



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 108948196 B

(45) 授权公告日 2022. 09. 23

(21) 申请号 201810653215.1

D • K • 斯班赛

(22) 申请日 2012.10.10

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108948196 A

专利代理师 陶家蓉

(43) 申请公布日 2018.12.07

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

(30) 优先权数据

61/546,028 2011.10.11 US

审查员 周奋进

(62) 分案原申请数据

201280049742.2 2012.10.10

(73) 专利权人 维埃拉生物股份有限公司

地址 美国特拉华州

(72) 发明人 A • 科伊尔 M • 巴卡

T • 迪斯泰德 S • 德拉比克

L • 格林伯格 S • 诺瓦拉

V • 奥加尼西安 R • 赫伯斯特

权利要求书2页 说明书112页
序列表133页 附图52页

(54) 发明名称

CD40L-特异性TN3-衍生的支架及其使用方
法

(57) 摘要

本发明提供了与CD40L特异性结合的基于生
腱蛋白-3 FnIII结构域的支架。本发明进一步提
供了具有针对该靶标的增加的亲和力的工程化
变体。本发明还涉及作为预防剂、诊断剂、或治疗
剂的工程化支架,特别是用于针对SLE以及其他
自身免疫性疾病和病症的治疗用途。

1. 一种包括至少两个CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架用于制备在患者中改变CD40介导的信号传导应答的药物的用途,其中每个单体亚单位由SEQ ID NO:146所示的序列组成,并且其中该Tn3支架与CD40L特异性结合,其中所述患者患有选自以下的疾病:系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿关节炎(RA)、多发性硬化症(MS)、炎症性肠病(IBD)、同种异体移植排斥和舍格伦综合征。

2. 如权利要求1所述的用途,所述CD40L-特异性单体亚单位是一前一后连接的。

3. 如权利要求1所述的用途,其中CD40L-特异性单体亚单位被直接连接。

4. 如权利要求1所述的用途,其中CD40L-特异性单体亚单位经由一个接头而连接。

5. 如权利要求4所述的用途,其中该接头包括一个肽接头。

6. 如权利要求5所述的用途,其中该肽接头是一个柔性肽接头。

7. 如权利要求6所述的用途,其中该肽接头包括一个 $(G_mX)_n$ 序列,其中:

(a) X是丝氨酸(S)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、Leu(L)、异亮氨酸(I)、或缬氨酸(V);

(b) m和n是整数;

(c) m是1、2、3或4;并且

(d) n是1、2、3、4、5、6、或7。

8. 如权利要求7所述的用途,其中该肽接头包括SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:142或SEQ ID NO:143。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的用途,其中至少一个CD40L-特异性单体亚单位与一个接头、或与一个异源部分结合。

10. 如权利要求9所述的用途,其中一个接头或一个异源部分被共轭至该支架的N端或C端。

11. 如权利要求9所述的用途,其中该接头包括一个肽接头。

12. 如权利要求11所述的用途,其中该肽接头是一个柔性肽接头。

13. 如权利要求12所述的用途,其中该肽接头包括一个 $(G_mX)_n$ 序列,其中:

(a) X是丝氨酸(S)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、亮氨酸(L)、异亮氨酸(I)、或缬氨酸(V);

(b) m和n是整数;

(c) m是1、2、3或4;并且,

(d) n是1、2、3、4、5、6、或7。

14. 如权利要求13所述的用途,其中该肽接头包括SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:142或SEQ ID NO:143。

15. 如权利要求9所述的用途,其中至少一个CD40L-特异性单体亚单位与一个异源部分结合。

16. 如权利要求15所述的用途,其中该异源部分是聚乙二醇(PEG)。

17. 如权利要求15所述的用途,其中该异源部分是白蛋白。

18. 如权利要求17所述的用途,其中该白蛋白是人血清白蛋白(HSA)。

19. 如权利要求18所述的用途,其中所述HSA是一种变体HSA,其氨基酸序列是SEQ ID NO:133。

20. 如权利要求1-8任一项所述的用途,其特征在于,所述支架如SEQ ID NO:135所示。

21. 如权利要求1-8任一项所述的用途,其特征在于,所述支架如SEQ ID NO:145所示。

22. 如权利要求1-8任一项所述的用途,其特征在于,所述支架如SEQ ID NO:208所示。
23. 如以上权利要求1-8中任一项所述的用途,其中所述CD40L是人类CD40L。
24. 如权利要求23所述的用途,其中所述CD40L是膜结合的CD40L,如SEQ ID NO:1所示,或可溶性CD40L,如SEQ ID NO:2所示。
25. 如权利要求1所述的用途,其中该患者患有系统性红斑狼疮(SLE)。
26. 如权利要求1所述的用途,其中该患者患有类风湿性关节炎。
27. 如权利要求1所述的用途,其中该患者患有舍格伦综合征(Sjogren's syndrome)。
28. 一种包括两个CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架,其中每个单体亚单位包括七个被指定为A、B、C、D、E、F、和G的 β 链,以及六个被指定为AB、BC、CD、DE、EF、和FG的环区,其中所述AB链由SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:11组成,B β 链由SEQ ID NO:12组成,Cb链由SEQ ID NO:14组成,Db链由SEQ ID NO:15组成,Eb链由SEQ ID NO:16组成,Fb链由SEQ ID NO:17组成,和G β 链由SEQ ID NO:18组成,和其中AB环的序列由SEQ ID NO:4组成,BC环的序列由SEQ ID NO:86组成,CD环的序列由SEQ ID NO:6组成,DE环的序列由SEQ ID NO:96组成,EF环的序列由SEQ ID NO:8组成,和FG环由SEQ ID NO:139组成;
- 其中所述CD40L-特异性单体亚单位经由第一肽接头彼此连接,和其中至少一个CD40L-特异性单体亚单位通过第二肽接头与SEQ ID NO:133所示的人血清白蛋白(HSA)连接。
29. 如权利要求28所述的Tn3支架,其中第一肽接头如SEQ ID NO:143所示,第二肽接头如SEQ ID NO:142所示。
30. 如权利要求28所述的Tn3支架,其中第一CD40L-特异性单体亚单位的序列为SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYG IKDVPGRDRTTIDLWYHHAHYSIGNLKPDTEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTT,第二单体亚单位的序列为RLDAPSQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYG IKDVPGRDRTTIDLWYHHAHYSIGNLKPDTEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTT。
31. 一种组合物,包括如权利要求28所述的Tn3支架以及一种药学上可接受的赋形剂。

CD40L-特异性TN3-衍生的支架及其使用方法

[0001] 相关申请的引用

[0002] 本申请包含部份涉及提交于2011年10月11日的美国临时申请号 61/546,028,提交于2010年4月13日的美国临时申请号61/323,708;提交于2011年4月12日的国际申请号PCT/US2011/032184;提交于2011年4月12日的国际申请号PCT/US2011/032188;以及提交于2008年10月10日并且被公开为国际公开号W0 2009/058379 A2的PCT申请号PCT/US2008/012398的主题。将上面引用的每个申请通过引用以其全文结合在此。

[0003] 序列表的引用

[0004] 本申请通过引用结合以文本文件经由EFS-Web与本申请一起提交的序列表,该序列表题为“CD40L-101W01_SL.txt”,创建于2012年10月3日,并且具有的大小为232千字节。

[0005] 发明背景

发明领域

[0006] 总体上,本发明涉及抗体模拟物领域,确切地涉及衍生自人类生腱蛋白 C的第三纤连蛋白III型结构域的支架,这些支架对于例如产生具有新颖的结合特征的产品是有用的。具体地,本发明涉及CD40L-特异性Tn3支架、制造此类支架的方法、以及用于诊断和治疗系统性红斑狼疮以及其他自身免疫和/或炎性失调的使用方法。

背景技术

[0007] 本发明涉及与CD40L结合、对于例如治疗自身免疫和/或炎性失调有用的CD40L-特异性蛋白支架。

[0008] 能够与一种所希望的靶标表位特异性结合的生物分子作为治疗、研究、以及医学诊断工具是非常重要的。这类分子的一个熟知的实例是抗体。可以选择与几乎任何结构表位特异性结合并对其有亲和力的抗体。然而,经典的抗体是结构上复杂的异四聚体分子,这些分子在简单的真核系统中难于表达。因此,使用复杂的并且昂贵的哺乳动物细胞表达系统来产生大多数抗体。

[0009] 可以将具有相对确定的三维结构的蛋白质(通常被称为蛋白支架)用作试剂,用于设计工程化产品。此类支架有用的一个具体区域是抗体模拟物设计领域。抗体模拟物(即,小的非抗体蛋白治疗剂)利用抗体和抗体片段的优点(例如与靶标的高亲和力结合以及低的免疫原性和毒性),同时避免了一些不足:例如抗体片段凝集的趋势并且比全长IgG更不稳定。

[0010] 可以通过使用去除部分抗体的天然折叠而创建的抗体片段解决这些缺点。然而,当将被正常地埋于疏水环境(例如可变结构域与恒定结构域之间的界面)中的氨基酸残基暴露于溶剂时,这通常导致凝集。基于支架的抗体模拟物的一个实例是基于纤连蛋白III型结构域(FnIII)的结构,该结构域是一种广泛发现于跨膜和蛋白质种类的结构域,例如发现于哺乳动物血液和结构蛋白中。衍生自人类生腱蛋白C的第三FnIII结构域的FnIII支架的设计和用途描述于PCT申请 PCT/US2011/032184和PCT/US2011/032188中,将两者通过引用

以其全文结合在此。

[0011] CD40L是主要表达于激活的T细胞(包括Th0、Th1、以及Th2亚型)上的TNF分子家族的一个成员,并且形成与这一家族的其他成员类似的同源三聚体。此外,还发现CD40L表达于肥大细胞、以及激活的嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞上。CD40L与抗原呈递细胞(APC)上的CD40受体(CD40R)结合,取决于靶细胞类型,这导致许多效果。通常,CD40L起到共刺激分子的作用并且诱导与由该APC上的MHC分子刺激的T细胞受体有关的APC的激活。

[0012] 由CD40L通过CD40受体的信号传导启动一个级联事件,这导致带有CD40受体的细胞的激活和最优的CD4+T细胞初敏。更确切地说,CD40L与CD40受体之间的同种相互作用促进B细胞分化为抗体分泌细胞和记忆B细胞(Burkly (布克利),在Adv.Exp.Med.Bio.(实验医学和生物学进展)中,第489卷,D. M.Monroe(门罗),U.Hedner(郝德纳),M.R.Hoffman(霍夫曼),C.Negrier(尼格里尔),G.F.Savidge(赛维德格),和G.C.I.White(怀特),编辑Klower 学术/全会出版社,2001,第135页)。额外地,CD40L与CD40受体之间的相互作用促进通过巨噬细胞和树突细胞的激活的细胞介导免疫以及自然杀伤细胞和细胞毒T淋巴细胞的产生(参见布克利,同上)。

[0013] 已经示出CD40L与CD40受体之间的相互作用在若干实验诱导的自身免疫性疾病中是重要的,例如胶原诱导性关节炎、实验性变应性脑脊髓炎、卵巢炎、结肠炎、药物诱导的狼疮性肾炎。确切地,已经示出以所有这些模型中的疾病诱导的都可以在给予抗原时用CD40L拮抗剂阻断。还已经在患有自发性自身免疫性疾病(包括胰岛素依赖性糖尿病)的动物模型中、连同在移植物抗宿主疾病、移植、肺纤维化、以及动脉硬化疾病模型中看到使用抗-CD40L拮抗剂的疾病阻断。

[0014] 已经示出经由CD40L阻断的CD40L/CD40R通路的破坏在许多自身免疫介导的疾病(例如但不限于系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿关节炎(RA)、多发性硬化症(MS)、炎症性肠病(IBD)以及同种异体移植排斥)中是有益的。例如,用抗-CD40L抗体的处理预防或改善胶原诱导性关节炎小鼠模型中的肾炎(Mohan(莫汉)等人J.Immuno.(免疫学杂志)154:1470)。额外地,抗-CD40L抗体在患有建立的肾炎的SNF1小鼠中保留肾脏功能。(Kalled(凯莱德)等人免疫学杂志160:2158)。在非人类和人类两者中,CD40L水平与临床疾病严重程度(即,炎症的减少)、以及靶组织的损害密切相关。

[0015] SLE是一种进行性的并且有时是致命的自身免疫性疾病。狼疮的各异表现从皮疹和关节炎通过贫血和血小板减少到甚至精神病变化。已经有明显的证据示出在导致肾脏、皮肤、大脑疾病和血栓形成的炎性过程中涉及免疫系统的许多分支。SLE的一个特色特征是B细胞失去耐受性并且在患有这一疾病的患者中自身抗体是显著的。在狼疮性肾脏疾病中,抗双链DNA自身抗体可以形成抗体核小体复合物并且迁入肾脏的肾小球基底膜中。这些免疫复合物反过来激活补体,这可以引起肾小球肾炎。

[0016] 已经发现在患有SLE的患者中CD40R连同CD40L的表达是提高的。增加的共刺激信号可能导致发现于SLE中的病理性炎症应答。SLE T细胞具有与对自身抗原降低的激活阈有关的自发增加的激活作用。此外,这些细胞对另外的抗原刺激具有低反应性、对细胞凋亡具有抗性、在激活后具有增加的存活并且具有许多改变的细胞内信号传导通路。在由T细胞CD40L激活APC上的CD40R后,APC和T细胞两者都被激活,产生细胞因子并且在SLE中导致病理性自身抗体的产生和组织损伤(狼疮性肾炎)。单独地或组合地,CD40R/CD40L通路的阻断

