Asp Arg Tyr Ser Ser Pro Val
915 920 925
Val Pro Glu Leu Gln Ile Leu Gly Tyr Pro Leu Pro Asn Ala Asp Thr
930 935 940
Ile Met Lys Thr Val Thr Thr Ala Lys Gly Leu Ser Gln Gln Lys Asp
945 950 955 960
Lys Phe Ser Gln Lys Met Leu Asp Glu Leu Lys Ile Lys Glu Met Ala
965 970 975
Leu Glu Thr Ser Leu Asn Ser Lys Ile Phe Asp Val Thr Ala Ile Asn
980 985 990
Ala Asn Ala Gly Val Leu Lys Asp Cys Ile Glu Lys Arg Gln Leu Leu
995 1000 1005
Lys Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1010 1015 1020
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1025 1030 1035
Xaa Xaa Xaa Xaa
1040

[0058]

<210> 20
<211> 409
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 20

Glu Glu Lys Thr Val Gln Val Gln Lys Gly Leu Pro Ser Ile Asp Ser
1 5 10 15
Leu His Tyr Leu Ser Glu Asn Ser Lys Lys Glu Phe Lys Glu Glu Leu
20 25 30
Ser Lys Ala Gly Gln Glu Ser Gln Lys Val Lys Glu Ile Leu Ala Lys
35 40 45
Ala Gln Gln Ala Asp Lys Gln Ala Gln Glu Leu Ala Lys Met Lys Ile
50 55 60
Pro Glu Lys Ile Pro Met Lys Pro Leu His Gly Pro Leu Tyr Gly Gly
65 70 75 80
Tyr Phe Arg Thr Trp His Asp Lys Thr Ser Asp Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95
Lys Val Asn Ser Met Gly Glu Leu Pro Lys Glu Val Asp Leu Ala Phe
100 105 110
Ile Phe His Asp Trp Thr Lys Asp Tyr Ser Leu Phe Trp Lys Glu Leu
115 120 125
Ala Thr Lys His Val Pro Lys Leu Asn Lys Gln Gly Thr Arg Val Ile
130 135 140
Arg Thr Ile Pro Trp Arg Phe Leu Ala Gly Gly Asp Asn Ser Gly Ile
145 150 155 160
Ala Glu Asp Thr Ser Lys Tyr Pro Asn Thr Pro Glu Gly Asn Lys Ala
165 170 175
Leu Ala Lys Ala Ile Val Asp Glu Tyr Val Tyr Lys Tyr Asn Leu Asp
180 185 190
Gly Leu Asp Val Asp Val Glu His Asp Ser Ile Pro Lys Val Asp Lys
195 200 205
Lys Glu Asp Thr Ala Gly Val Glu Arg Ser Ile Gln Val Phe Glu Glu
210 215 220
Ile Gly Lys Leu Ile Gly Pro Lys Gly Val Asp Lys Ser Arg Leu Phe
225 230 235 240
Ile Met Asp Ser Thr Tyr Met Ala Asp Lys Asn Pro Leu Ile Glu Arg
245 250 255
Gly Ala Pro Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Val Gln Val Tyr Gly Ser Gln
260 265 270
Gly Glu Lys Gly Gly Trp Glu Pro Val Ser Asn Arg Pro Glu Lys Thr
275 280 285

[0059]

Met Glu Glu Arg Trp Gln Gly Tyr Ser Lys Tyr Ile Arg Pro Glu Gln
290 295 300
Tyr Met Ile Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Ala Gln Glu Gly Asn
305 310 315 320
Leu Trp Tyr Asp Ile Asn Ser Arg Lys Asp Glu Asp Lys Ala Asn Gly
325 330 335
Ile Asn Thr Asp Ile Thr Gly Thr Arg Ala Glu Arg Tyr Ala Arg Trp
340 345 350
Gln Pro Lys Thr Gly Gly Val Lys Gly Gly Ile Phe Ser Tyr Ala Ile
355 360 365
Asp Arg Asp Gly Val Ala His Gln Pro Lys Lys Tyr Ala Lys Gln Lys
370 375 380
Glu Phe Lys Asp Ala Thr Asp Asn Ile Phe His Ser Asp Tyr Ser Val
385 390 395 400
Ser Lys Ala Leu Lys Thr Val Met Leu
405

<210> 21
<211> 335
<212> PRT
<213> Elizabethkingia meningoseptica

<400> 21

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

[0060]

Gly Tyr Ser Ser Trp Ala Lys Gly Ile Tyr Asp Lys Trp Val Gly Glu
145 150 155 160
Tyr Asn Leu Asp Gly Ile Asp Ile Asp Ile Glu Ser Ser Pro Ser Gly
165 170 175
Ala Thr Leu Thr Lys Phe Val Ala Ala Thr Lys Ala Leu Ser Lys Tyr
180 185 190
Phe Gly Pro Lys Ser Gly Thr Gly Lys Thr Phe Val Tyr Asp Thr Asn
195 200 205
Gln Asn Pro Thr Asn Phe Phe Ile Gln Thr Ala Pro Arg Tyr Asn Tyr
210 215 220
Val Phe Leu Gln Ala Tyr Gly Arg Ser Thr Thr Asn Leu Thr Thr Val
225 230 235 240
Ser Gly Leu Tyr Ala Pro Tyr Ile Ser Met Lys Gln Phe Leu Pro Gly
245 250 255
Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Gly Tyr Pro Gly Asn Tyr Trp Asn Asp
260 265 270
Val Arg Tyr Pro Gln Asn Gly Thr Gly Arg Ala Tyr Asp Tyr Ala Arg
275 280 285
Trp Gln Pro Ala Thr Gly Lys Lys Gly Gly Val Phe Ser Tyr Ala Ile
290 295 300
Glu Arg Asp Ala Pro Leu Thr Ser Ser Asn Asp Asn Thr Leu Arg Ala
305 310 315 320
Pro Asn Phe Arg Val Thr Lys Asp Leu Ile Lys Ile Met Asn Pro
325 330 335

<210> 22
<211> 379
<212> PRT
<213> 假结核棒状杆菌

<400> 22

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

[0061]

His Val Asn Met Val Ser Leu Phe His Val Glu Asp Asn Gln Lys Ser
100 105 110
Asp Gln Gln Phe Trp Glu Thr Phe His Arg Glu Tyr Gln Pro Glu Leu
115 120 125
Lys Lys Arg Gly Thr Arg Val Val Arg Thr Val Gly Ala Gln Leu Leu
130 135 140
Leu Asn Lys Ile Lys Asp Lys Asn Leu Tyr Gly Lys His Val Glu Asp
145 150 155 160
Asp Tyr Lys Tyr Arg Glu Ile Ala Arg Asp Val Tyr Asn Glu Tyr Val
165 170 175
Val Lys His Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Met Glu Leu Arg Gln
180 185 190
Val Glu Lys Gln Leu Asn Leu Lys Trp Gln Leu Arg Lys Ile Met Gly
195 200 205
Ala Phe Ser Glu Leu Met Gly Pro Lys Ala Pro Ala Asn Glu Gly Lys
210 215 220
Lys Pro Asp His Glu Gly Tyr Lys Tyr Leu Ile Tyr Asp Thr Phe Asp
225 230 235 240
Asn Ala Gln Thr Ser Gln Val Gly Leu Val Ala Asp Leu Val Asp Tyr
245 250 255
Val Leu Ala Gln Thr Tyr Lys Lys Asp Thr Lys Glu Ser Val Thr Gln
260 265 270
Val Trp Asn Gly Phe Arg Asp Lys Ile Asn Ser Cys Gln Phe Met Ala
275 280 285
Gly Tyr Ala His Pro Glu Glu Asn Asp Thr Asn Arg Phe Leu Thr Ala
290 295 300
Val Gly Glu Val Asn Lys Ser Gly Ala Met Gln Val Ala Glu Trp Lys
305 310 315 320
Pro Glu Gly Gly Glu Lys Gly Gly Thr Phe Ala Tyr Ala Leu Asp Arg
325 330 335
Asp Gly Arg Thr Tyr Asp Gly Asp Asp Phe Thr Thr Leu Lys Pro Thr
340 345 350
Asp Phe Ala Phe Thr Lys Arg Ala Ile Glu Leu Thr Thr Gly Glu Ser
355 360 365
Ser Thr Asp Leu Gly Lys Pro Thr Gly Ser Arg
370 375

<210> 23
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> EndoS α/EndoF2/CP40 的共有氨基酸序列

[0062]

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(19)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(21)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(24)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc feature
<222> (45)..(49)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc feature
<222> (63)..(64)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (83)..(85)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (92)..(92)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (117)..(121)

[0063]

<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (130)..(130)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (133)..(140)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (150)..(150)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (160)..(171)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (196)..(196)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (198)..(199)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (202)..(206)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (209)..(209)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature

[0064]

<222> (220)..(220)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (234)..(235)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (246)..(249)
<223> Xaa 可是任何天然存在的氨基酸