在阻断易发狼疮小鼠中的疾病中是有效的。在患有SLE的患者中,人源化抗-CD40L抗体减少抗双链DNA和B细胞、蛋白尿,并且改善SLE疾病严重程度。

[0017] 然而,用传统的抗体靶向CD40L已经产生了显著的安全忧虑。例如,由于报道的血栓栓塞性并发症,在患有慢性难治的特发性血小板减少性紫癜(ITP)的患者中的抗-CD40L抗体5c8(BIOGEN®)的研究被搁置(Davidson(戴维森)等人Arth Rheu(类风湿关节炎),43:S271)。此外,用直接针对CD40L的替代性抗体的额外的尝试导致其他血栓形成相关的并发症(Davis(戴维斯)等人Arth Rheu(类风湿关节炎),43:S281;Schuler(舒乐),Transplantation(移植),77:717)。考虑到CD40L的抗体定向的拮抗作用的并发症,对用一种非抗体替代物靶向并拮抗CD40L存在未满足的需求。因此,通过避免Fab2和/或Fc-介导的血小板凝集和下游的副作用,用基于Tn3的支架靶向CD40L是一个吸引人的替代方案。

[0018] 在此对参考文献的引用或讨论不应被理解为承认此类参考文献是本发明的现有技术。

[0019] 发明概述

[0020] 本发明提供了一种包括CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架,其中该单体亚单位包括七个被指定为A、B、C、D、E、F、和G的β链,以及六个被指定为AB、BC、CD、DE、EF、和FG的环区,并且其中该Tn3支架与CD40L特异性结合。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个单一的CD40L-特异性单体亚单位。在其他实施例中,该Tn3支架包括两个一前一后连接的CD40L-特异性单体亚单位。在一些特定实施例中,该Tn3支架包括两个直接连接的CD40L-特异性单体亚单位。

[0021] 在一些实施例中,两个CD40L-特异性单体亚单位被一个接头连接。在其他实施例中,该接头包括可以是柔性肽接头的肽接头。在一些实施例中,该肽接头包括一个 $(G_mX)_n$ 序列,其中X是丝氨酸(S)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、Leu(L)、异亮氨酸(I)、或缬氨酸(V);m和n是整数值;m是1、2、3或4;并且n是1、2、3、4、5、6、或7。在一些实施例中,该肽接头包括SEQ ID NO: 131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:142或SEQ ID NO:143。

[0022] 在一些实施例中,包括两个CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架与CD40L的结合与包括一个单一的CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架与CD40L的结合相比是改善的。在其他实施例中,包括两个CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架与CD40L的结合与包括一个单一的CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架与CD40L的结合相比改善对靶标的作用。在其他实施例中,Tn3支架与CD40L的结合的改善是结合亲和力的改善、结合亲合性的改善、或两者。在某些实施例中,包括两个CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架与CD40L的结合亲和力和Tn3支架蛋白稳定性与包括一个单一的CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架与CD40L的结合亲和力和Tn3支架蛋白稳定性相比是改善的。在一些实施例中,包括两个CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架与CD40L的结合亲合性和Tn3支架蛋白稳定性与包括一个单一的CD40L-特异性单体亚单位的Tn3支架与CD40L的结合亲合性和Tn3支架蛋白稳定性是改善的。

[0023] 在一些实施例中,在Tn3支架中的至少一个CD40L-特异性单体亚单位与接头结合、或与异源部分结合。在其他实施例中,Tn3支架中的接头或异源部分被共轭至一个CD40L-特异性单体亚单位的N端或C端。在某些实施例中,与Tn3支架中的一个CD40L-特异性单体亚单位结合的接头包括肽接头,这种肽接头在一些实施例中可以是一种柔性肽接头。在某些

实施例中,该肽接头可以包括一个 $(G_mX)_n$ 序列,其中X是丝氨酸(S)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、亮氨酸(L)、异亮氨酸(I)、或缬氨酸(V);m和n是整数;m是1、2、3或4;并且n是1、2、3、4、5、6、或7。在一些实施例中,与Tn3支架中的一个CD40L-特异性单体亚单位结合的肽接头包括SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:142 或SEQ ID NO:143。

[0024] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个接头,该接头包括一个功能部分。在一些实施例中,这个功能部分是一种免疫球蛋白或其片段。在某些实施例中,这种免疫球蛋白或其片段包括一个Fc结构域。在一些实施例中,这一Fc结构域不能诱导至少一种Fc γ R-介导的效应子功能。在一些实施例中,这一至少一种Fc γ R-介导的效应子功能是ADCC。

[0025] 在一些实施例中,该Tn3支架包括至少一个与异源部分结合的CD40L-特异性单体亚单位。在一些实施例中,这一异源部分包括一种选自下组的组合物,该组由以下各项组成:蛋白质、肽、蛋白质结构域、接头、药物、毒素、细胞毒剂、显像剂、放射性核素、放射性化合物、有机聚合物、无机聚合物、聚乙二醇(PEG)、生物素、白蛋白、人血清白蛋白(HSA)、HSFcRn结合部分、抗体、抗体的结构域、抗体片段、单链抗体、结构域抗体、白蛋白结合结构域、酶、配体、受体、结合肽、非FnIII支架、表位标签、重组多肽聚合物、细胞因子,以及两种或更多种所述部分的组合。

[0026] 在一些实施例中,该Tn3支架包括至少一个与PEG共轭的CD40L-特异性单体亚单位。在一些实施例中,该Tn3支架包括至少一个与白蛋白共轭的CD40L-特异性单体亚单位。在某些实施例中,这一白蛋白是人血清白蛋白(HSA)。在其他实施例中,这一HSA是一种变体HSA。在一些具体实施例中,该变体HSA的氨基酸序列是SEQ ID NO:133。在其他实施例中,与天然HSA或天然HSA片段相比,该变体HSA具有至少一种改善的特性。在某些实施例中,这种改善的特性是与天然HSA或天然HSA片段的血浆半衰期相比改变的血浆半衰期。在一些实施例中,这种改变的血浆半衰期是与天然HSA或天然HSA片段的血浆半衰期相比更长的血浆半衰期。在其他实施例中,这种改变的血浆半衰期是与天然HSA或天然HSA片段的血浆半衰期相比更短的血浆半衰期。

[0027] 在一些实施例中,该Tn3支架被融合至在HSA结构域III中包括至少一个氨基酸取代的HSA变体。在其他实施例中,该Tn3支架被融合至一种HSA变体,该HSA变体包括全长成熟的HSA(SEQ ID NO:133或138)或其片段的序列,除了至少一个在选自下组的位置处的氨基酸取代以外,该组由以下各项组成:407、415、463、500、506、508、509、511、512、515、516、521、523、524、526、535、550、557、573、574、以及580,相对于全长成熟的HSA的位置进行编号;其中至少一个氨基酸取代不包括在位置573处的赖氨酸(K)被取代为谷氨酸(E),并且其中该Tn3支架具有比未共轭至此类HSA变体的Tn3支架的血浆半衰期更长的血浆半衰期。

[0028] 在一些实施例中,该Tn3支架被融合至HSA变体,其中相对于在全长成熟HSA中的位置进行编号,至少一个氨基酸取代在选自下组的位置处,该组由以下各项组成:463、508、523、以及524,其中所述Tn3支架具有比未共轭至所述HSA变体的Tn3支架的血浆半衰期更长的血浆半衰期。在一些实施例中,该HSA变体包括全长成熟HSA(SEQ ID NO:133或138)或其片段的序列,相对于在全长成熟HSA中的位置进行编号,除了至少一个选自下组的氨基酸取代以外,该组由以下各项组成:(a)在位置407处的亮氨酸(L)被天冬酰胺(N)或酪氨酸(Y)取代;(b)在位置415处的缬氨酸(V)被苏氨酸(T)取代;(c)在位置463处的亮氨酸(L)被天冬酰胺(N)取代;(d)在位置500处的赖氨酸(K)被精氨酸(R)取代;(e)在位置506处的苏氨酸

(T)被酪氨酸(Y)取代;(f)在位置 508处的苏氨酸(T)被精氨酸(R)取代;(g)在位置509处的苯丙氨酸(F)被甲硫氨酸(M)或色氨酸(W)取代;(h)在位置511处的丙氨酸(A)被苯丙氨酸(F)取代;(i)在位置512处的天冬氨酸(D)被酪氨酸(Y)取代;(j)在位置515 处的苏氨酸(T)被谷氨酰胺(Q)取代;(k)在位置516处的亮氨酸(L)被苏氨酸(T)或色氨酸(W)取代;(l)在位置521处的精氨酸(R)被色氨酸(W)取代;(m)在位置523处的异亮氨酸(I)被天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)、甘氨酸 (G)、赖氨酸(K)、或精氨酸(R)取代;(n)在位置524处的赖氨酸(K)被亮氨酸(L)取代;(o)在位置526处的谷氨酰胺(Q)被甲硫氨酸(M)取代;(p) 在位置535处的组氨酸(H)被脯氨酸(P)取代;(q)在位置550处的天冬氨酸(D) 被谷氨酸(E)取代;(r)在位置557处的赖氨酸(K)被甘氨酸(G)取代;(s)在位置573处的赖氨酸(K)被苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)、脯氨酸(P)、色氨酸(W)、或酪氨酸(Y)取代;(t)在位置574处的赖氨酸(K)被天冬酰胺(N) 取代;(u)在位置580处的谷氨酰胺(Q)被赖氨酸(K)取代;以及(v)两种或更多种所述取代的组合,其中所述Tn3支架具有比未共轭至所述HSA变体的Tn3 支架的血浆半衰期更长的血浆半衰期。

[0029] 在一些实施例中,该Tn3支架被融合至HSA变体,该HSA变体包括全长成熟HSA (SEQ ID NO:133或138)或其片段的序列,相对于在全长成熟HSA 中的位置进行编号,除了至少一个选自下组的氨基酸取代以外,该组由以下各项组成:(a)在位置463处的亮氨酸(L)被天冬酰胺(N)取代;(b)在位置508处的苏氨酸(T)被精氨酸(R)取代;(c)在位置523处的异亮氨酸(I)被天冬氨酸 (D)、谷氨酸(E)、甘氨酸(G)、赖氨酸(K)、或精氨酸(R)取代、;(d) 在位置524处的赖氨酸(K)被亮氨酸(L)取代;以及(e)两种或更多种所述取代的组合,其中所述Tn3支架具有比未共轭至所述HSA变体的Tn3支架的血浆半衰期更长的血浆半衰期。

[0030] 在一些实施例中,该Tn3支架包括至少两个相同的CD40L-特异性单体亚单位。在其他实施例中,该Tn3支架包括至少两个不同的CD40L-特异性单体亚单位。在一些实施例中,该Tn3支架是一种CD40受体激动剂。在一些实施例中,该Tn3支架是一种CD40受体拮抗剂。

[0031] 在一些实施例中,该Tn3支架包括至少两个与同一CD40L表位特异性结合的CD40L-特异性单体亚单位。在其他实施例中,该Tn3支架包括至少两个与不同CD40L表位特异性结合的CD40L-特异性单体亚单位。在一些实施例中,这些不同的CD40L表位是不重叠的表位。在其他实施例中,这些不同的CD40L表位是重叠的表位。

[0032] 在一些实施例中,该Tn3支架与至少两个CD40L分子结合。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个与至少两个CD40L分子结合的CD40L-特异性单体亚单位。

[0033] 在一些实施例中,该Tn3支架的至少一个CD40L-特异性单体亚单位的 β 链与SEQ ID NO:3的 β 链具有至少90%序列一致性。在其他实施例中,该Tn3 支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括一个含有SEQ ID NO:11 的A β 链、或包括一个含有SEQ ID NO:11 的A β 链(除了至少一个突变以外)。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括一个含有SEQ ID NO:12的B β 链、或包括一个含有SEQ ID NO:12的B β 链(除了至少一个突变以外)。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括一个含有SEQ ID NO:13或14的C β 链、或包括一个含有SEQ ID NO:13或14的C β 链(除了至少一个突变以外),并且其中在SEQ ID NO:13或14中的半胱氨酸未被取代。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个 CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括一个含有SEQ ID NO:15的D β 链、或包括一个含有SEQ ID NO:15的D β 链(除了至少一个突变以外)。

[0034] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括一个含有SEQ ID NO:16的E β 链、或包括一个含有SEQ ID NO:16 的E β 链(除了至少一个突变以外)。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,该亚单位包括一个含有SEQ ID NO:17的F β 链、或包括一个含有SEQ ID NO:17的F β 链(除了至少一个突变以外),并且其中在SEQ ID NO:17中的半胱氨酸未被取代。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,该亚单位包括一个含有SEQ ID NO:18的G β 链、或包括一个含有SEQ ID NO:18的G β 链(除了至少一个突变以外)。

[0035] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括以下氨基酸序列:

[0036] IEV (X_{AB})_n ALITW (X_{BC})_n CELX₁ YGI (X_{CD})_n TTIDL (X_{DE})_n YSI (X_{EF})_n YEVS LIC (X_{FG})_n KE TFFT

[0037] 其中:X_{AB}、X_{BC}、X_{CD}、X_{DE}、X_{EF}、以及X_{FG}分别表示存在于AB、BC、CD、DE、EF、以及FG环中的序列的氨基酸残基;X₁表示氨基酸残基A或T;并且环的长度n是一个在2与26之间的整数。

[0038] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中AB环的序列包括SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:136,CD环的序列包括SEQ ID NO:6,并且EF环的序列包括SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:137。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、以及168。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中DE环的序列包括选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:94、95、96、97、98、以及169。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个 CD40L-特异性单体亚单位,其中FG环的序列包括选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:9、99、139、以及170。

[0039] 在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、以及174。在某些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中DE环的序列包括选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO: 118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、以及175。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中FG环的序列包括选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:129、130、和177。在某些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中AB环的序列包括选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:4和136。

[0040] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:83,DE环的序列包括SEQ ID NO:94,并且FG 环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:83,DE环的序列包括SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:99。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:84, DE环的序列包括SEQ ID NO:95,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。

[0041] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:85,DE环的序列包括SEQ ID NO:94,并且FG 环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,其中BC环的序列包

括SEQ ID NO:86,DE环的序列包括SEQ ID NO:96,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在一些实施例中,该 Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO: 87,DE环的序列包括SEQ ID NO:97,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或 139。

[0042] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:88,DE环的序列包括SEQ ID NO:95,并且FG 环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:89,DE环的序列包括SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在一些实施例中,该 Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO: 90,DE环的序列包括SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或 139。