<400> 23

Xaa Lys Thr Val Ser Leu Leu Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15
Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Gln Xaa Xaa Ser Lys Ala Ala Lys Ile Lys Pro
20 25 30
Ile Gly Tyr Tyr Arg Thr Trp Arg Asp Lys Ala Asp Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45
Xaa Ser Met Leu Pro Val Asp Met Val Phe His Asp Thr Ser Xaa Xaa
50 55 60
Phe Trp Thr Leu Thr Tyr Val Pro Leu Lys Arg Gly Thr Arg Val Ile
65 70 75 80
Arg Thr Xaa Xaa Xaa Gly Leu Asn Ser Thr Gly Xaa Gly Tyr Ala Lys
85 90 95
Ile Tyr Asp Glu Tyr Val Lys Tyr Asn Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp
100 105 110
Glu Ser Pro Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Ala Ser Lys Leu Gly Pro
115 120 125
Lys Xaa Gly Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Ile Tyr Asp
130 135 140
Thr Asn Ala Thr Asn Xaa Ala Pro Asn Tyr Val Leu Gln Tyr Gly Xaa
145 150 155 160
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Thr Val Trp Gly
165 170 175
Tyr Tyr Ile Gln Phe Met Gly Phe Ser Phe Tyr Glu Glu Asn Gly Asn
180 185 190
Trp Asp Val Xaa Arg Xaa Xaa Asn Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Gly
195 200 205
Xaa Arg Ala Tyr Ala Arg Trp Gln Pro Thr Gly Xaa Lys Gly Gly Phe
210 215 220

[0065]

Ser Tyr Ala Ile Asp Arg Asp Gly Pro Xaa Xaa Asp Asn Thr Arg Ala
225 230 235 240
Val Lys Leu Met Pro Xaa Xaa Xaa Xaa
245

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 24

Leu Asp Gly Leu Asp Val Asp Val Glu
1 5

<210> 25
<211> 10
<212> PRT
<213> 化脓性链球菌

<400> 25

Lys Thr Val Met Leu Lys Asp Lys Ser Tyr
1 5 10

<210> 26
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> ndoS 正向引物

<400> 26
actgggatcc cggaggagaa gact 24

<210> 27
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工的

[0066]

<220>
<223> ndoS 反向引物

<400> 27
ttaatctcga ggttgctatc taag 24

<210> 28
<211> 12
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 28

Gly Glu Arg Gly Ala Ala Gly Ile Ala Gly Pro Lys
1 5 10

<210> 29
<211> 5
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 29

Ala Arg Gly Leu Thr
1 5

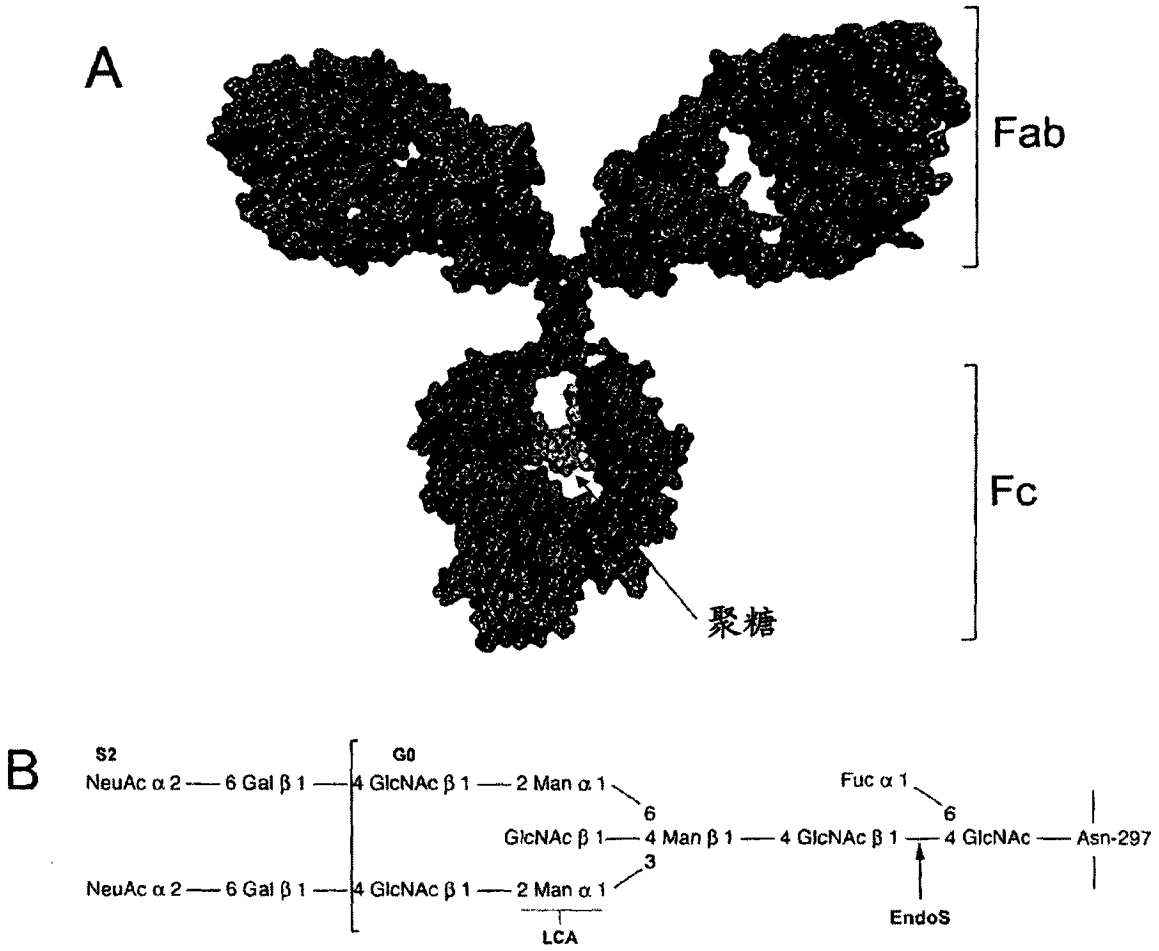

A
Fab
Fc
聚糖
B
S2
G0
NeuAc α 2 — 6 Gal β 1 — 4 GlcNAc β 1 — 2 Man α 1
6
GlcNAc β 1 — 4 Man β 1 — 4 GlcNAc β 1 — 4 GlcNAc — Asn-297
3
NeuAc α 2 — 6 Gal β 1 — 4 GlcNAc β 1 — 2 Man α 1
Fuc α 1
6
EndoS
LCA