[0043] 在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:91,DE环的序列包括SEQ ID NO:95,并且FG 环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:92,DE环的序列包括SEQ ID NO:98,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中,该 Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO: 93,DE环的序列包括SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或 139。

[0044] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:100,DE环的序列包括SEQ ID NO:118,并且 FG环的序列包括SEQ ID NO: 129。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:101,DE环的序列包括 SEQ ID NO:119,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该 Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO: 102,DE环的序列包括SEQ ID NO:120,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO: 103,DE环的序列包括SEQ ID NO:121,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中AB环的序列包括SEQ ID NO:136。

[0045] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:104,DE环的序列包括SEQ ID NO:122,并且 FG环的序列包括SEQ ID NO: 129。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:105,DE环的序列包括SEQ ID NO:121,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在其他实施例中,该 Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO: 106,DE环的序列包括SEQ ID NO:123,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中AB环的序列包括SEQ ID NO: 136。

[0046] 在某些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:107,DE环的序列包括SEQ ID NO:123,并且 FG环的序列包括SEQ ID NO: 129。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L- 特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:108,DE环的序列包括 SEQ ID NO:118,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该 Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO: 109,DE环的序列包括SEQ ID NO:123,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:110,DE环的序列包括SEQ ID NO: 121,并且FG环的

序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中AB环的序列包括SEQ ID NO:136。

[0047] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:111,DE环的序列包括SEQ ID NO:123,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:130。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:108,DE环的序列包括SEQ ID NO:121,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:112,DE环的序列包括SEQ ID NO:124,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:113,DE环的序列包括SEQ ID NO:125,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中AB环的序列包括SEQ ID NO:136。

[0048] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:114,DE环的序列包括SEQ ID NO:118,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:115,DE环的序列包括SEQ ID NO:126,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:116,DE环的序列包括SEQ ID NO:127,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中BC环的序列包括SEQ ID NO:117,DE环的序列包括SEQ ID NO:128,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,其中AB环的序列包括SEQ ID NO:136。

[0049] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括一个选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42以及146。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括以下氨基酸序列:

[0050] IEVKDVTDTTALITWX₁DX₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈CELTYGIKDVPGDRTTIDLWX₉HX₁₀A X₁₁YSIGNLKPD TEYEVSLICRX₁₂GDMSSNPAKETFTT (SEQ ID NO:167)

[0051] 其中:(a) X₁表示氨基酸残基丝氨酸(S)或亮氨酸(L);(b) X₂表示氨基酸残基天冬氨酸(D)或谷氨酸(E);(c) X₃表示氨基酸残基组氨酸(H)、异亮氨酸(I)、缬氨酸(V)、苯丙氨酸(F)或色氨酸(W);(d) X₄表示氨基酸残基丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、谷氨酸(E)或天冬氨酸(D);(e) X₅表示氨基酸残基谷氨酸(E)、亮氨酸(L)、谷氨酰胺(Q)、丝氨酸(S)、天冬氨酸(D)或天冬酰胺(N);(f) X₆表示氨基酸残基苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y);(g) X₇表示氨基酸残基异亮氨酸(I)、缬氨酸(V)、组氨酸(H)、谷氨酸(E)或天冬氨酸(D);(h) X₈表示氨基酸残基甘氨酸(G)、色氨酸(W)或缬氨酸(V);(i) X₉表示氨基酸残基色氨酸(W)、苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y);(j) X₁₀表示氨基酸残基丝氨酸(S)、谷氨酰胺(Q)、甲硫氨酸(M)或组氨酸(H);(k) X₁₁表示氨基酸残基色氨酸(W)或组氨酸(H);并且(l) X₁₂表示氨基酸残基精氨酸(R)或丝氨酸(S)。

[0052] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括一个选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、以及82。

[0053] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位包括以

下氨基酸序列：

[0054] IEVX₁DVTDTTALITWX₂X₃RSX₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀CELX₁₁YGIKDVPGDRTTIDLX₁₂X₁₃X₁₄X₁₅YVHY
SIGNLKPDTX₁₆YEVSLICLTDDGTYX₁₇NPAKETFTT (SEQ ID NO: 171)

[0055] 其中：

[0056] (a) X₁表示氨基酸残基赖氨酸(K)或谷氨酸(E)；

[0057] (b) X₂表示氨基酸残基苏氨酸(T)或异亮氨酸(I)；

[0058] (c) X₃表示氨基酸残基天冬酰胺(N)或丙氨酸(A)；

[0059] (d) X₄表示氨基酸残基丝氨酸(S)、亮氨酸(L)、丙氨酸(A)、苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；

[0060] (e) X₅表示氨基酸残基酪氨酸(Y)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或丝氨酸(S)；

[0061] (f) X₆表示氨基酸残基酪氨酸(Y)、丝氨酸(S)、丙氨酸(A)或组氨酸(H)；

[0062] (g) X₇表示氨基酸残基天冬酰胺(N)、天冬氨酸(D)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0063] (h) X₈表示氨基酸残基亮氨酸(L)、苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0064] (i) X₉表示氨基酸残基组氨酸(H)、脯氨酸(P)、丝氨酸(S)、亮氨酸(L)或天冬氨酸(D)；

[0065] (j) X₁₀表示氨基酸残基甘氨酸(G)、苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0066] (k) X₁₁表示氨基酸残基丙氨酸(A)或苏氨酸(T)；

[0067] (l) X₁₂表示氨基酸残基丝氨酸(S)、天冬酰胺(N)、谷氨酸(E)、天冬酰胺(R)或天冬氨酸(D)；

[0068] (m) X₁₃表示氨基酸残基丝氨酸(S)、谷氨酰胺(Q)、苏氨酸(T)、天冬酰胺(N)或丙氨酸(A)；

[0069] (n) X₁₄表示氨基酸残基脯氨酸(P)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或丙氨酸(A)或没有氨基酸；

[0070] (o) X₁₅表示氨基酸残基异亮氨酸(I)或没有氨基酸；

[0071] (p) X₁₆表示氨基酸残基谷氨酸(E)或赖氨酸(K)；并且

[0072] (q) X₁₇表示氨基酸残基丝氨酸(S)或天冬酰胺(N)。

[0073] 在一些实施例中，该Tn3支架包括一个选自下组的序列，该组由以下各项组成：SEQ ID NO:134、135、205、206、207以及208。在其他实施例中，该Tn3支架由选自下组的序列，该组由以下各项组成：SEQ ID NO:134、135、205、206、207以及208。

[0074] 在一些实施例中，该Tn3支架包括一个选自下组的序列，该组由以下各项组成：SEQ ID NO:201、202、203、以及204。在一些实施例中，该Tn3支架由选自下组的序列，该组由以下各项组成：SEQ ID NO:201、202、203、以及204。在一些实施例中，该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位，其中所述CD40L-特异性产朝向人类CD40L。在一些实施例中，该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位，其中所述CD40L-特异性朝向膜结合的CD40L (SEQ ID NO: 1)、可溶性CD40L (SEQ ID NO: 2)、或其片段。在一些特定实施例中，该Tn3支架结合CD40L并且阻止CD40L结合至CD40。

[0075] 本发明还提供了一种改变CD40L表达细胞的活性的方法，该方法包括使该细胞与Tn3支架接触，其中该Tn3支架结合CD40L并且阻止CD40L结合至CD40。在一些实施例中，该

Tn3支架以约1 μ M或更小的、或约500nM或更小的、或约100nM或更小的、或约50nM或更小的、或约25nM或更小的、或约10nM 或更小的、或约5nM或更小的、或约2nM或更小的亲和力(K_d)与CD40L结合。

[0076] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个与CD40L表位特异性结合的 CD40L-特异性单体亚单位,该CD40L表位包括位于SEQ ID NO:2的位置142至 155、200至230、或247至251处的氨基酸。在一些实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位与CD40L氨基酸E142、Y146、M148、N151、L155、R200、R203、以及E230相互作用。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位与CD40L氨基酸R203、I204、V247、H249、以及T251相互作用。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位与CD40L氨基酸E142、Y146、M148、N151、L155(位于第一CD40L分子中)相互作用,并且与CD40L氨基酸R200、R203、和E230(位于第二CD40L分子中)相互作用。在其他实施例中,该Tn3支架包括一个 CD40L-特异性单体亚单位,该亚单位与CD40L氨基酸R203和I204(位于第一 CD40L分子中)相互作用,并且与CD40L氨基酸V247、H249、以及T251(位于第二CD40L分子中)相互作用。

[0077] 本发明还提供了包括一个或多个CD40L-特异性Tn3单体的多肽,单体包括但不限于在此描述的血清白蛋白融合物。

[0078] 本发明还提供了编码CD40L-特异性Tn3支架的分离的核酸分子、包括编码CD40L-特异性Tn3支架的核酸分子的表达载体、以及包括这样的载体的宿主细胞。本发明还提供了一种生产Tn3支架的方法,该方法包括在表达由该核酸分子编码的CD40L-特异性Tn3支架的条件下培养该宿主细胞。

[0079] 本发明还提供了一种药物组合物,该药物组合物包括一种CD40L-特异性Tn3支架以及一种药学上可接受的赋形剂。本发明还提供了一种预防、治疗、缓解、或控制一位对其有需要的患者的自身免疫性疾病的方法,该方法包括给予一个有效量的包括CD40L-特异性Tn3支架的药物组合物。

[0080] 本发明还提供了一种减少向一位患有自身免疫性疾病的患者给予的皮质类固醇的频率或数量的方法,该方法包括向这位患者给予一个治疗有效量的包括 CD40L-特异性Tn3支架的药物组合物。

[0081] 通过给予CD40L-特异性Tn3支架治疗的自身免疫性疾病可以是斑秃、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、自身免疫性爱迪生氏病、肾上腺的自身免疫性疾病、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性卵巢炎和睾丸炎、舍格伦综合征(Sjogren's syndrome)、银屑病、动脉硬化、糖尿病的和其视网膜病、晶体后纤维增生症、与年龄相关的黄斑变性、新生血管性青光眼、血管瘤、甲状腺增生(包括格雷夫斯病(Grave's disease))、角膜等组织移植、和慢性炎症、脓毒病、类风湿关节炎、腹膜炎、克罗恩病(Crohn's disease)、再灌注损伤、败血症、内毒素休克、囊性纤维化、心内膜炎、银屑病、关节炎(例如银屑病性关节炎)、过敏性休克、器官缺血、再灌注损伤、脊髓损伤和同种异体移植排斥、自身免疫性血小板减少症、白塞氏病(Behcet's disease)、大疱性类天疱疮、心肌病、口炎性腹泻-皮炎、慢性疲劳免疫功能失调综合征(CFIDS)、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病、变应性肉芽肿血管炎(Churg-Strauss syndrome)、瘢痕性类天疱疮、CREST综合征、冷凝集素病、克罗恩病、盘状狼疮、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、

肾小球肾炎、格雷夫斯病、格林-巴利 (Guillain-Barre)、桥本氏甲状腺炎、特发性肺纤维化、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、IgA 的神经病、幼年型关节炎、扁平苔藓、红斑狼疮、美尼尔氏病 (Meniere's disease)、混合性结缔组织病、多发性硬化、1 型或免疫介导的糖尿病、重症肌无力、寻常性天疱疮、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、多肌炎和皮肌炎、原发性丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、银屑病性关节炎、Raynauld 氏现象、莱特尔氏综合征 (Reiter's syndrome)、类风湿关节炎、结节病、硬皮病、舍格伦综合征、僵人综合征、系统性红斑狼疮、红斑狼疮、多发性大动脉炎、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎如疱疹样皮炎性血管炎、白癜风和韦格纳氏肉芽肿病。

[0082] 在一些特定实施例中,通过给予 CD40L-特异性 Tn3 支架治疗的自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮 (SLE)。

[0083] 用 CD40L-特异性 Tn3 支架治疗的方法可以进一步包括一种额外的疗法,例如免疫疗法、生物疗法、化学疗法、放射疗法、或小分子药物疗法。

[0084] 本发明还提供了一种蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括与可溶性 CD40L (SEQ ID NO:2) 处于复合物形式的由 SEQ ID NO:20 组成的 Tn3 支架,其中该晶体具有 $a = 85.69 \text{ \AA}$ 、 $b = 90.64 \text{ \AA}$ 、 $c = 95.56 \text{ \AA}$ 的 $P2_12_12_1$ 正交晶空间群和晶胞大小的晶格, $\pm 0.1\%$ 。在一些实施例中,该晶体的不对称单位包括一个 CD40L 的三聚物和三个分子的 Tn3 支架。在其他实施例中,用于确定结构的晶体衍射 X 射线与等于或小于 $3.2 \text{ \AA}$ 的值的分辨率相配。

[0085] 本发明还提供了一种蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括与可溶性 CD40L (SEQ ID NO:2) 处于复合物形式的由 SEQ ID NO:68 组成的 Tn3 支架,其中该晶体具有 $a = b = c = 97.62 \text{ \AA}$ 的 $P2_13$ 立方空间群和晶胞大小的晶格, $\pm 0.1\%$ 。在一些实施例中,该晶体的不对称单位包括一个 CD40L 分子和一个 Tn3 支架分子。在其他实施例中,用于确定结构的晶体衍射 X 射线与等于或小于 $2.7 \text{ \AA}$ 的值的分辨率相配。

[0086] 本发明还提供了一种蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括与可溶性 CD40L (SEQ ID NO:2) 处于复合物形式的由 SEQ ID NO:28 或 146 组成的 Tn3 支架,其中该晶体具有 $a = 95.53 \text{ \AA}$ 、 $b = 93.53 \text{ \AA}$ 、 $c = 66.69 \text{ \AA}$ 的 $P321$ 空间群和晶胞大小的晶格, $\pm 0.1\%$ 。在一些实施例中,该晶体的不对称单位包括一个 CD40L 分子和一个 Tn3 支架分子。在其他实施例中,用于确定结构的晶体衍射 X 射线与等于或小于 $2.8 \text{ \AA}$ 的值的分辨率相配。

[0087] 本发明还提供了一种蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括两个不同的与可溶性 CD40L (SEQ ID NO:2) 处于复合物形式的由 SEQ ID NO:68 和 SEQ ID NO:28 或 146 组成的 Tn3 支架,其中该晶体具有 $a = 80.32 \text{ \AA}$ 、 $b = 143.48 \text{ \AA}$ 、 $c = 111.27 \text{ \AA}$ 、 $\beta = 98.22 \text{ \AA}$ 的 $P2_1$ 立体空间群和晶胞大小的晶格, $\pm 0.1\%$ 。在一些实施例中,该晶体的不对称单位包括两个 CD40L 三聚物和六个 Tn3 支架分子。在其他实施例中,用于确定结构的晶体衍射 X 射线与等于或小于 $1.9 \text{ \AA}$ 的值的分辨率相配。

[0088] 在一些实施例中,通过使用沉滴法蒸汽扩散 (sitting-drop vapor diffusion) 产生该蛋白质晶体。本发明还提供了一种制造蛋白质晶体的方法,该方法包括: (a) 将一体

积的包括与CD40L处于复合物形式的Tn3支架(该Tn3支架包括一个 CD40L-特异性单体亚单位)溶液与一体积的包括一种沉淀剂的储蓄液混合;并且 (b) 在适于结晶的条件下,在一个密闭容器中孵育在(a)步骤中获得的混合物,直到形成该蛋白质晶体。在一些实施例中,用于生产该蛋白质晶体的方法包括使用沉滴法蒸汽扩散。

[0089] 在一些实施例中,使用用来制造蛋白质晶体的方法来生产包括SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:68或SEQ ID NO:146的CD40L-特异性 Tn3单体亚单位的晶体。

[0090] 本发明还提供了一种机器可读的数据存储介质,该存储介质包括一个由机器可读的指令编码的数据存储材料,用于:(a) 将数据转化为一种Tn3支架的蛋白质晶体的部分的结构的图形化的三维表示,该Tn3支架包括一个与CD40L复合的CD40L-特异性单体亚单位;以及(b) 引起展示所述图形化的三维表示。在一些实施例中,这样的Tn3支架包括SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO: 68或SEQ ID NO:146。在其他实施例中,这样的蛋白质晶体是:

[0091] (a) 以下蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括与可溶性CD40L (SEQ ID NO: 2) 处于复合物形式的由SEQ ID NO: 20组成的Tn3支架,其中该晶体具有 $a = 85.69 \text{ \AA}$ 、 $b = 90.64 \text{ \AA}$ 、 $c = 95.56 \text{ \AA}$ 的 $P2_12_12_1$ 正交晶空间群和晶胞大小的晶格, $\pm 0.1\%$;

[0092] (b) 以下蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括与可溶性CD40L (SEQ ID NO: 2) 处于复合物形式的由SEQ ID NO:68组成的Tn3支架,其中该晶体具有 $a = b = c = 97.62 \text{ \AA}$ 的 $P2_13$ 立方空间群和晶胞大小的晶格, $\pm 0.1\%$;或

[0093] (c) 以下蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括一个由SEQ ID NO:20组成的 Tn3支架以及一个由SEQ ID NO:68组成的Tn3支架,其中两个Tn3支架都与可溶性CD40L (SEQ ID NO:2) 处于复合物形式

[0094] (d) 以下蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括与可溶性CD40L (SEQ ID NO: 2) 处于复合物形式的由SEQ ID NO: 28或146组成的Tn3支架,其中该晶体具有 $a = 95.53 \text{ \AA}$ 、 $b = 93.53 \text{ \AA}$ 、 $c = 66.69 \text{ \AA}$ 的 $P321$ 空间群和晶胞大小的晶格, $\pm 0.1\%$

[0095] (e) 以下蛋白质晶体,该蛋白质晶体包括两个不同的与可溶性CD40L (SEQ ID NO: 2) 处于复合物形式的由SEQ ID NO:68和SEQ ID NO:28或146 组成的Tn3支架,其中该晶体具有 $a = 80.32 \text{ \AA}$ 、 $b = 143.48 \text{ \AA}$ 、 $c = 111.27 \text{ \AA}$ 、 $\beta = 98.22 \text{ \AA}$ 的 $P2_1$ 立体空间群和晶胞大小的晶格, $\pm 0.1\%$ 。

[0096] 附图简要说明

[0097] 为阐明本发明,在附图中描绘了本发明的某些实施例。然而,并不将本发明限制于图中描绘的实施例的精确安排和机构。

[0098] 图1A示出了使用D10G4.1/PBMC(外周血单核细胞)测定测量的鼠CD40L (MuCD40L) - 诱导的CD86表达的抑制。测定了M13小鼠CD40L-特异性 Tn3支架、其M31亲和力和优化的变体(约20x亲和力和改善)、抗-CD40L MR1单克隆抗体、以及阴性对照。还示出了 IC_{50} 值。

[0099] 图1B示出了鼠Nf κ B测定中的CD40L抑制。该测定使用表达鼠CD40R 并且包含Nf κ B-荧光素酶报告基因构建体的NIHT3T细胞。添加CD40L导致由MR1 抗-CD40L抗体和由M31CD40L-特异性Tn3支架两者抑制的信号传导(通过荧光素酶活性测量)。

[0100] 图2A示出了CD40L-特异性串联二价的Tn3支架和血清白蛋白(SA) 融合构建体的

设计。

[0101] 图2B示出了纯化的单价M13构建体 (CD40L-特异性Tn3构建体)、或具有包含1个、3个、5个或7个与两个M13Tn3单体亚单位连接的Gly₄Ser单位 (被表示为GS) 的接头的串联二价支架的SDS-PAGE分析。单价M13构建体在泳道2跑胶,具有1GS单位 (C1) 的二聚构建体在泳道3和7跑胶,具有3GS 单位 (C2) 的二聚构建体在泳道4和8跑胶,具有5GS单位 (C3) 的二聚构建体在泳道5和9跑胶,并且具有7GS单位 (C4) 的二聚构建体在泳道6和10跑胶。使样品在非还原条件 (泳道2-6) 或还原条件 (泳道7-10) 下跑胶。

[0102] 图2C示出了鼠CD40L-特异性单价的 (M13) 或二价的串联支架 (M13-xGS-M13, 其中x是1、3、5或7, 对应于具有包含1个、3个、5个或7 个Gly₄Ser单位的接头的二价支架) 对鼠CD40L与固定于生物传感器芯片上的鼠 CD40受体的结合的竞争性抑制。还指示了针对不同构建体的半最大抑制浓度 (IC₅₀)。

[0103] 图2D示出了鼠CD40L-特异性Tn3单价的 (M13) 和二价的串联支架对 B细胞上的鼠CD40L-诱导的CD86表达的抑制作用。提供了针对所有Tn3构建体和针对MR1抗-鼠CD40L抗体的IC₅₀值。

[0104] 图3A示出了融合至小鼠血清白蛋白 (MSA) 的鼠CD40L-特异性串联的二价Tn3支架在HEK 293细胞中的高表达水平。这些构建体在接头中的Tn3支架单位之间具有1个 (G₄S) 重复并且在接头中的Tn3支架与MSA之间具有3个 (G₄S) 重复。另外,该构建体在M13和M31支架中的每个中包含一个N49Q突变,以除去潜在的N-联糖基化位点。使转染后第3天或第6天取的10μl培养上清液连同已知量的纯化的蛋白质一起在SDS-PAGE凝胶上跑胶。在转染后第6天估算表达水平为200mg/l。通过C端组氨酸标签 (C-terminal His-tag) 经由IMAC进行纯化。

[0105] 图3B示出了使用D10G4.1/PBMC细胞测定测量的鼠CD40L (MuCD40L) -诱导的CD86表达的抑制。测定了CD40L-特异性串联二价Tn3支架 (M13-1GS-M13)、融合至小鼠血清白蛋白 (MSA) 的同一构建体 (M13-1GS-M13-MSA)、以及MR1抗-鼠CD40L单克隆抗体。提供了针对所有构建体的IC₅₀值。

[0106] 图3C示出了使用D10G4.1/PBMC细胞测定测量的鼠CD40L (MuCD40L) -诱导的CD86表达的抑制。测定了融合至小鼠血清白蛋白 (MSA) 的CD40L-特异性串联二价Tn3支架 (M13-1GS-M13) (M13-1GS-M13-MSA)、共轭至MSA的M13支架的亲和力成熟的变体 (M31单价-MSA)、包括共轭至 MSA的M31亲和力优化的变体的串联二价支架 (M31-1GS-M31-MSA)、不结合小鼠CD40L的阴性对照串联二价支架 (D1-1GS-D1-MSA)、以及MR1单克隆抗体。提供了IC₅₀值。

[0107] 图4A示出了如通过ELISA确定的小鼠中的若干鼠CD40L特异性构建体的药代动力学。还指示了针对每个构建体的血浆半衰期 (t_{1/2}) 值。

[0108] 图4B示出了如通过ELISA确定的食蟹猴中的人类CD40L特异性 342-HSA和包括在位置463处的Leu被Asn取代 (L463N) 和在位置524处的Lys 被Leu取代 (K524L) 的342-HSA变体的药代动力学。

[0109] 图5A示出了来自绵羊红细胞 (SRBC) 免疫测定的生发中心 (GC) 中的B细胞成熟。测定了MR1单克隆抗-鼠CD40L抗体。

[0110] 图5B示出了来自绵羊红细胞 (SRBC) 免疫测定的生发中心 (GC) 中的B细胞成熟。测定了融合至MSA的M31-衍生的单价的和二价的构建体。将共轭至MSA的D1-D1二价构建体用

作阴性对照。

[0111] 图5C示出了来自绵羊红细胞 (SRBC) 免疫测定的外围 (非GC) 中的 B细胞成熟。测定了融合至MSA的M31-衍生的单价的和二价的构建体。将共轭至MSA的D1-D1二价构建体用作阴性对照。

[0112] 图5D示出了来自绵羊红细胞 (SRBC) 免疫测定的CD4阳性细胞的百分比 (%CD4) 和数目 (#CD4)。测定了融合至MSA的M31-衍生的单价的和二价的构建体、以及MR1抗-CD40L单克隆抗体。将共轭至MSA的D1-D1二价构建体用作阴性对照。

[0113] 图5E示出了来自绵羊红细胞 (SRBC) 免疫测定的CD44hi阳性细胞的百分比 (%CD44hi) 和数目 (#CD44hi)。测定了融合至MSA的M31-衍生的单价的和二价的构建体、以及MR1抗-CD40L单克隆抗体。将共轭至MSA的D1-D1二价构建体用作阴性对照。

[0114] 图5F示出了来自绵羊红细胞 (SRBC) 免疫测定的抗-SRBC IgG的量。测定了融合至MSA的M31-衍生的单价的和二价的构建体。将共轭至MSA的D1-D1二价构建体用作阴性对照。

[0115] 图5G示出了来自KLH-特异性T细胞依赖型抗体应答 (TDAR) 模型的抗-KLH IgM滴度。测定了融合至HSA的342-衍生的单价的和二价的构建体。

[0116] 图5H示出了来自KLH-特异性T细胞依赖型抗体应答 (TDAR) 模型的抗-KLH IgG滴度。测定了融合至HSA的342-衍生的单价的和二价的构建体。

[0117] 图6A示出了人类CD40L-特异性单价Tn3单体支架309和311对用Jurkat D1.1细胞刺激的CD19阳性人类PBMC上的人类CD40L-诱导的CD86表达的抑制作用。

[0118] 图6B示出了人类CD40L-特异性单价Tn3单体支架309和311对人类CD40L-刺激的B-细胞增殖的抑制作用。

[0119] 图6C示出了人类CD40L-特异性单价Tn3单体支架309和311对T/B 细胞共培养中的浆细胞数目的抑制作用。通过FACS还示出Tn3支架309结合激活的初始T细胞 (数据未示出)。将D1支架 (“阴性Tn3”) 用作对照。还将被指定为aCD40L (RE) 和aCD40L (Bio) 的两个抗CD40L的单克隆抗体 (生源体的5c8抗-人类CD40L单克隆抗体) 用作对照。

[0120] 图7A示出人类CD40L-特异性单价Tn3支架309和311具有相似的生物物理学特征。如通过SEC测量的, 两种支架都是单分散的。

[0121] 图7B示出人类CD40L-特异性单价Tn3支架309和311具有相似的生物物理学特征。如通过差示扫描量热法 (DSC) 所确定的, 两种支架都与亲本Tn3 支架 (在曲线图中被指定为Tn3 (野生型)) 具有相似的热稳定性。

[0122] 图8A示出了人类CD40L-诱导的CD86表达在用Jurkat D1.1细胞刺激的CD19阳性人类PBMC上的抑制。测定了单价的 (311) 和二价的 (311_3GS和 311_7GS) 人类CD40L-特异性Tn3支架。示出了针对每个构建体的IC₅₀值。

[0123] 图8B示出了人类CD40L-诱导的CD86表达在用Jurkat D1.1细胞刺激的CD19阳性人类PBMC上的抑制。测定了单价的 (309) 和二价的 (309_3GS和309_7GS) 人类CD40L-特异性Tn3支架、以及生源体的5c8抗-人类CD40L单克隆抗体。示出了针对每个构建体和抗体的IC₅₀值。

[0124] 图9A示出了融合至人血清清蛋白 (HSA) 的代表性人类CD40L-特异性串联二价Tn3支架的设计。“GGGGG” (SEQ ID NO:148) 和“GGGGA” (SEQ ID NO:149) 是“GGGGS” (SEQ ID NO:

147) 接头的替代接头。

[0125] 图9B示出了来自经过IEX柱的293F细胞的测试纯化。肩部部分(<10%的主峰)包含连接至存在于接头中的丝氨酸参加的O-糖基化蛋白。

[0126] 图9C示出了人类CD40L-诱导的CD86表达在用Jurkat D1.1细胞刺激的 CD19阳性人类PBMC上的抑制。测定了二价的(309)人类CD40L-特异性Tn3 支架、融合至HSA的同一支架,以及生源体的5c8抗-人类CD40L单克隆抗体。