图 1

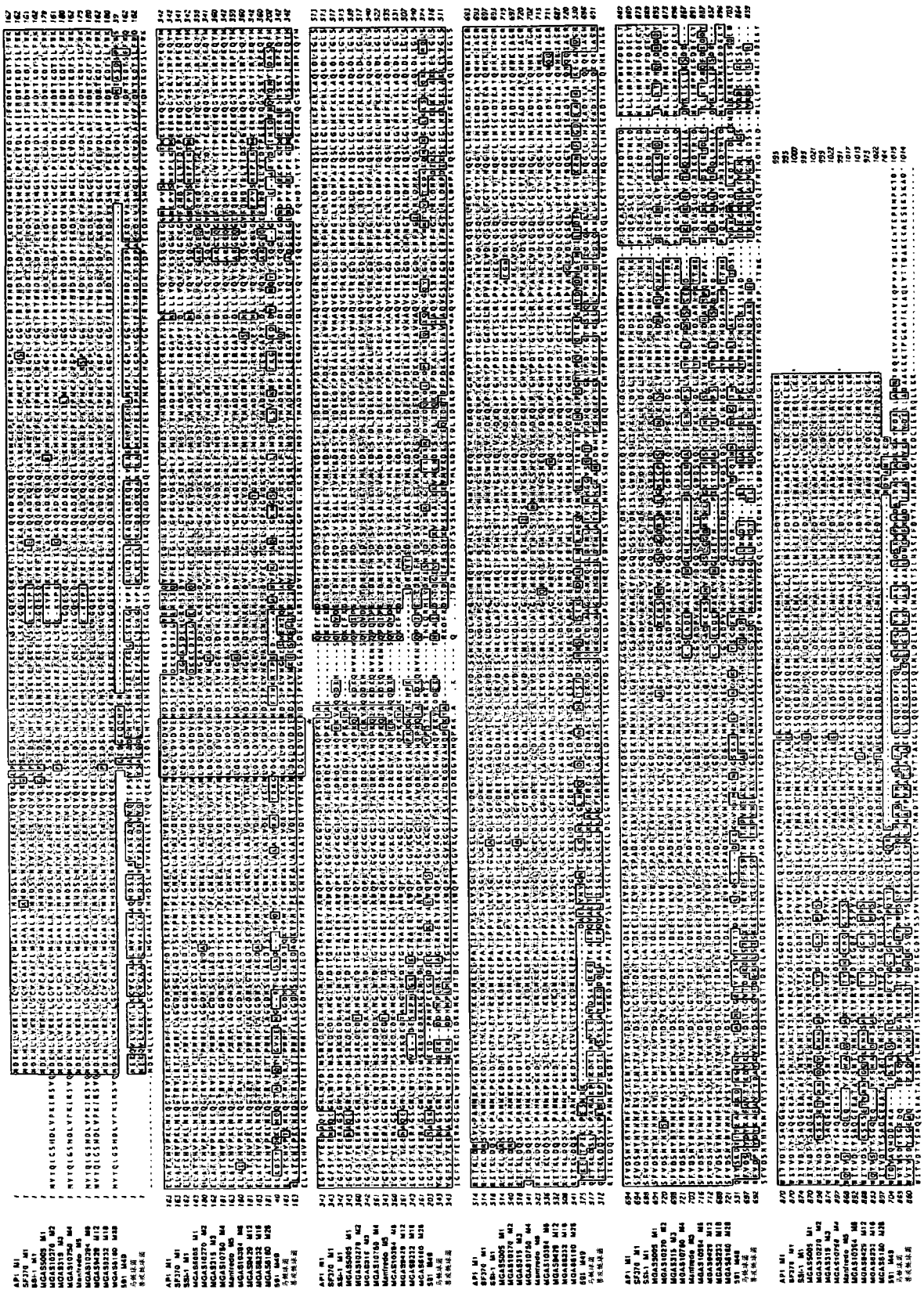


图 2

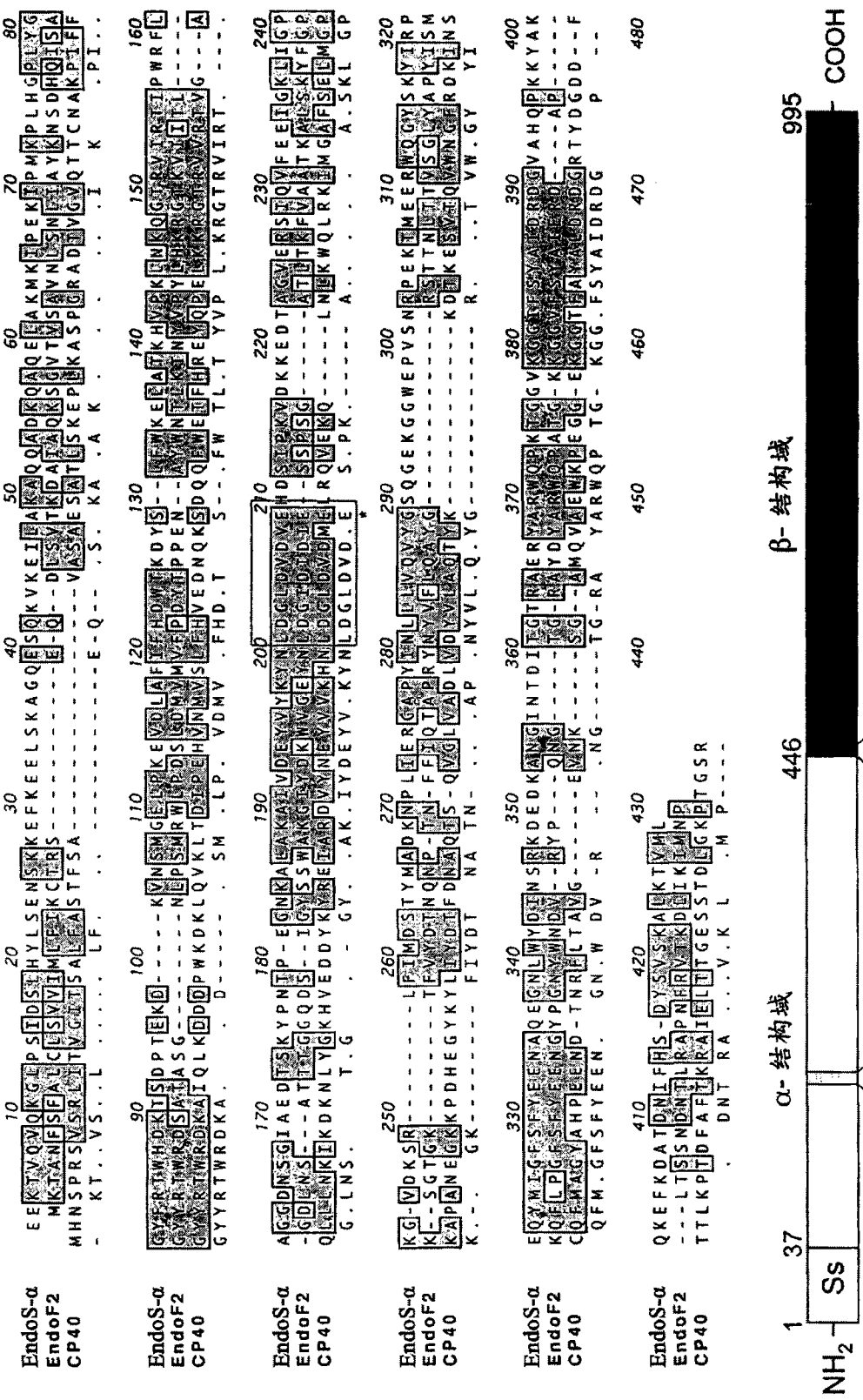

EndoS-α
EndoF2
CP40
1
37
Ss
α- 结构域
446
β- 结构域
995
COOH
NH2
227 LDGLDVDVE 235
几丁质酶家族18基序
441 KTVML KDKSY 450
SpeB 切割位点

图 3

图 4

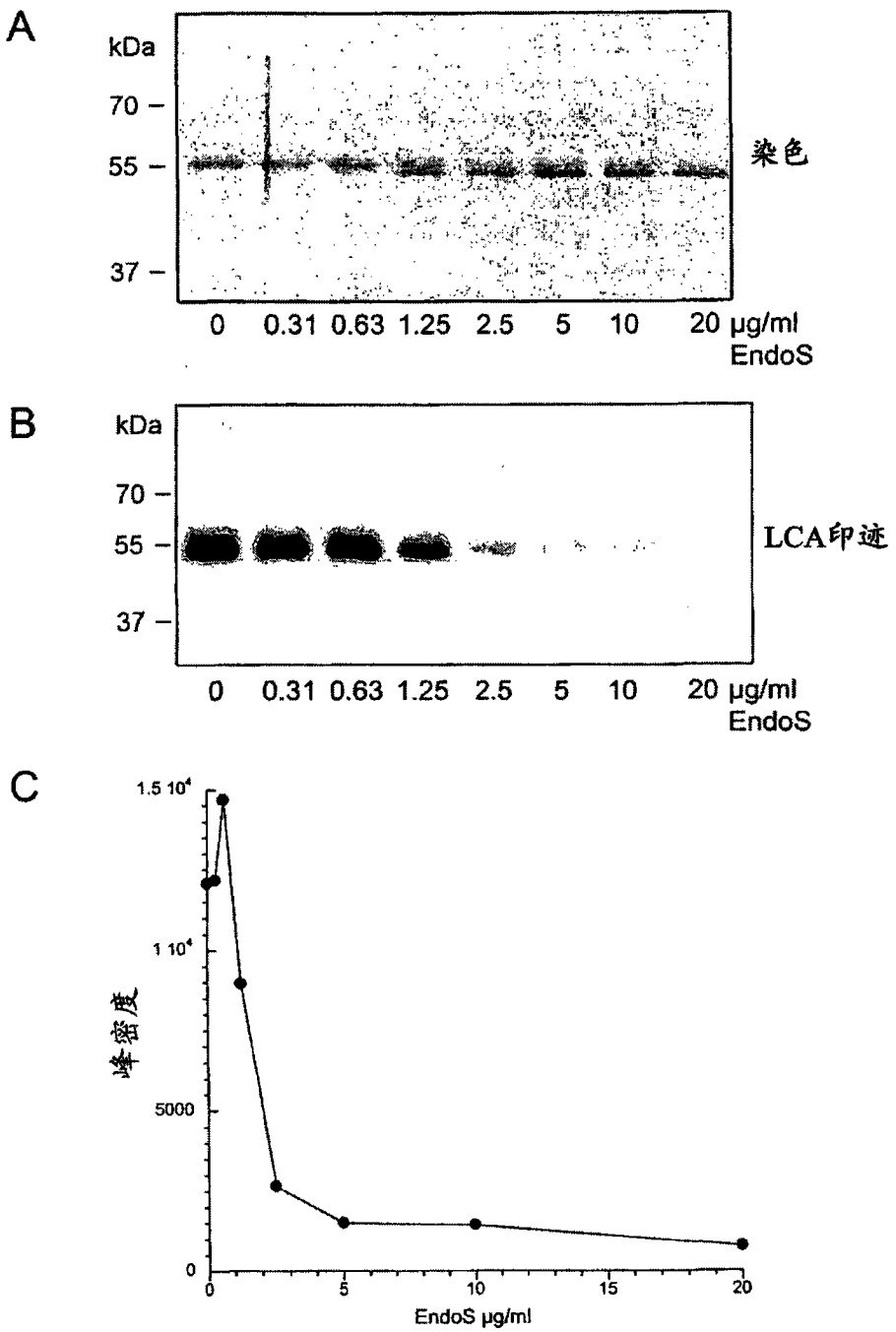

A
kDa
70
55
37
染色
0 0.31 0.63 1.25 2.5 5 10 20 μg/ml
EndoS
B
kDa
70
55
37
LCA印迹
0 0.31 0.63 1.25 2.5 5 10 20 μg/ml
EndoS
C
1.5 10⁴
1 10⁴
5000
0
峰密度
0 5 10 15 20
EndoS μg/ml