[0127] 图9D示出了人类CD40L-诱导的CD86表达在用Jurkat D1.1细胞刺激的 CD19阳性人类PBMC上的抑制。测试了三个二价的(309)人类CD40L-特异性 Tn3支架。在接头的人类CD40L-特异性亚单位之间存在三个(G₄S)重复(在这个实例中的309),而在该接头的309亚单位与HSA之间的重复在1个至3个(G₄S)变化。还测定了生源体的5c8抗-人类CD40L单克隆抗体。

[0128] 图10A示出了309(左图)和311(右图)的突变的环序列对CD40L结合的影响。结合指示结合测定中的信号强度。WT是具有原始的前导序列(亲本 Tn3序列)的变体,而BC、DE和FG表示其中BC、DE、或FG环序列已经相对于如存在于人类生腱蛋白C中的亲本Tn3序列被改变的变体。

[0129] 图10B示出了如通过在用Jurkat D1.1细胞刺激的CD19阳性人类PBMC 上的人类CD40L-诱导的CD86表达所测量的,亲和力优化的支架的图的抑制曲线。人类CD40L-特异性Tn3克隆309单体是亲和力优化的。将亲和力优化的单体指定为克隆340至克隆349。克隆309wtFG构建体的整个FG环被亲本Tn3支架的FG 环所替代。还测定了5c8抗-CD40L单克隆抗体。

[0130] 图10C示出了如通过在用Jurkat D1.1细胞刺激的CD19阳性人类PBMC 上的人类CD40L-诱导的CD86表达所测量的的抑制曲线。示出了人类CD40L-特异性Tn3 311单体、其K4E变体、以及阴性对照的曲线。

[0131] 图10D示出了如通过在用Jurkat D1.1细胞刺激的CD19阳性人类PBMC 上的人类CD40L-诱导的CD86表达所测量的的抑制曲线。示出了人类CD40L-特异性Tn3 311K4E单体、亲和力优化的311K4E_12单体、以及5c8抗-CD40L单克隆抗体的曲线。还呈现了两个构建体和该抗体的IC₅₀。

[0132] 图11A和图11B示出了亲本的CD40L-特异性Tn3支架309、309FGwt 变体、以及亲和力优化的变体340至349的多重序列比对。在图11A中示出了氨基酸残基1至42,并且在图11B中示出了氨基酸残基43至83。变体环被着色。在多重序列比对下呈现了共有区氨基酸序列。比对的序列对应于Tn3支架克隆309 (SEQ ID NO:20)、309FGwt (SEQ ID NO:22)、340 (SEQ ID NO:24)、341 (SEQ ID NO:26)、342 (SEQ ID NO:28)、343 (SEQ ID NO:30)、344 (SEQ ID NO:32)、345 (SEQ ID NO:34)、346 (SEQ ID NO:36)、347 (SEQ ID NO: 38)、348 (SEQ ID NO: 40)、以及349 (SEQ ID NO:42)的氨基酸序列。

[0133] 图12A和图12B示出了亲本的CD40L-特异性Tn3支架311、311K4E 变体、以及亲和力优化的变体311K4E_1至311K4E_21的多重序列比对。在图12A 中示出了氨基酸残基1至44,并且在图12B中示出了氨基酸残基45至87。变体环被着色。在阴影环以外的氨基酸变化被加框。在多重序列比对下呈现了共有区氨基酸序列。比对的序列对应于Tn3支架克隆311 (SEQ ID NO:44)、311K4E (SEQ ID NO:46)、311K4E_1 (SEQ ID NO:48)、311K4E_2 (SEQ ID NO:50)、

311K4E_2 (SEQ ID NO:52)、311K4E_3 (SEQ ID NO:54)、311K4E_4 (SEQ ID NO:56)、311K4E_5 (SEQ ID NO:58)、311K4E_7 (SEQ ID NO:60)、311K4E_8 (SEQ ID NO:62)、311K4E_9 (SEQ ID NO:64)、311K4E_10 (SEQ ID NO:66)、311K4E_11 (SEQ ID NO:68)、311K4E_12 (SEQ ID NO:70)、311K4E_13 (SEQ ID NO:72)、311K4E_14 (SEQ ID NO:74)、311K4E_15 (SEQ ID NO:76)、311K4E_16 (SEQ ID NO:78)、311K4E_19 (SEQ ID NO:80)、311K4E_20 (SEQ ID NO:82)、以及311K4E_21 (SEQ ID NO:84)的氨基酸序列。

[0134] 图13示出了使用表达人类CD40受体并且包含NfκB-荧光素酶报告基因构建体的HEK293细胞的人类NfκB抑制抑制。添加人类CD40L导致可以通过CD40L结合分子抑制的信号传导(通过荧光素酶活性测量)。测定了CD40L-特异性Tn3支架340和342、连同5c8抗-CD40L单克隆抗体。

[0135] 图14示出了人类CD40L-特异性Tn3支架与24h抗-CD3/28激活的人类CD4⁺ T细胞的结合。测定了融合至HSA的单价342支架(被指定为342-HSA)以及融合至HSA的二价342支架(被指定为342-342-HSA)。

[0136] 图15示出了初始人类T/B细胞增殖在第3天的抑制。测定了融合至HSA的单价340支架(340-HSA)、融合至HSA的单价342支架(342-HSA)、以及融合至HSA的二价342支架(342-342-HSA)。示出了针对每个构建体的IC₅₀值。

[0137] 图16A示出了在洗涤过的血小板上的凝集测定。该突变示出了针对供体(前三个轨迹,分别为ADP:0.5μM、1μM、和2μM)连同5c8单克隆抗体(600 nM)和可溶性人类CD40L(200nM)的免疫复合物(IC)的代表性ADP诱导的凝集阳性对照。

[0138] 图16B示出了在洗涤过的血小板上的凝集测定。该图表示出了当使用309-309二价支架(未融合至HSA)和可溶性人类CD40L的预成型的免疫复合物时凝集的缺乏。人类CD40L(可溶态)的浓度恒定保持在600nM并且支架构建体的浓度从200nM至800nM变化。

[0139] 图16C示出了在洗涤过的血小板上的凝集测定。该图表示出了当使用融合至HSA的342单价支架和可溶性人类CD40L的预成型的免疫复合物时凝集的缺乏。人类CD40L(可溶态)的浓度恒定保持在600nM并且支架构建体的浓度从100nM至400nM变化。该图表还示出了由生源体5c8单克隆抗体和可溶性人类CD40L的免疫复合物诱导的迅速凝集。

[0140] 图17A示出了与CD40L-特异性Tn3 309单体支架处于复合物形式的可溶性CD40L的晶体结构的带状表现。CD40L形成一个三聚物(多肽A、B和C)。每个309支架(多肽D、E和F,画圈的)都与两个CD40L多肽接触。列出了每个309支架与第一和第二CD40L多肽之间的特异性接触。这是该结构的“自上而下的”视图。

[0141] 图17B示出了与CD40L-特异性Tn3 311K4E_12单体支架处于复合物形式的可溶性CD40L的晶体结构的带状表现。CD40L形成一个三聚物(多肽A、B和C)。每个311K4E_12单体支架(多肽D、E和F,画圈的)都与两个CD40L多肽接触。列出了每个311K4E_12单体支架与第一和第二CD40L多肽之间的特异性接触。这是该结构的“自上而下的”视图。

[0142] 图17C示出了一个带状表现,该带状表现说明311K4E_12和309支架(画圈的)与位于CD40L三聚物复合物的不同部分的不同的表位结合。两个支架都结合在将与CD40受体相互作用的同一沟中。这是该结构的“侧”视图。

[0143] 图17D示出了与CD40L-特异性Tn3 342单体支架处于复合物形式的可溶性CD40L的晶体结构的带状表现。只示出了一个CD40L和一个342单体支架。列出了342单体支架与第一

CD40L多肽之间的特异性接触。

[0144] 图17E示出了一个带状表现,该带状表现说明342和311K4E_12支架同时与位于CD40L三聚物复合物的不同部分的不同的表位结合。两个支架都结合在将与CD40受体相互作用的同一沟中。这是该结构的“侧”视图。

[0145] 图18A示出了如在图17A中所示的CD40L-特异性Tn3 311K4E_12单体支架(SEQ ID NO:68)中的氨基酸与由可溶性CD40L(SEQ ID NO:2)分子形成的三聚物之间的接触位置。每个支架都与2个CD40L分子接触。示出了CD40L序列(SEQ ID NO:2)。虚线的下划线=胞质结构域;实线的下划线=信号锚定II型膜蛋白;双下划线=与Tn3支架共结晶的部分;深色阴影=与Tn3接触的第一CD40L上的残基;浅色阴影=与Tn3接触的第二CD40L上的残基。

[0146] 图18B示出了如在图17B中所示的CD40L-特异性Tn3 309单体支架中的氨基酸与CD40L三聚物之间的接触的位置。每个支架都与2个CD40L分子接触。示出了CD40L序列(SEQ ID NO:2)。虚线的下划线=胞质结构域;实线的下划线=信号锚定II型膜蛋白;双下划线=与Tn3支架共结晶的部分;深色阴影=与Tn3接触的第一CD40L上的残基;浅色阴影=与Tn3接触的第二CD40L上的残基;加双框的残基与309支架的FG环接触,该残基似乎未被保存在具有野生型FG环的克隆中。

[0147] 图19。图A示出了将Tn3支架(309或311K4E_12)、CD40L以及它们之间的复合物从尺寸排阻Superdex 200 10/300GL柱洗脱的示例性色谱图。图B示出了309-CD40L复合物的晶体。示出晶体长到高达 $0.15 \times 0.15 \times 0.1\text{mm}$ 的大小。图C示出了311K4E_12-CD40L复合物的晶体。

[0148] 本发明的详细说明

[0149] 定义

[0150] 在详细描述本发明之前,应当理解的是,本发明并不局限于特定的组合物或工艺步骤,因为这些组合物或工艺步骤同样可以改变。必须注意的是,除非上下文中以另外的方式清楚地指出,如在本说明书及所附权利要求中所使用的单数形式“一种/一位”、“一个”和“该”包括复数指示物。因此,术语“一个”(或“一种”)、以及术语“一个或多个(一种或多种)”和“至少一个”在此可互换地使用。

[0151] 此外,与或不与另一者一起,“和/或”被看作是这两种特定的特征或组分中的每种的特定的披露。因此,如在此在词组例如“A和/或B”中所使用的术语“和/或”旨在包括“A和B”、“A或B”、“A(单独的)”以及“B(单独的)”。同样,如在词组例如“A、B、和/或C”中所使用的术语“和/或”旨在涵盖以下实施例中的每个:A、B、和C;A、B、或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独的);B(单独的);以及C(单独的)。

[0152] 除非另外定义,在此所使用的所有技术和科学术语具有与本发明涉及的本领域所属的技术人员通常所理解的相同的意义。例如,the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology(《生物医学与分子生物学简明词典》),Juo, Pei-Show,第二版,2002,CRC出版社;The Dictionary of Cell and Molecular Biology(《细胞与分子生物学词典》),第三版,1999,学术出版社(Academic Press);以及the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology(《生物化学与分子生物学牛津词典》),修订版,2000,牛津大学出版社(Oxford University Press)为技术人员提供了在本发明中使用的许多术语的常用词典。

[0153] 单位、前缀、以及符号被表示为其Système International de Unites (SI) 接受的形式。数值范围将定义该范围的数字包括在内。除非另外指明,将氨基酸序列以氨基至羧基方向从左至右书写。在此提供的标题并非限制本发明的不同方面或实施例,这些可以参考本说明书作为一个整体而具有。因此,下面立即定义的这些术语参考本说明书以其整体被更加充分地定义。

[0154] 应当理解,当用语言“包括”来说明实施例时,还提供了就“由……组成”和/或“主要由……组成”而言所说明的其他类似实施例。

[0155] 在此的氨基酸通过它们的通常已知的三字母符号或通过由IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission (IUPAC-IUB生物化学命名委员会)推荐的单字母符号而被提及。同样,核苷酸通过它们的普遍公认的单字母代码而被提及。

[0156] 如在此使用,术语“表位”是指能够与本发明的支架结合的蛋白质决定簇。表位通常由分子(例如氨基酸或糖侧链)的化学活性表面基团组成并且通常具有特定的三维结构特征、连同特定的电荷特征。构象和非构象表位的区别在于:在变性溶剂的存在下,与前者(而不是后者)的结合消失。

[0157] 术语“纤连蛋白III型(FnIII)结构域”、“FnIII结构域”以及“FnIII 支架”是指与人类纤连蛋白III型结构域同源的多肽,上述结构域具有至少7个分布于两个 β 片层之间的 β 链并且进一步包含被暴露至溶剂的环,这些 β 片层自身互相抵靠包装以形成该蛋白质的核心,这些环将 β 链彼此连接。在 β 片层夹层的每个边缘处存在至少三个这样的环,其中边缘是垂直于 β 链的方向的蛋白质的边界。在某些实施例中,FnIII结构域包括7个连接至六个被指定为AB、BC、CD、DE、EF、以及FG的环区的被指定为A、B、C、D、E、F、以及G的 β 链,其中一个环区与每个 β 链都连接。

[0158] 在此使用的术语“Tn3支架”是指包括至少一个FnIII支架的分子,其中 A β 链包括SEQ ID NO:11,B β 链包括SEQ ID NO:12,C β 链包括SEQ ID NO: 13或14,D β 链包括SEQ ID NO:15,E β 链包括SEQ ID NO:16,F β 链包括SEQ ID NO:17,并且 β 链G包括SEQ ID NO:18,其中至少一个环是“亲本Tn3支架”中的环的非天然发生的变体。在某些实施例中,Tn3分子的一个或多个 β 链包括至少一个氨基酸取代,除了在C β 链中的半胱氨酸残基(例如,在SEQ ID NO: 13或14中的半胱氨酸)和F β 链(SEQ ID NO:17)不被取代以外。

[0159] 如在此使用,术语“亲本Tn3”是指包括SEQ ID NO:3的FnIII支架,即衍生自人类生腱蛋白C的第三FnIII结构域的热稳定化的半胱氨酸工程化的FnIII 支架。

[0160] 术语“多聚体”或“多聚支架”是指一种包括至少两个关联的FnIII支架的分子。形成多聚支架的支架可以通过一个接头被连接,该接头允许每个支架独立地发挥作用。

[0161] 术语“单体”、“单体亚单位”或“单体支架”是指一种只包括一个FnIII 支架的分子。

[0162] 如在此使用,术语“CD40L-特异性单体亚单位”是指衍生自“亲本Tn3”的Tn3单体,其中该Tn3与CD40L或其片段(例如,CD40L的可溶态)特异性结合。

[0163] 术语“DNA”是指两个或更多个共价结合的天然发生的或修饰的脱氧核糖核苷酸的序列。

[0164] 术语“融合蛋白”是指一种包括(i)本发明的一个或多个连接至(ii)一个第二不同的蛋白质(即,“异源”蛋白质)的支架的蛋白质。

[0165] 表1:“亲本Tn3”的组分的序列和SEQ ID NO

[0166]

名称/简要说明	序列	SEQ ID NO
---------	----	-----------

[0167]

Tn3	IEVKDVTDTTALITWFKPL AEIDG <u>C</u> ELTYGIKDVPGDRTTI DLTEDENQYSIGNLKPDTEYE VSLIC <u>R</u> RGDMSSNPAKETFTT (二硫键的 cys 残基被加下划线)	3
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, AB 环 (Tn3)	KDVTDDT	4
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, BC 环 (Tn3)	FKPLAEIDG	5
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, CD 环 (Tn3)	KDVPGDR	6
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, DE 环 (Tn3)	TEDENQ	7
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, EF 环 (Tn3)	GNLKPDTE	8
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, FG 环 (Tn3)	RRGDMSSNPA	9
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 A (Tn3)	RLDAPSQIEV	10
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 A (Tn3) N-terminal truncation	IEV	11
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 B (Tn3)	ALITW	12
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 C (Tn3 变体)	CELAYGI	13
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 C (Tn3)	CELTYGI	14
生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 D	TTIDL	15

[0168]	(Tn3)		5
	生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 E	YSI	1
	(Tn3)		6
	生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 F	YEVSLIC	1
	(Tn3)		7
	生腱蛋白 C 的第三 FnIII, β 链 G	KETFTT	1
	(Tn3)		8

[0169] 在此使用术语“异源部分”来指示向本发明的Tn3支架中添加一种组合物,其中该组合物正常地不是FnIII结构域的部分。示例性异源部分包括蛋白质、肽、蛋白质结构域、接头、药物、毒素、显像剂、放射性化合物、有机和无机聚合物、以及任何其他可以提供不是该FnIII结构域自身固有的活性的组合物,这些其他组分包括但不限于聚乙二醇(PEG)、细胞毒剂、放射性核素、显像剂、生物素、二聚体化结构域(例如亮氨酸拉链结构域)、人血清白蛋白(HSA)或其FcRn 结合部分、抗体的结构域或片段(例如,抗体可变结构域、CH1结构域、C κ 结构域、C λ 结构域、CH2、CH3结构域)、单链抗体、结构域抗体、白蛋白结合结构域、IgG分子、酶、配体、受体、结合肽、非-FnIII支架、表位标签、重组多肽聚合物、细胞因子、以及类似物。

[0170] 如在此使用,术语“接头”是指任何连接(join)或连接(connect)两个或更多个支架的分子组件。接头可以是其功能是在支架中的模块之间充当“间隔子”的分子,或者它还可以是一种具有额外的功能的分子(即,“功能部分”)。包括在“异源部分”的定义中的分子也可以作为接头而发挥作用。

[0171] 术语“被连接”和“被融合”可互换地使用。这些术语是指通过包括化学耦联或重组手段的任何手段将两个或更多个支架、异源部分、或接头连接在一起。

[0172] 术语“结构域”或“蛋白质结构域”是指可以被折叠为稳定的三维结构(通常独立于该蛋白质的剩余部分)并且可以被赋予一种具体的功能的蛋白质的区域。这一结构维持与原始蛋白质内的结构域的功能相关的特定的功能,例如酶活性、用于另一个分子的识别基序的创建,或用来为蛋白质提供必需的结构组分,以在蛋白质的具体环境中存在。在一个蛋白质家族并且在相关蛋白质超家族中,蛋白质结构域可以是进化上保守的区域。当描述一种多聚支架的组分时,术语“结构域”、“单体支架”、“单体亚单位”、以及“模块”能可互换地使用。“天然FnIII结构域”意指由活有机体编码的任何非重组的FnIII结构域。

[0173] “蛋白质序列”或“氨基酸序列”意指以氨基末端至羧基末端方向的多肽中的氨基酸成分的线性表现,其中在该表现中彼此邻接的残基在该多肽的一级结构中是连续的。

[0174] 术语“核酸”是指任何两个或更多个共价结合的核苷酸或核苷酸类似物或衍生物。如在此使用,这一术语包括但不限于DNA、RNA、和PNA。“核酸”和“多核苷酸”在此可互换地使用。

[0175] 术语“多核苷酸”旨在包涵单数核酸连同复数核酸,并且是指一种分离的核酸分子或构建体,例如,信使RNA(mRNA)或质粒DNA(pDNA)。术语“分离的”核酸或多核苷酸是指已经从其天然环境中去除的核酸分子,即DNA或RNA。例如,出于本发明的目的,编码例如被包含在载体中的本发明的支架的重组多核苷酸被认为是分离的。分离的多核苷酸的另外实例包括维持在异源宿主细胞中的重组多核苷酸或溶液中的纯化(部分地或基本上)多核苷酸。分离的RNA分子包括本发明的多核苷酸的体内或体外RNA转录物。根据本发明,分离的多核苷

酸或核酸进一步包括合成产生的这类分子。此外,多核苷酸或核酸可以是或可以包括调控元件,例如启动子、核糖体结合位点、或转录终止子。

[0176] 术语“药学上可接受的”是指一种可以给予动物(例如,哺乳动物)而没有显著的有害的医学后果的化合物或蛋白质。

[0177] 术语“生理学上可接受的运载体”是指对被治疗的宿主不具有显著的不利影响并且保留与其一起给予的化合物的治疗特性的运载体。一个示例性的生理学上可接受的运载体是生理盐水。其他生理学上可接受的运载体及其配制品是本领域的普通技术人员已知的并且被描述于例如Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿氏药物科学), (第18版), 编辑A.Gennaro(热那罗), 1990, Mack Publishing Company(马克出版公司), 伊斯顿, 宾夕法尼亚州中, 将其通过引用结合在此。

[0178] “多肽”意指两个或更多个由酰胺键(肽键)线性连接的氨基酸的任何序列, 不管长度、翻译后修饰、或功能。“多肽”、“肽”、以及“蛋白质”在此可互换地使用。因此, 肽、二肽、三肽、或寡肽被包括在“多肽”的定义中, 并且术语“多肽”可以被任何这些术语代替使用或可以与其可互换地使用。术语“多肽”还旨在指多肽在表达后修饰的产物, 包括而不局限于糖基化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护/阻断基团来进行的衍生、蛋白水解裂解或通过非天然存在的氨基酸来进行的修饰。多肽可得自天然生物来源或通过重组技术来产生, 但是不必从一个指定的核酸序列翻译而来。多肽可以按任何方式、包括通过化学合成来产生。

[0179] 前述多肽的片段、衍生物、类似物、或变体, 及其任何组合也作为本发明的多肽被包括在内。变体可天然地存在或非天然地存在。非天然地存在的变体可以使用本领域已知的诱变技术来产生。变体多肽可以包括保守或非保守氨基酸取代、缺失、或添加。包含二十种标准氨基酸的一种或多种天然存在的氨基酸衍生物的那些肽也作为“衍生物”被包括在内。

[0180] “随机的”或“突变的”意指相对于模板序列, 包括一个或多个氨基酸改变(包括缺失、取代或添加)。“随机化”或“突变”意指向序列中引入这样的一种氨基酸改变的过程。随机化或突变可以通常通过核酸编码序列的蓄意的、盲目的、或自发的序列变异而完成, 并且可以通过任何技术而发生, 例如PCR、易错 PCR、或化学DNA合成。术语“随机化”、“随机的”、“突变”、“突变的”以及类似术语在此可互换地使用。

[0181] “同源的”或“同源的非突变的蛋白质”意指与变体蛋白质的序列相同, 除了向该变体蛋白质中引入的氨基酸突变以外, 其中该变体蛋白质被随机化或被突变。

[0182] “RNA”意指两个或更多个共价结合的天然发生的或修饰的核糖核苷酸的序列。被包括在这一术语内的改性的RNA的一个实例是硫代磷酸RNA。

[0183] 如在此使用, 术语“本发明的支架”或“本发明的多个支架”是指多聚 Tn3支架连同单体Tn3支架。术语“靶标”是指一种被本发明的特定支架识别的化合物。术语“靶标”和“抗原”在此可互换地使用。如在此使用, 例如在术语“特异性结合(specifically binds或specific binding)”中的术语“特异性”是指本发明的Tn3支架经由一个或多个抗原结合结构域与一个或多个抗原结合并且结合需要一些在一个或多个抗原结合结构域与一个或多个抗原之间的互补性的相对亲和力。根据这一定义, 当与本发明的Tn3支架将结合至随机的、不相关的表位相比, 该 Tn3支架更容易结合至某一表位时, 该Tn3支架被认为是“特异性

结合”至该表位。

[0184] “亲和力成熟的”支架是一种通常在环中具有一个或多个改变的支架,这导致与不拥有那些改变的亲本Tn3支架相比,该Tn3支架对表位的亲和力的改善。

[0185] 如在此使用,术语“亲和力”是指本发明的某一Tn3支架与单独的表位结合的强度的量度。

[0186] 如在此使用,术语“亲合性”是指在本发明的一个群体的Tn3支架与某一表位之间的复合物的总体稳定性,即多个Tn3支架与该抗原结合的功能上地复合强度。亲合性与具有特定表位的单独的抗原结合结构域的亲和力有关,并且还与本发明的支架的效价有关。

[0187] 术语“对靶标的作用”是指本发明的Tn3支架与一个或多个靶标的结合并且是指由这样的结合造成的生物效应。在这一方面中,在Tn3支架中的多个抗原结合单位可以与多种靶标和/或表位相互作用,并且例如使两个靶标物理地离得更近、通过与不同的靶标相互作用触发代谢级联、等。参见CD40L,“对靶标的作用”是指例如通过CD40L的一个或多个生物活性的增强、刺激或激活实现的作用。

[0188] 如在此使用,术语“效价”是指潜在的抗原结合模块的数目,例如在本发明的支架中的FnIII模块的数目。当本发明的Tn3支架包括多于一个抗原结合模块时,每个结合模块都可以与同一靶标或不同靶标中的同一表位或不同表位特异性结合。

[0189] 如在此使用,术语“二硫键”包括在两个硫原子之间形成的共价键。氨基酸半胱氨酸包含可以与第二硫醇基形成二硫键或二硫桥的硫醇基。

[0190] 术语“免疫球蛋白”和“抗体”包括不同宽泛种类的可以用生物化学方法区分的多肽。本领域的普通技术人员将理解的是,将重链归类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 、或 ϵ 。此链的性质是将抗体的“类别”相应地确定为IgG、IgM、IgA、IgG或IgE。技术人员可以容易地辨别这些种类中的每个的修改版本。如在此使用,术语“抗体”包括但不局限于完整的抗体、改性的抗体、抗体VL或VL结构域、CH1结构域、C κ 结构域、C λ 结构域、Fc结构域(参见以下)、CH2、或CH3结构域。

[0191] 如在此使用,术语“Fc结构域”结构域是指抗体恒定区的一部分。传统地,术语Fc结构域是指涵盖抗体的成对的CH2、CH3和铰链区的蛋白酶(例如木瓜蛋白酶)切割产物。在本披露的上下文中,术语Fc结构域或Fc是指包括免疫球蛋白多肽的所有CH2、CH3和铰链区或其一部分的任何多肽(或编码这样的多肽的核酸),不管产生手段。

[0192] 如在此使用,术语“改性的抗体”包括被改变这样使得它们不是天然发生的抗体的合成形式,例如包括至少两个重链部分但是不是两个完整的重链的抗体(作为例如结构域删除的抗体或迷你抗体(minibody));被改变以与两个或更多个抗原结合或与单一抗原的不同表位结合的抗体的多特异性(例如,双特异性的、三特异性的等)形式。此外,术语“改性的抗体”包括抗体的多价形式(例如,与同一抗原的三个或更多个拷贝结合的三价的、四价的等抗体)。(参见例如Antibody Engineering(抗体工程),Kontermann(坎特曼妮)&Dubel(迪贝尔),编辑,2010,Springer Protocols(斯普林格协议),斯普林格)。

[0193] 以其正常含义使用术语“体内半衰期”,即一种多肽的50%的生物活性仍存在于身体/靶器官中的时间,或该多肽的活性是其初始值的50%的时间。作为确定功能性体内半衰期的替代方案,可以确定“血清半衰期”,即在被清除之前50%的多肽分子在血浆或血流中循环的时间。确定血清半衰期通常比确定功能性体内半衰期更简单并且血清半衰期的量级通常是功能性体内半衰期的量级的一个好的指征。血清半衰期的替代术语包括“血浆半衰

期”、循环半衰期(circulating half-life)、循环半衰期(circulatory half-life)、血清清除率、血浆清除率、以及清除半衰期。有待保留的功能性正常地选自促凝血活性、蛋白水解活性、辅因子结合活性、受体结合活性、或与具体蛋白质相关的其他类型的生物活性。

[0194] 使用相对于功能性体内半衰期或血浆半衰期的术语“增加的”来指示如在可比较的条件下所确定的,相对于参考分子(例如未改性的多肽)的相关半衰期,该多肽的相关半衰期是统计学上显著增加的。