图 5

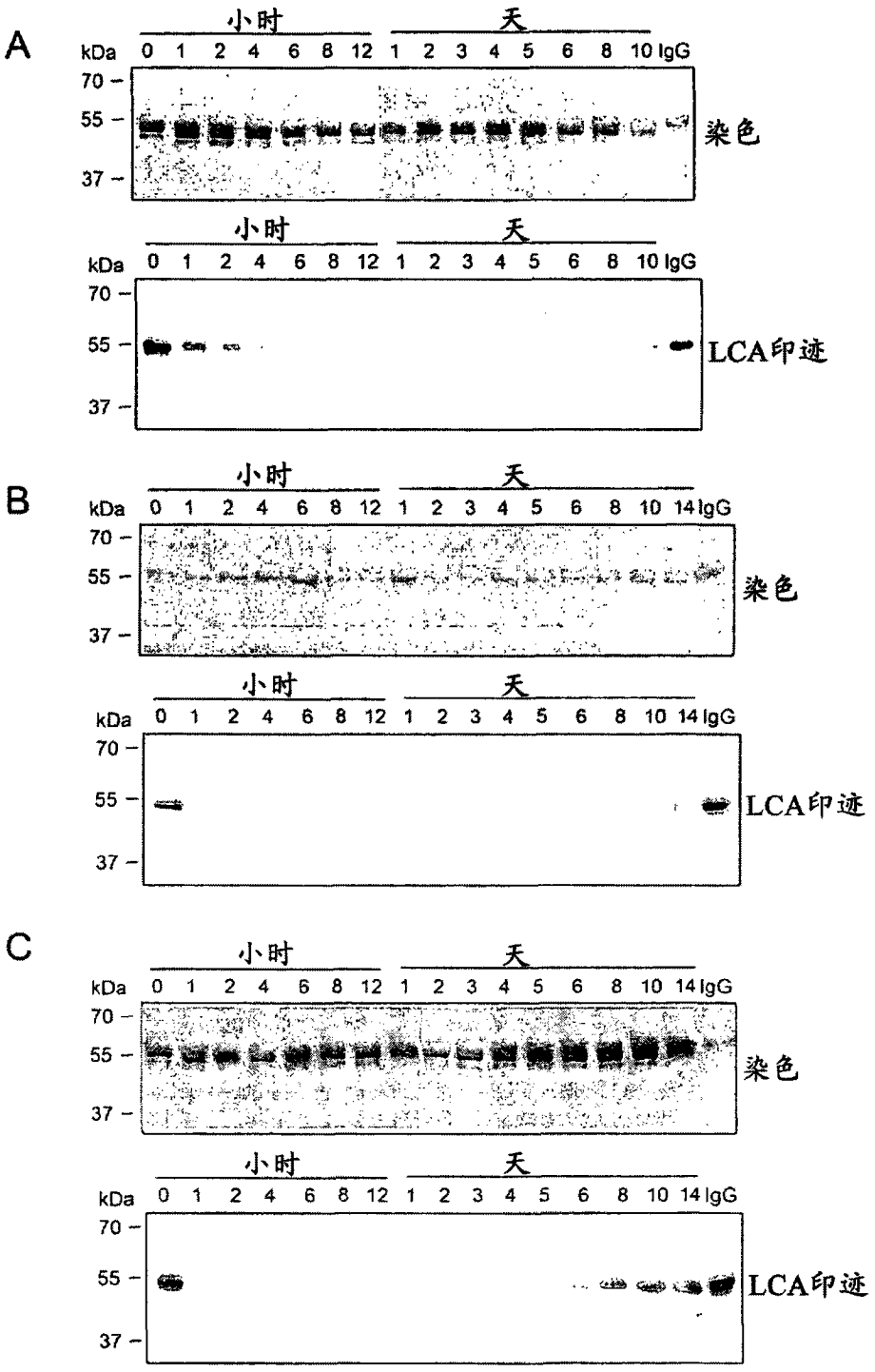

A
小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10 IgG
70
55
37
染色
小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10 IgG
70
55
37
LCA印迹
B
小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10 14 IgG
70
55
37
染色
小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10 14 IgG
70
55
37
LCA印迹
C
小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10 14 IgG
70
55
37
染色
小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10 14 IgG
70
55
37
LCA印迹

图 6

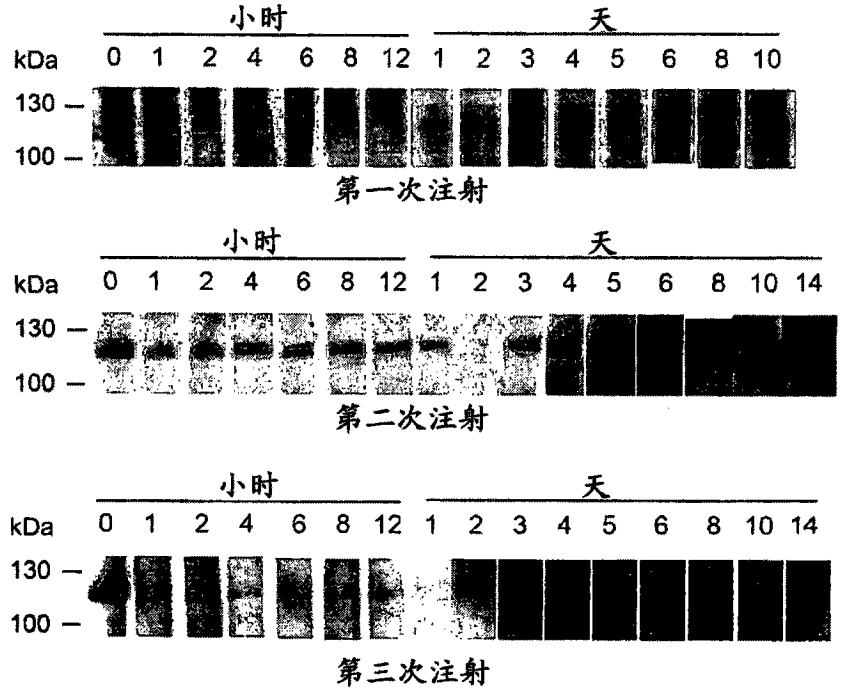

小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10
130
100
第一次注射
小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10 14
130
100
第二次注射
小时
天
kDa
0 1 2 4 6 8 12 1 2 3 4 5 6 8 10 14
130
100
第三次注射

图 7

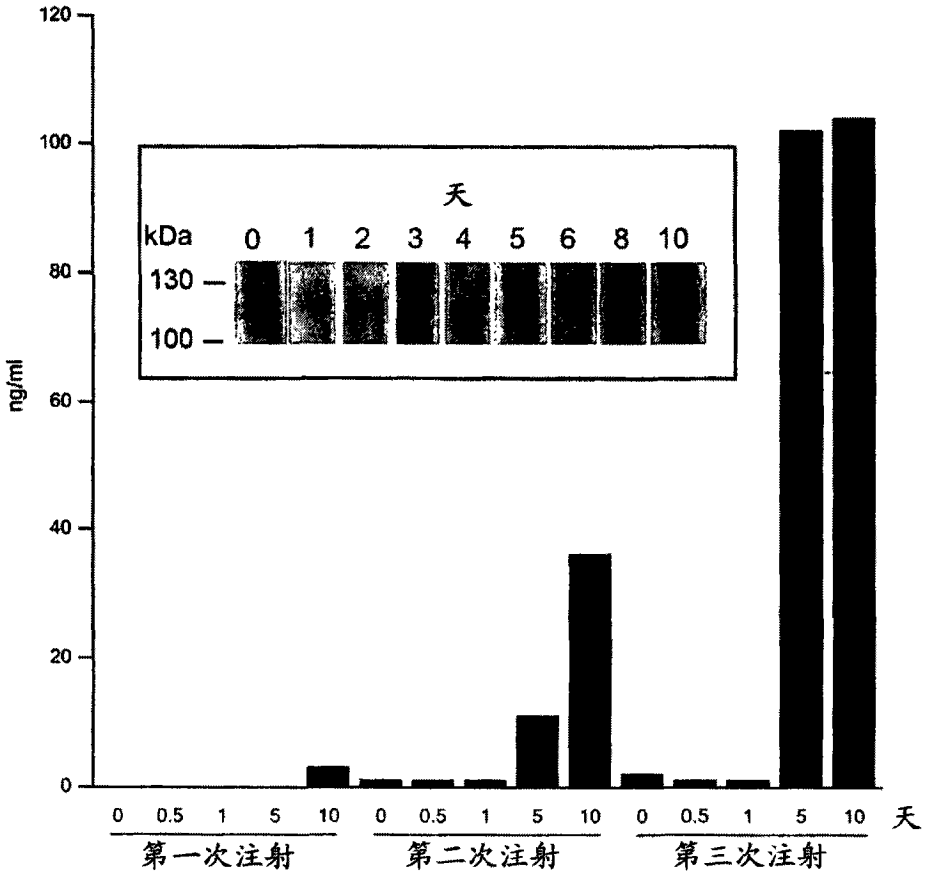

ng/ml
120
100
80
60
40
20
0
天
kDa
0 1 2 3 4 5 6 8 10
130
100
0 0.5 1 5 10 0 0.5 1 5 10 0 0.5 1 5 10 天
第一次注射
第二次注射
第三次注射