[0195] 使用相对于功能性体内半衰期或血浆半衰期的术语“减少的”来指示如在可比较的条件下所确定的,相对于参考分子(例如未改性的多肽)的相关半衰期,该多肽的相关半衰期是统计学上显著减少的。

[0196] 如在此使用,术语“表达”是指基因产生生物化学物质(例如本发明的支架或其片段)的过程。该过程包括基因在细胞内的功能性存在的任何表现,包括但不限于基因敲除和瞬态表达与稳定表达两者。它包括但不限于将该基因转录成一个或多个mRNA,和将这样的mRNA翻译成一个或多个多肽。如果最终所希望的产物是生物化学物质,那么表达包括所述生物化学物质和任何前体的产生。

[0197] “表达产物”可以是核酸,例如通过基因转录产生的信使RNA,或多肽。在此描述的表达产物进一步包括具有转录后修饰(例如多聚腺苷酸化)的核酸,或具有翻译后修饰(例如甲基化、糖基化、添加脂质、与其他蛋白质亚单位相关联、蛋白裂解等)的多肽。

[0198] 在此使用术语“载体”或“表达载体”来意指根据本发明用作媒介物以便将所希望的表达产物引入并且表达在宿主细胞中的载具。如本领域技术人员所已知,这类载体可以容易地选自下组,该组由以下各项组成:质粒、噬菌体、病毒、以及逆转录病毒。通常,适合于本发明的载体将包括选择标记物、促进所希望的核酸的克隆和进入和/或在真核或原核细胞中复制的能力的适当的限制位点。

[0199] 术语“宿主细胞”是指容纳使用重组DNA技术构建的并且编码至少一种表达产物的载体的细胞。在描述用于从重组宿主中分离表达产物的过程中,可互换地使用术语“细胞”和“细胞培养物”来表示该表达产物的来源,除非它被清楚地以另外的方式指定,即从“细胞”中回收该表达产物意指从旋降的全细胞中回收、或从包含培养基和悬浮的细胞两者的细胞培养物中回收。

[0200] 如在此使用,术语“治疗(treat)”或“治疗(treatment)”是指治疗性治疗和预防(prophylactic)或预防(preventative)措施,其中目标是预防或减缓(减轻)受试者的不希望的生理变化或失调,例如炎性疾病或病症的进展。有益或所希望的临床结果包括但不限于缓解症状、减小疾病程度、疾病状态的稳定化(即不恶化)、延迟或减缓疾病进展、改善或缓和疾病状态、以及减轻(不论部分或完全),不论可检测到或不可检测到。

[0201] 术语“治疗”还意指如与未接受治疗的预期存活相比的延长的存活。需要治疗的那些包括已经患有这种病症或失调的那些,连同倾向于患有这种病症或失调的那些,或有待预防这种病症或失调的那些。

[0202] 术语“受试者”、“个体”、“动物”、“患者”、或“哺乳动物”是指需要诊断、预后、或治疗的任何个体、患者或动物,特别是哺乳动物受试者。哺乳动物受试者包括人、家畜、农畜,以及动物园、体育或宠物动物例如犬、猫、豚鼠、兔、大鼠、小鼠、马、牛、奶牛、等。

[0203] 如在此使用,术语“CD40L”是指但不限于在T细胞的表面表达的 CD40L、重组表

达的CD40L、由大肠杆菌或其他适合的重组蛋白表达系统表达并纯化的CD40L、未糖基化的CD40L、以及CD40L的可溶性片段。如在此使用,“CD40L”还指MegaCD40L。MegaCD40LTM是一种高活性的构建体,其中两个三聚CD40配体经由ACRP30/脂连蛋白的胶原结构域被人工连接。这一构建体在体内非常有效地刺激协助CD40L的凝集的天然膜。它为[CD40L+增强子](亚力克西斯生化制品公司(Alexis biochemicals))提供了一种简单并同样有效的替代物。术语“CD40L”是指CD40L的单体形式、连同低聚形式,例如三聚CD40L。

[0204] 术语“CD40L”是指全长CD40L和可溶性片段两者,例如由蛋白水解生成的CD40L的细胞外结构域形式。在SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2中分别示出了人类CD40L(Swissprot:P29965)的膜合形式和可溶形式的氨基酸序列。

[0205] 以最广泛的意义使用术语“CD40L拮抗剂”或“拮抗剂”,并且包括在体内、在原位、或在体外部分地或完全地抑制、减少或钝化CD40L及其生物活性的变体的一种或多种生物活性的任何分子。例如,由于与CD40L结合,CD40L拮抗剂可以发挥用来在体内、在体外或在原位部分地或完全地抑制、减少或钝化一个或多个CD40L分子、或一个或多个与CD40或其他靶标结合的CD40L分子的一种或多种生物活性。

[0206] 以最广泛的意义使用术语“CD40L激动剂”或“激动剂”,并且包括在体内、在原位、或在体外部分地或完全地增强、刺激或激活CD40L及其生物活性的变体的一种或多种生物活性的任何分子。例如,由于与CD40L结合,CD40L激动剂可以发挥用来在体内、在体外或在原位部分地或完全地增强、刺激或激活一个或多个CD40L分子、或一个或多个与CD40R或其他靶标结合的CD40L分子的一种或多种生物活性。

[0207] 如在此使用,术语“晶体”是指物质的固态的一种形式,其中原子被安排为三维地周期性重复的模式,典型地形成一个晶格。

[0208] 如在此使用,术语“空间群对称性”是指将晶格的平移对称性与点群对称性合并的该晶体的整体对称性。由标识晶格群的大写字母(P、A、F等)、随后是点群符号来指定“空间群”,其中将旋转和反射元件延伸以包括螺旋轴和滑移面。要注意的是,可以通过移除空间群的胞心符号并且将所有的螺旋轴用类似的旋转轴替换并将所有的滑移面用镜平面替换来确定给定的空间群的点群对称性。空间群的点群对称性描述了其倒易晶格的真实对称性。

[0209] 如在此使用,术语“晶胞”意指在晶体中以规则重复模式安排的原子,其中最小的重复单位被叫做晶胞。可以由该晶胞的知识重建整个结构,晶胞由三个长度(a、b、和c)以及三个角度(α 、 β 、和 γ)来表征。数量a和b是该晶胞的底部的侧面的长度并且 γ 是这两个侧面之间的角度。数量c是该晶胞的高度。角度 α 和 β 描述了该晶胞的底部与垂直侧面之间的角度。

[0210] 如在此使用,术语“机器可读的数据存储介质”意指用机器可读的数据编码的数据存储材料,其中用使用这样的数据的指令将机器程序化并且该机器能够以所希望的格式展示数据,例如分子或分子复合物的图形化的三维表示。

[0211] 术语“X射线衍射图”意指从晶体中的分子或原子的周期性组件的X射线散射获得的图案。X射线结晶学是一种利用了X射线被晶体折射的事实的技术。X射线具有有待被可比较的大小的原子的电子云散射的适当的波长(在埃范围,约 10^{-8} cm)。基于从该晶体中的分子或原子的周期性组件的X射线散射获得的衍射图,可以重建电子密度。可以从衍射数据

抑或从补充衍射实验中提取到额外的相位信息以完成重建(在结晶学中的相位问题)。一个模型是渐进地建成实验的电子密度,针对数据进行精制,以产生精确的分子结构。X射线结构坐标定义空间中的点的独特构型。本领域的普通技术人员理解的是,针对一种蛋白质或蛋白质-配体复合物、或其部分的一组结构坐标定义一个相关的点集,这个点集反过来定义三维构型。可以通过一组完全不同的坐标限定相似的或相同的构型,其条件是坐标之间的距离和角度保持基本相同。此外,可以通过标量因子增加或减小坐标之间的距离,同时保持角度基本相同来确定点的构型。

[0212] 如在此使用,术语“晶体结构”是指晶体材料中的重复原子单位或分子单位的三维排列或晶格间距排列。可以通过X射线结晶方法确定晶体材料的晶体结构,参见例如Jan Drenth(简卓恩斯)的“Principles of Protein X-Ray Crystallography (蛋白质X射线结晶学原理)”,Springer Advanced Texts in Chemistry(施普林格高级文本化学),Springer Verlag(施普林格出版社),第2版,二月199,ISBN: 0387985875和Alexander McPherson(亚历山大麦克弗森),Wiley-Liss(威利-丽丝)的“Introduction to Macromolecular Crystallography(大分子结晶学入门)”,2002年10月18日,ISBN: 0471251224。

[0213] 术语“效应子功能”是指由抗体的Fc区(天然Fc区或氨基酸序列变体 Fc区)引起的抗体或抗体片段的那些生物活性,并且随抗体同种型而变化。抗体效应子功能的实例包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体)的下调;以及B细胞激活。

[0214] 术语“抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用”或“ADCC”是指以下形式的细胞毒性,其中结合至存在于某些细胞毒性细胞(例如,自然杀伤细胞(NK)、嗜中性粒细胞、以及巨噬细胞)上的Fc受体(FcR)上的分泌Ig与带有抗原的靶细胞特异性结合并且随后用细胞毒素杀死这些靶细胞。

[0215] 术语“Fc受体”或“FcR”描述与抗体的Fc区结合的受体。FcR可以是一种自然序列人类FcR。FcR可以与IgG抗体(γ 受体)结合并且包括Fc γ RI、Fc γ RII 和Fc γ RIII子类的受体,包括这些受体的等位基因变体以及可变剪接的形式。该术语还包括新生受体FcRn。

[0216] 术语“共有序列”是指在比对多个序列以后在具体的位置处示出最常见的氨基酸的蛋白质序列。共有序列是一种表示多重序列比对的结果的方式,其中相关的序列被彼此比较。共有序列示出在一个比对中的每个位置处哪些残基是最丰富的,以及在每个位置处的变异性程度。

[0217] 引言

[0218] CD40L(也被称为CD154、CD40配体、gp39或TBAM)是一种33kDa 的II型膜糖蛋白(Swiss-ProtAcc-No P29965)。额外地,存在更短的18kDa的CD40L 可溶态(也被称为sCD40L或可溶性CD40L)。通过膜结合蛋白的蛋白水解加工产生CD40L的这些可溶态,但是这些可溶性种类的细胞活性在缺乏更高阶低聚(例如,三聚)的情况下是微弱的。

[0219] 本发明提供了一个能够与CD40L结合的重组的非天然发生的蛋白支架(Tn3支架)家族。具体地,可以使用在此描述的这些蛋白质来展示与抗体的可变区的互补决定区(“CDR”)类似的限定的环。可以使这些环经受随机化或受限的进化,以产生能够与众多的靶标化合物结合的多样性。可以将Tn3支架用作单体或可以将其组装为能够与CD40L结合的多

聚支架。

[0220] 在特定实施例中,本发明提供了用于预防、缓解、检测、诊断、或监测疾病(例如但不限于自身免疫性疾病)的CD40L-特异性粘合剂。在其他特定实施例中,本发明的CD40L-特异性Tn3支架对于治疗自身免疫性疾病和病症是有用的。在一些实施例中,自身免疫性疾病可以包括但不限于系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿关节炎(RA)、多发性硬化(MS)、炎症性肠病(IBD)以及同种异体移植排斥。

[0221] 本发明的Tn3支架包括衍生自人类生腱蛋白C的第三FnIII结构域的 CD40L-特异性单体亚单位,其中至少一个非天然发生的分子内二硫键已经被工程化。组成本发明的Tn3支架的单体亚单位彼此独立地正确折叠,保留其结合特异性和亲和力,并且每种单体支架保留其功能特性。当单体亚单元被组装为高效价的多聚Tn3支架时,这些单体亚单位彼此独立地正确折叠,保留其结合特异性和亲和力,并且每种单体保留其功能特性。

[0222] 包括多于一个单体亚单位的本发明的Tn3支架可以与多个表位结合,例如(i)与单一靶标的多个表位结合,(ii)与多个靶标的单一表位结合,(iii)与位于一个靶标的不同亚单位上的多个表位结合,或(iv)与多个靶标上的多个表位结合,由此增加亲合性。

[0223] 此外,由于经由接头的多个单体之间的距离变化的可能性,多聚Tn3支架能够与表面上的多个靶分子结合(在同一细胞/表面上抑或在不同细胞/表面里)。由于其与多于一个靶标同时结合的能力,本发明的Tn3多聚支架可以用来调节多个通路、细胞表面上的交联受体,结合单独的细胞上的细胞表面受体,和/或将靶分子或细胞与底物结合。

[0224] 此外,本发明提供了亲和力成熟的支架,其中经由突变调节支架对于特定靶标的亲和力。而且,本发明提供了用于生产本发明的支架的方法、连同用于工程化具有令人希望的物理化学特性、药理学特性、或免疫学特性的支架的方法。此外,本发明提供了此类支架的用途以及用于治疗、预防、或诊断用途的方法。

[0225] FnIII结构基序

[0226] 本发明的Tn3支架基于III型纤连蛋白模块(FnIII)的结构,即一种广泛发现于生命体和病毒的所有三个结构域之间并且发现于众多蛋白质种类中的结构域。在特定实施例中,本发明的支架衍生自人类生腱蛋白C的第三FnIII结构域(参见被公开为W0 2009/058379的国际申请号PCT/US2008/012398;被公开为 W0 2011/130324的国际申请号PCT/US2011/032184;以及被公开为W02011130328 的国际申请号PCT/US2011/032188)。

[0227] 在一个特定实施例中,本发明的Tn3支架包括一个衍生自亲本Tn3支架的CD40L-特异性单体亚单位。单体的总体三维折叠与最小的功能性抗体片段(重链的可变区(VH))的三维折叠密切相关,在骆驼和骆驼科动物(例如,美洲驼)的单域抗体中的重链的可变区包括完整的抗原识别单位。