图 7A

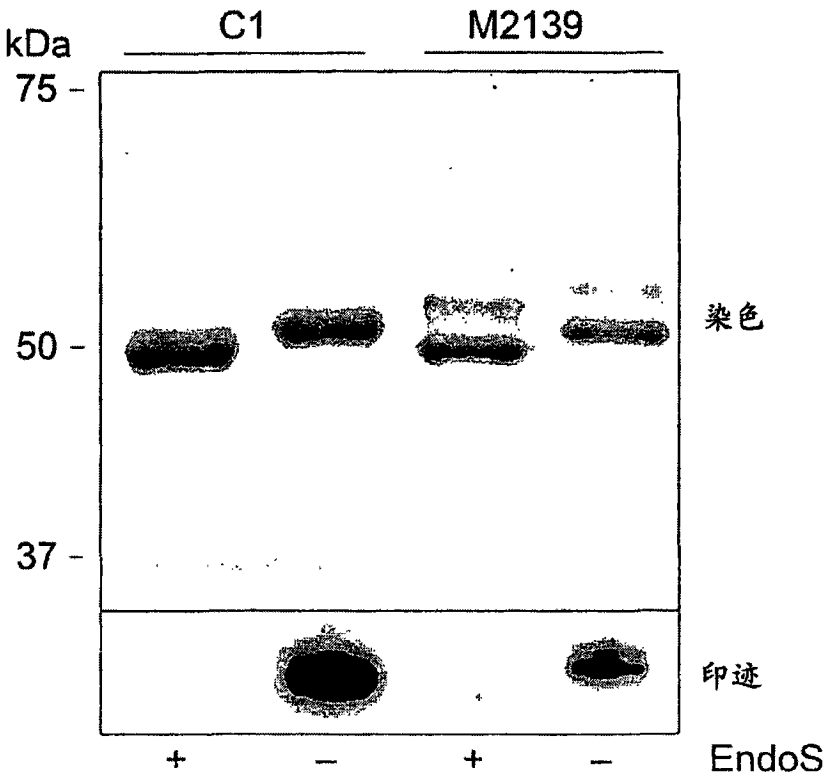


图 8

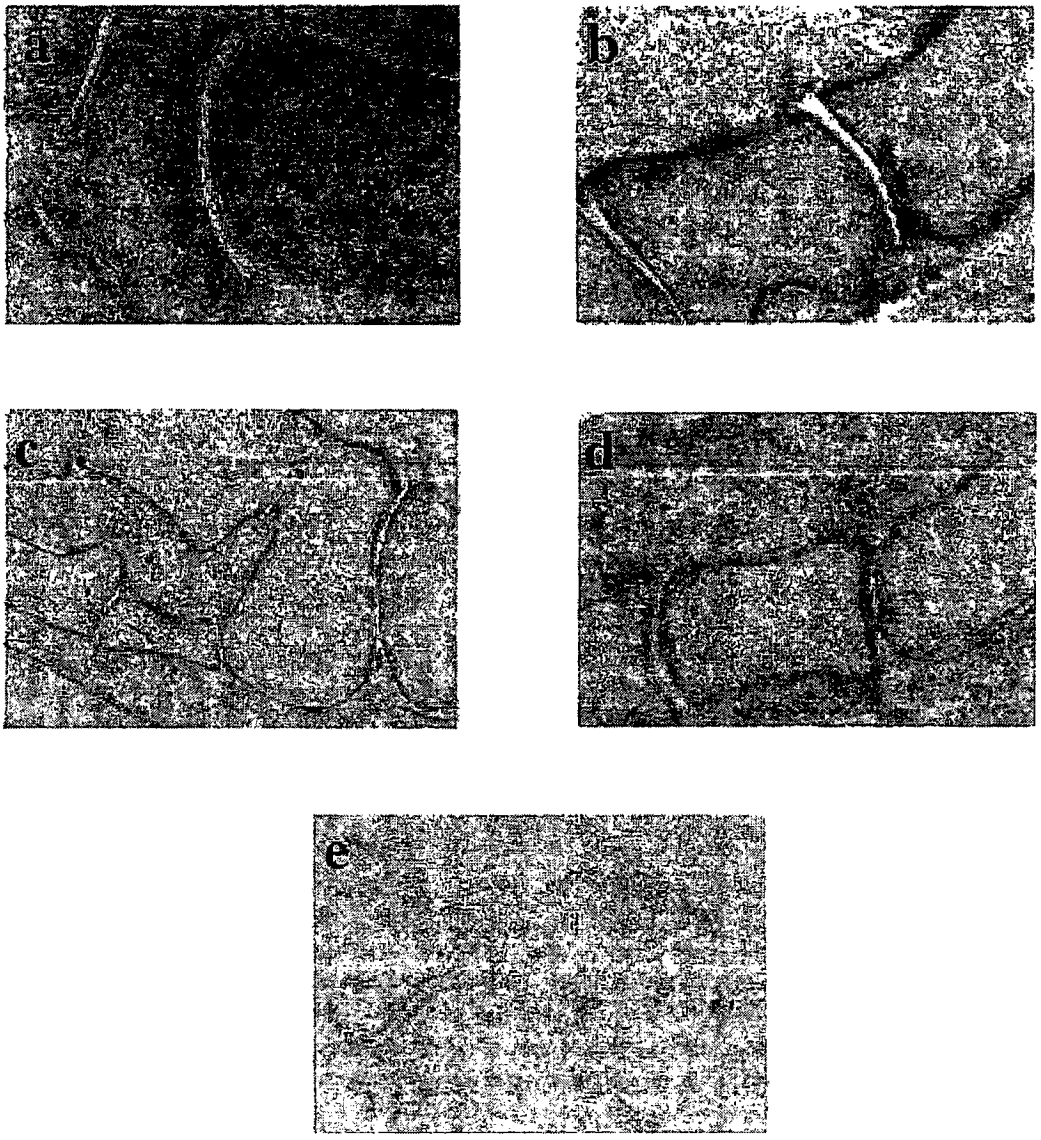


图 9

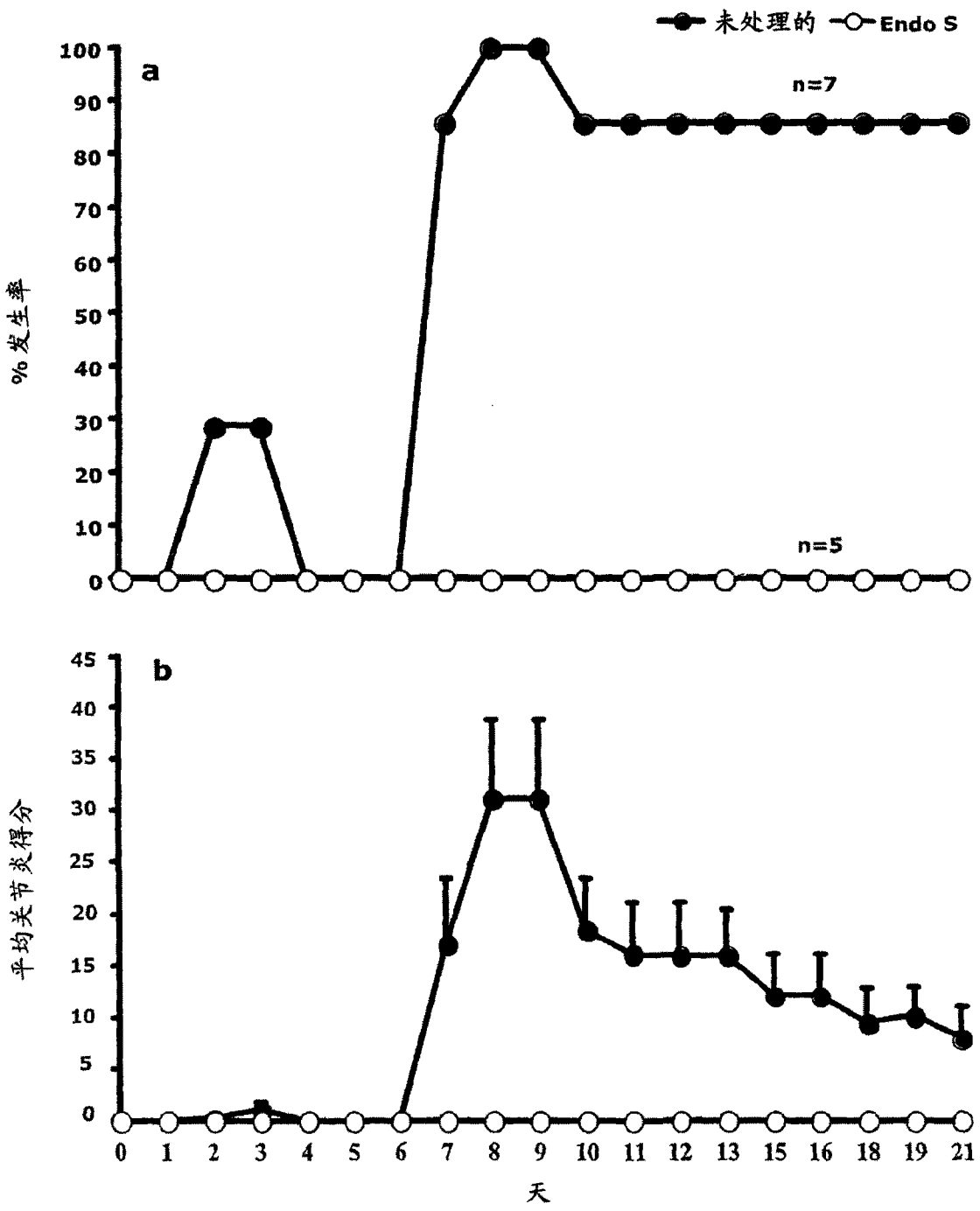

未处理的
Endo S
a
n=7
n=5
% 发生率
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
b
平均关节炎得分
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 15 16 18 19 21
天

图 10

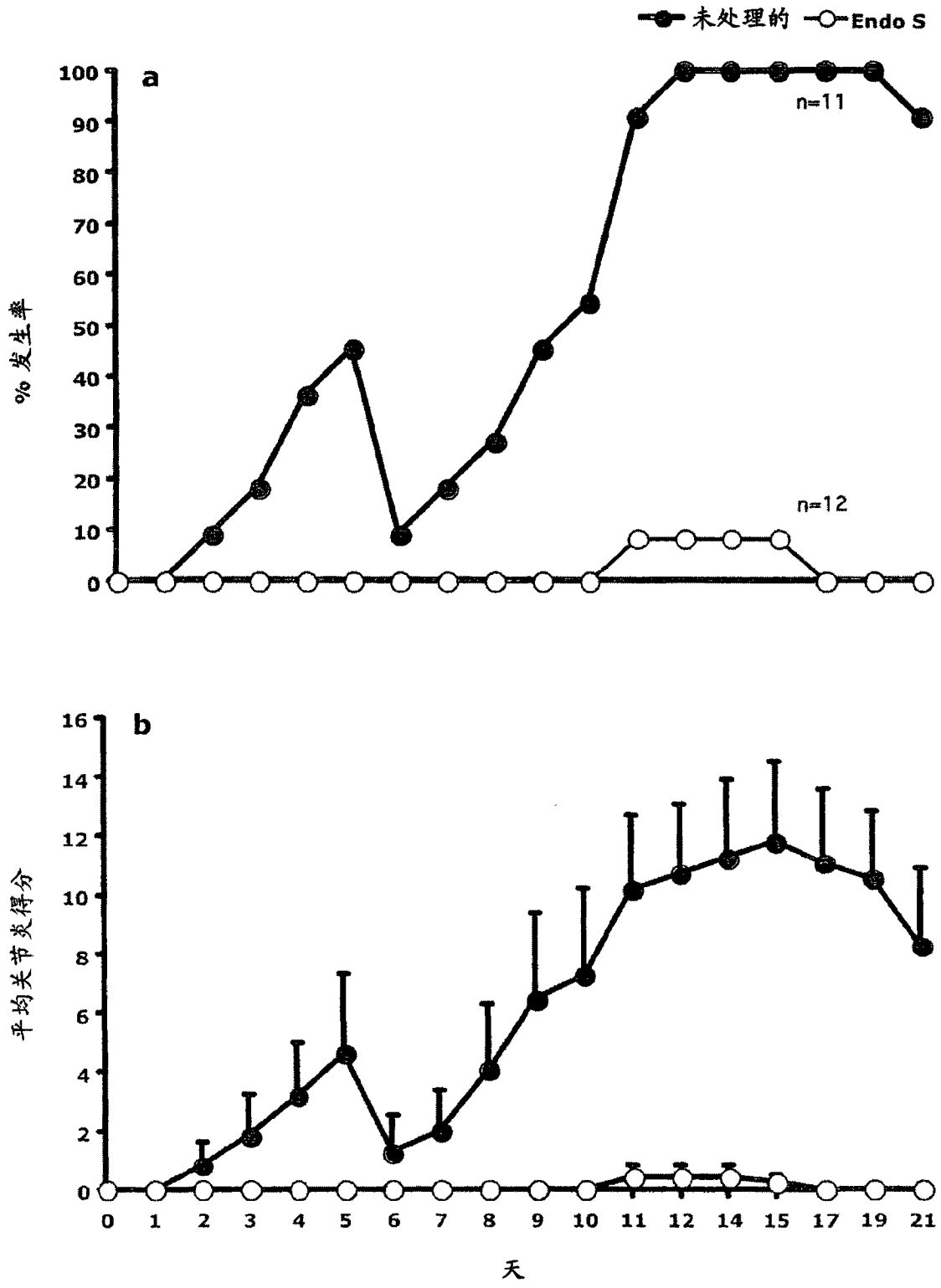

未处理的
Endo S
a
n=11
n=12
% 发生率
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
b
平均关节炎得分
16
14
12
10
8
6
4
2
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 14 15 17 19 21
天

图 11

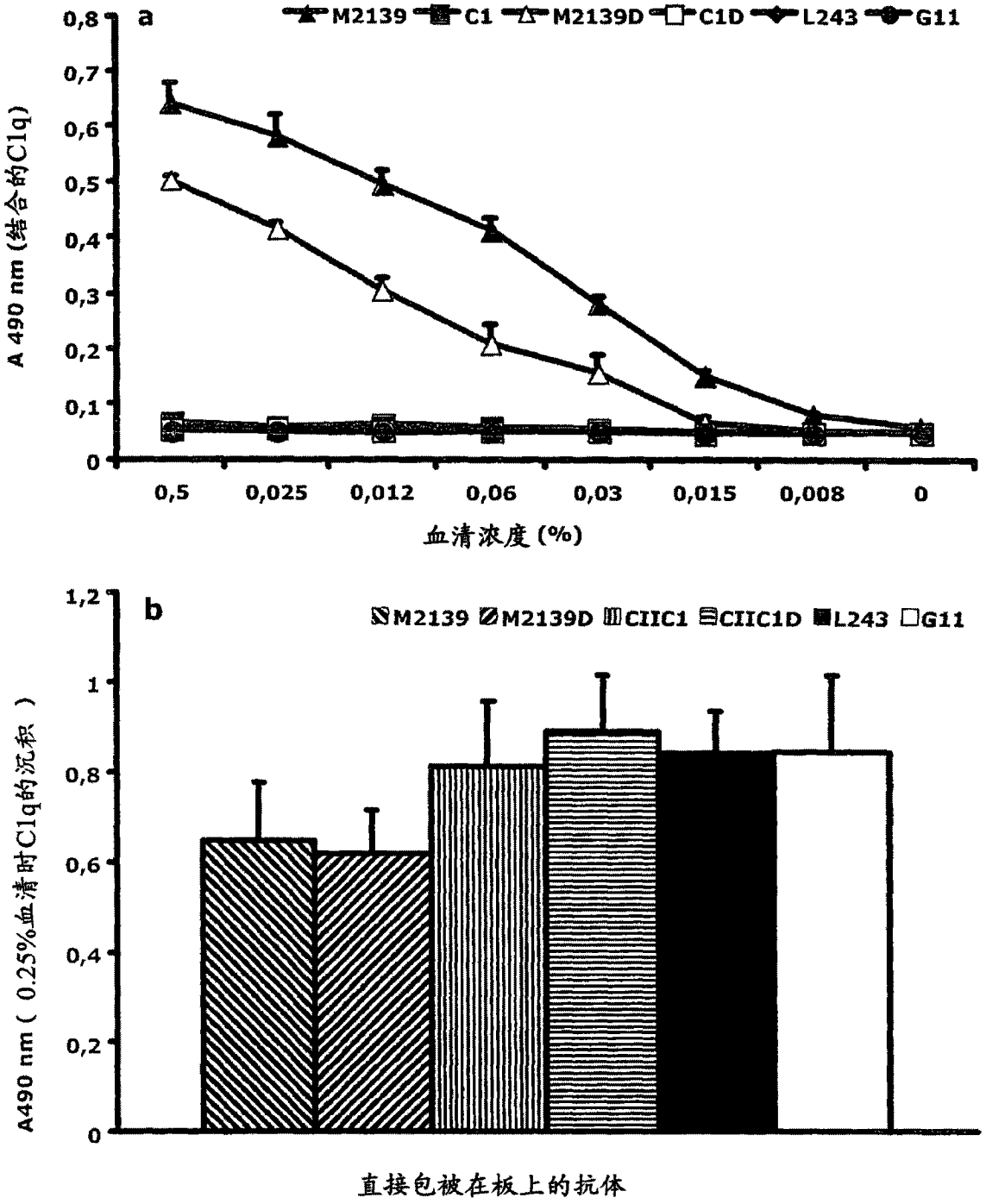

a
M2139
C1
M2139D
C1D
L243
G11
A 490 nm (结合的C1q)
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0,5
0,025
0,012
0,06
0,03
0,015
0,008
0
血清浓度(%)
b
M2139
M2139D
CIIC1
CIIC1D
L243
G11
A490 nm (0.25%血清时C1q的沉积)
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
直接包被在板上的抗体

图 12

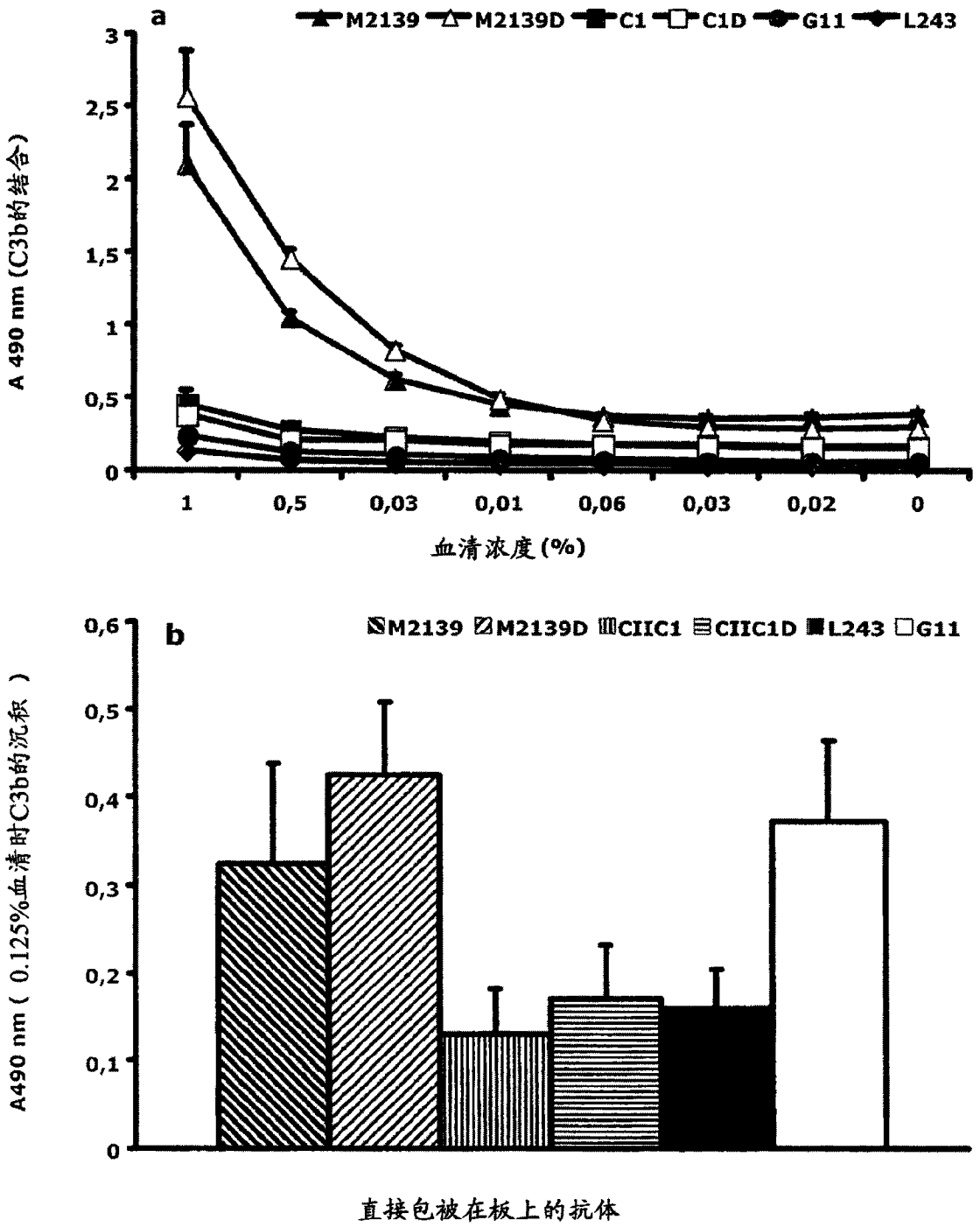

a
M2139
M2139D
C1
C1D
G11
L243
A 490 nm (C3b的结合)
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
1
0,5
0,03
0,01
0,06
0,03
0,02
0
血清浓度(%)
b
M2139
M2139D
CIIC1
CIIC1D
L243
G11
A490 nm (0.125%血清时C3b的沉积)
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
直接包被在板上的抗体

图 13

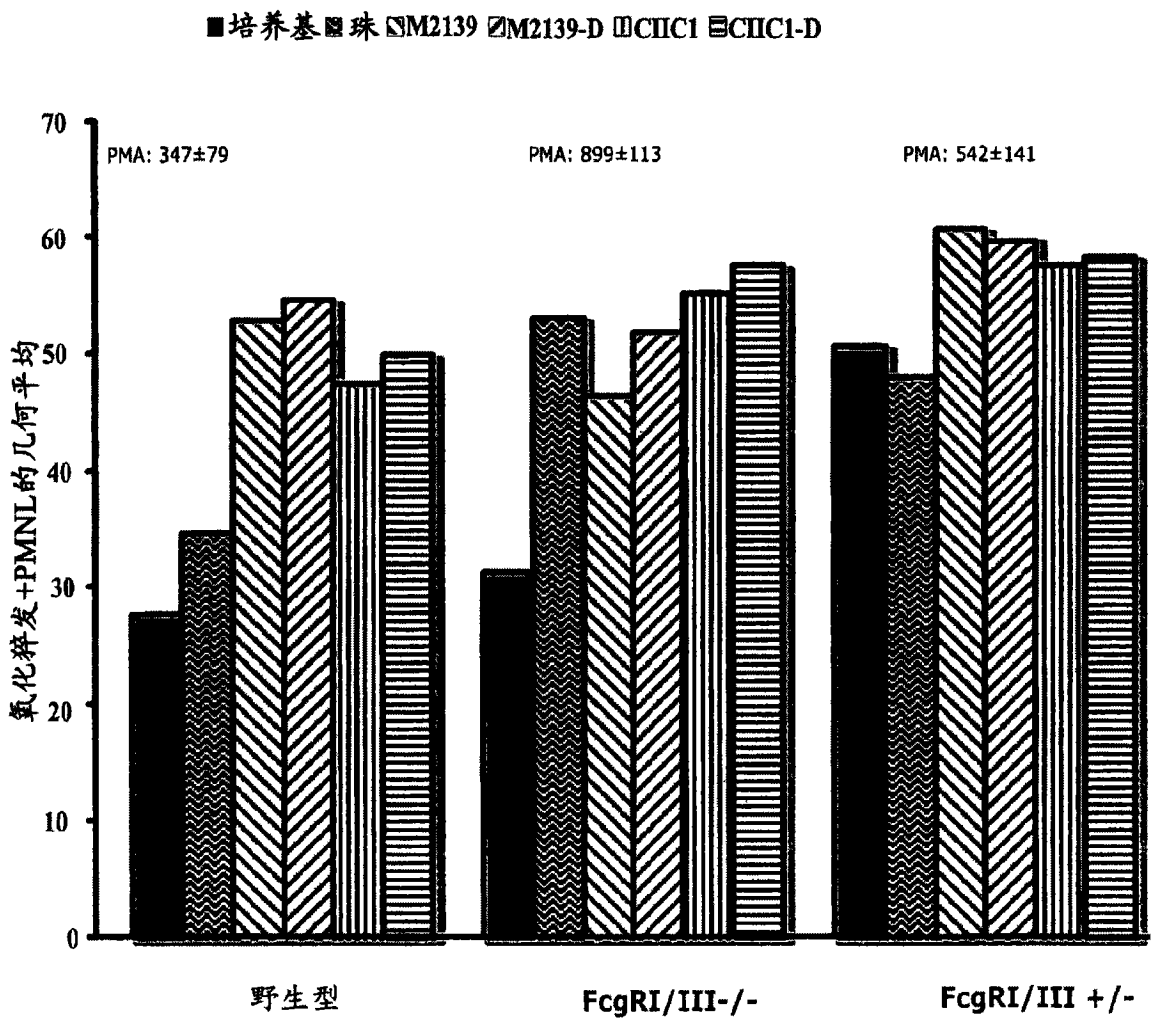

■培养基▩珠 ▧M2139 ▨M2139-D ▥CIIC1 ▤CIIC1-D
70
60
50
40
30
20
10
0
氧化猝发+PMNL的几何平均
PMA: 347±79
PMA: 899±113
PMA: 542±141
野生型
FcgRI/III-/-
FcgRI/III +/-

图 14

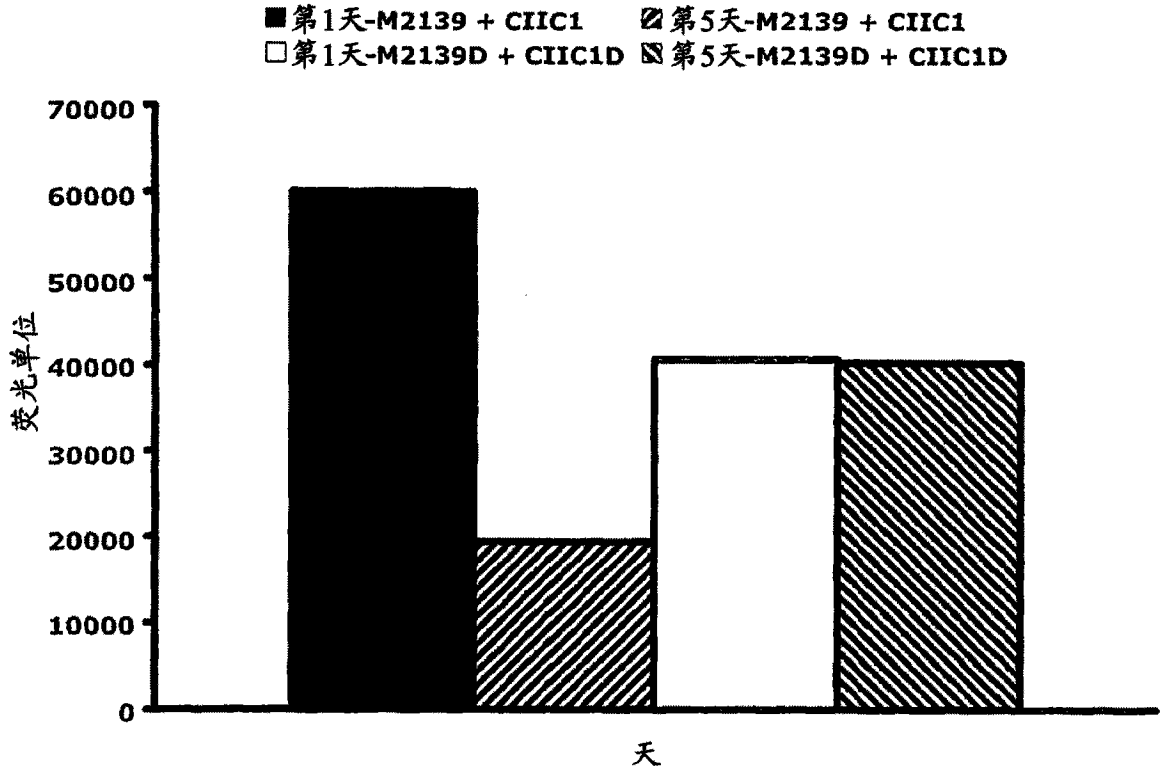

第1天-M2139 + CIIC1
第5天-M2139 + CIIC1
第1天-M2139D + CIIC1D
第5天-M2139D + CIIC1D
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
荧光单位
天

图 15

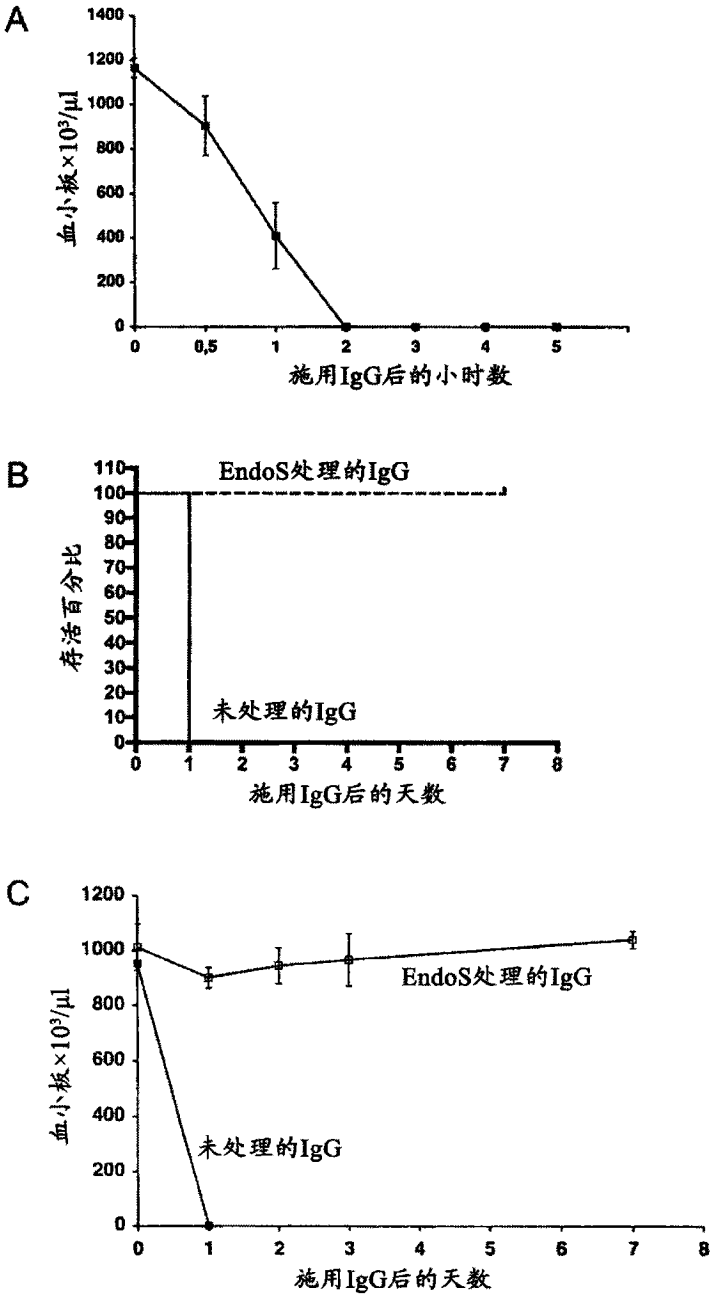

A
血小板×10³/μl
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
0,5
1
2
3
4
5
施用IgG后的小时数
B
存活百分比
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
EndoS处理的IgG
未处理的IgG
0
1
2
3
4
5
6
7
8
施用IgG后的天数
C
血小板×10³/μl
1200
1000
800
600
400
200
0
EndoS处理的IgG
未处理的IgG
0
1
2
3
4
5
6
7
8
施用IgG后的天数

图 16

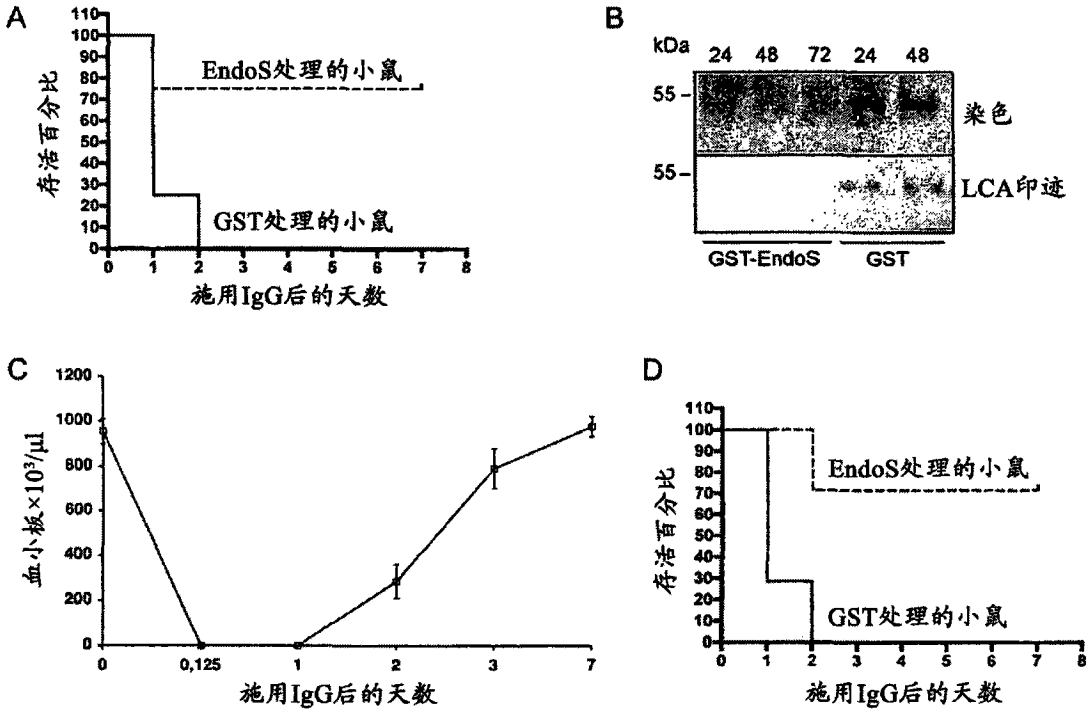

A
存活百分比
EndoS处理的小鼠
GST处理的小鼠
施用IgG后的天数
B
kDa
24 48 72 24 48
55
55
染色
LCA印迹
GST-EndoS
GST
C
血小板×10³/μl
施用IgG后的天数
D
存活百分比
EndoS处理的小鼠
GST处理的小鼠
施用IgG后的天数

图 17