[0228] 本发明的Tn3单体亚单位以及来自生腱蛋白C的天然FnIII结构域特征在于同一三维结构,即由六个环区连接的在一侧具有三个β链(A、B、和E)并且在另一侧具有四个β链(C、D、F、和G)的β夹层结构。根据连接至每个环的 N端和C端的β链来指定这些环区。因此,AB环位于β链A和B之间,BC环位于β链B和C之间,CD环位于β链C和D之间,DE环位于β链D和E之间,EF环位于β链E和F之间,并且FG环位于β链F和G之间。FnIII结构域拥有耐受随机化的被暴露至溶剂的环,这些环协助能够以高亲和力与特定靶标结合的蛋白支架的不同池的产生。

[0229] 在本发明的一个方面中,使Tn3单体亚单位经受定向进化,旨在随机化与抗体可变

区的互补决定区 (CDR) 类似的一个或多个环。这样的一种定向进化途径导致对感兴趣的靶标 (例如, CD40L) 具有高亲和力的抗体样分子的产生。

[0230] 此外, 在一些实施例中, 可以使用在此描述的 Tn3 支架来展示限定的暴露的环 (例如, 先前被随机化的并且在靶标结合的基础上选择的环) 以便指导与这样的引入的环结合的分子的进化。可以进行这种类型的选择以鉴定任何单独的 CDR 样环的识别模块, 或可替代地用于被合并进非线性表位结合部分中的两个或全部三个 CDR 样环的识别。可以赋予特异性靶标结合的一组三个环 (被指定为 BC、DE、和 FG) 分别在 B 和 C 链; D 和 E 链, 以及 F 和 G β 链之间运行。人类生腱蛋白 C 的第三 FnIII 结构域的 BC、DE、和 FG 环分别为 9 个、6 个、和 10 个氨基酸残基长。这些环的长度落入发现于抗体重链中的同源抗原识别环的窄范围内, 也就是说长度分别为 7-10 个、4-8 个、以及 4-28 个氨基酸。类似地, 第二组环, 即 AB、CD、和 EF 环 (长度分别为 7 个、7 个、和 8 个氨基酸) 分别在 A 和 B β 链; C 和 D β 链; 以及 E 和 F β 链之间运行。

[0231] 一旦针对与一种靶标的高亲和力结合而被随机化并被选择, Tn3 单体支架中的这些环可以与靶标接触, 相当于抗体中的同源 CDR 环的接触。因此, 在一些实施例中, 针对与一个或多个靶标 (例如, CD40L) 的高亲和力结合将 AB、CD、和 EF 环随机化并对其进行选择。在一些实施例中, 可以与 BC、DE、和 FG 环的随机化平行地进行这一随机化和选择过程, 而在其他实施例中, 连续地进行这一随机化和选择过程。

[0232] CD40L-特异性单体亚单位

[0233] 本发明提供了 CD40L-特异性重组的非天然发生的 Tn3 支架, 包括被连接至多个环区的多个 β 链结构域, 其中通过至少一个来自野生型 Tn3 (SEQ ID NO: 3) 的同源环的氨基酸的缺失、取代或添加来改变一个或多个所述环区 (参见表 1)。

[0234] 为了产生改进的具有新颖的结合特征的 CD40L-特异性 Tn3 单体亚单位, 使亲本 Tn3 经受氨基酸添加、缺失或取代。将理解的是, 当比较 CD40L-特异性 Tn3 单体亚单位的序列与亲本 Tn3 的序列时, 利用 β 链和环的相同的定义。在一些实施例中, 本发明的 CD40L-特异性 Tn3 单体亚单位包括以下氨基酸序列:

[0235] IEV (X_{AB})_n ALITW (X_{BC})_n CELX₁ YGI (X_{CD})_n TTIDL (X_{DE})_n YSI (X_{EF})_n YEVSLIC (X_{FG})_n KE TFFT

[0236] 其中:

[0237] (a) X_{AB} 、 X_{BC} 、 X_{CD} 、 X_{DE} 、 X_{EF} 、和 X_{FG} 分别表示存在于 AB、BC、CD、DE、EF、和 FG 环的序列中的氨基酸残基;

[0238] (b) X_1 表示氨基酸残基丙氨酸 (A) 或苏氨酸 (T); 并且

[0239] (c) 环的长度 n 是在 2 与 26 之间的整数。

[0240] 表 2: 在这些研究中使用的 Tn3 克隆的环序列

[0241]

克隆	AB 环 SEQ ID NO:	BC 环 SEQ ID NO:	CD 环 SEQ ID NO:	DE 环 SEQ ID NO:	EF 环 SEQ ID NO:	FG 环 SEQ ID NO*
亲本 <i>Tn3</i>						
Tn3	4	5	6	7	8	9
309 家族						
309F Gwt	4	83	6	94	8	9
309	4	83	6	94	8	99
340	4	84	6	95	8	9
341	4	85	6	94	8	9
342	4	86	6	96	8	9
343	4	87	6	97	8	9
344	4	88	6	95	8	9
345	4	89	6	94	8	9
346	4	90	6	94	8	9
347	4	91	6	95	8	9
348	4	92	6	98	8	9
349	4	93	6	94	8	9
309F Gwt 共有 区	4	168	6	169	8	170
311 家族**						
311	4	100	6	118	8	129
311K 4E	136	100	6	118	137	129
311K	136	101	6	119	8	129

[0242]

克隆	AB 环 SEQ ID NO:	BC 环 SEQ ID NO:	CD 环 SEQ ID NO:	DE 环 SEQ ID NO:	EF 环 SEQ ID NO:	FG 环 SEQ ID NO*
4E_1						
311K 4E_2	136	102	6	120	8	129
311K 4E_3†	136	103	6	121	8	129
311K 4E_4†	136	104	6	122	8	129
311K 4E_5†	136	105	6	121	8	129
311K 4E_7	136	106	6	123	8	129
311K 4E_8†	136	107	6	123	8	129
311K 4E_9	136	108	6	118	8	129
311K 4E_10†	136	109	6	123	8	129
311K 4E_11	136	110	6	121	8	129
311K 4E_12†	136	111	6	123	8	130
311K 4E_13	136	108	6	121	8	129
311K 4E_14	136	112	6	124	8	129
311K 4E_15	136	113	6	125	8	129

	克隆	AB 环	BC 环	CD 环	DE 环	EF 环	FG 环
		SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO*
[0243]	311K 4E_16	136	114	6	118	8	129
	311K 4E_19	136	115	6	126	8	129
	311K 4E_20	136	116	6	127	8	129
	311K 4E_21	136	117	6	128	8	129
	311 共有区	173	174	6	175	176	177

[0244] †包括具有序列CELAYGI (SEQ ID NO:14) 的CB链的克隆,所有其他克隆包括具有序列CELTGYI (SEQ ID NO:13) 的CB链。

[0245] *在309家族的一些变体(例如,342)中,FG环可以被SEQ ID NO:139替代。

[0246] **在311家族的一些变体中,可以将BC环工程化以替代在位置21处的酪氨酸。在此特别考虑了取代的氨基酸残基可以具有一个小侧链。

[0247] 在一些实施例中,本发明的CD40L-特异性Tn3单体亚单位由以下氨基酸序列组成:

[0248] IEV (X_{AB})_nALITW (X_{BC})_nCELX₁YGI (X_{CD})_nTTIDL (X_{DE})_nYSI (X_{EF})_nYEVSLIC (X_{FG})_nKE TFFT

[0249] 其中:

[0250] (a) X_{AB}、X_{BC}、X_{CD}、X_{DE}、X_{EF}、和X_{FG}分别表示存在于AB、BC、CD、DE、EF、和FG环的序列中的氨基酸残基;

[0251] (b) X₁表示氨基酸残基丙氨酸(A)或苏氨酸(T);并且

[0252] (c) 环的长度n是在2与26之间的整数。

[0253] 在一个实施例中,CD40L-特异性Tn3单体支架的β链与亲本Tn3支架 (SEQ ID NO: 3) 的β链具有至少90%序列一致性。为了计算这样的序列一致性的百分比,应用本领域已知的方法比对氨基酸序列。将序列一致性的百分比定义为(a) 位于在序列比对中相同的β链中的氨基酸的数目与(b) 位于β链中的氨基酸的总数之间的比率。

[0254] 在一个实施例中,AB环的序列包括SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:136。在另一个实施例中,CD环的序列包括SEQ ID NO:6。在另一个实施例中,EF环的序列包括SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:137。在一个实施例中,AB环的序列由SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:136组成。在另一个实施例中,CD环的序列由SEQ ID NO:6组成。在另一个实施例中,EF环的序列由SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:137组成。

[0255] 在一个实施例中,BC环的序列包括一个选自下组的序列,该组由以下各项组成: SEQ ID NO:83、84、85、86、87、88、89、90、91、92以及93。在另一个实施例中,BC环的序列由一个选自下组的序列组成,该组由以下各项组成:由SEQ ID NO:83、84、85、86、87、88、89、90、

91、92以及93。

[0256] 在一个实施例中,DE环的序列包括一个选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:94、95、96、97以及98。在另一个实施例中,DE环的序列由一个选自下组的序列组成,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:94、95、96、97以及98。

[0257] 在一个实施例中,FG环的序列包括一个选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:9、99、以及139。在另一个实施例中,FG环的序列由一个选自下组的序列组成,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:9、99、以及139。

[0258] 在一个实施例中,BC环的序列包括一个选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116以及117。在另一个实施例中,BC环的序列由一个选自下组的序列组成,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116以及117。

[0259] 在一些实施例中,DE环的序列包括一个选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:118、119、120、121、122、123、124、125、126、127 以及128。在其他实施例中,DE环的序列由一个选自下组的序列组成,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:118、119、120、121、122、123、124、125、126、127 以及128。

[0260] 在一些实施例中,FG环的序列包括一个选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:129和130。在其他实施例中,FG环的序列由一个选自下组的序列组成,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:129和130。

[0261] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:83,DE环的序列包括 SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在一些实施例中,BC环的序列由SEQ ID NO:83组成,DE环的序列由SEQ ID NO:94组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0262] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:83,DE环的序列包括 SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:99。在其他实施例中,BC 环的序列由SEQ ID NO:83组成,DE环的序列由SEQ ID NO:94组成,并且FG 环的序列由SEQ ID NO:99组成。

[0263] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:84,DE环的序列包括 SEQ ID NO:95,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中,BC环的序列由SEQ ID NO:84组成,DE环的序列由SEQ ID NO:95组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0264] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:85,DE环的序列包括 SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中,BC环的序列由SEQ ID NO:85组成,DE环的序列由SEQ ID NO:94组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0265] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:86,DE环的序列包括 SEQ ID NO:96,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中,BC环的序列由SEQ ID NO:86组成,DE环的序列由SEQ ID NO:96组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0266] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:87,DE环的序列包括 SEQ ID NO:97,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中,BC环的序列由SEQ ID NO:87组成,DE环的序列由SEQ ID NO:97组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0267] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:88,DE环的序列包括 SEQ ID NO:95,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中,BC环的序列由SEQ ID NO:

88组成,DE环的序列由SEQ ID NO:95组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0268] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:89,DE环的序列包括SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中, BC环的序列由SEQ ID NO:89组成,DE环的序列由SEQ ID NO:94组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0269] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:90,DE环的序列包括 SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中, BC环的序列由SEQ ID NO:90组成,DE环的序列由SEQ ID NO:94组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0270] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:91,DE环的序列包括 SEQ ID NO:95,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中, BC环的序列由SEQ ID NO:91组成,DE环的序列由SEQ ID NO:95组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0271] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:92,DE环的序列包括 SEQ ID NO:98,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中, BC环的序列由SEQ ID NO:92组成,DE环的序列由SEQ ID NO:98组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0272] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:93,DE环的序列包括 SEQ ID NO:94,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:9或139。在其他实施例中, BC环的序列由SEQ ID NO:93组成,DE环的序列由SEQ ID NO:94组成,并且 FG环的序列由SEQ ID NO:9或139组成。

[0273] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:168,DE环的序列包括SEQ ID NO:169,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:170。在其他实施例中, BC环的序列由SEQ ID NO:168组成,DE环的序列由SEQ ID NO:169组成,并且FG环的序列由SEQ ID NO:170组成。

[0274] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:100,DE环的序列包括SEQ ID NO:118,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:129。在其他实施例中, BC环的序列由SEQ ID NO:100组成,DE环的序列由SEQ ID NO:118组成,并且FG环的序列由SEQ ID NO:129组成。

[0275] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:101,DE环的序列包括EQ ID NO:119,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中, AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:101组成,DE环的序列由EQ ID NO:119组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0276] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:102,DE环的序列包括EQ ID NO:120,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中, AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:102组成,DE环的序列由EQ ID NO:120组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0277] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:103,DE环的序列包括EQ ID NO:121,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中, AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:103组成,DE环的序列由EQ ID NO:121组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0278] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:104,DE环的序列包括EQ ID NO:122,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中, AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:104组成,DE环的序列由EQ ID NO:122组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0279] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:

105,DE环的序列包括EQ ID NO:121,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:105组成,DE环的序列由EQ ID NO:121组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0280] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:106,DE环的序列包括EQ ID NO:123,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:106组成,DE环的序列由EQ ID NO:123组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0281] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:107,DE环的序列包括EQ ID NO:123,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:107组成,DE环的序列由EQ ID NO:123组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0282] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:108,DE环的序列包括EQ ID NO:118,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:108组成,DE环的序列由EQ ID NO:118组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0283] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:109,DE环的序列包括EQ ID NO:123,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:109组成,DE环的序列由EQ ID NO:123组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0284] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:110,DE环的序列包括EQ ID NO:121,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:110组成,DE环的序列由EQ ID NO:121组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0285] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:111,DE环的序列包括EQ ID NO:123,并且FG环的序列包括EQ ID NO:130。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:111组成,DE环的序列由EQ ID NO:123组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:130组成。

[0286] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:108,DE环的序列包括EQ ID NO:121,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:108组成,DE环的序列由EQ ID NO:121组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0287] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:112,DE环的序列包括EQ ID NO:124,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:112组成,DE环的序列由EQ ID NO:124组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0288] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括EQ ID NO:113,DE环的序列包括EQ ID NO:125,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:113组成,DE环的序列由EQ ID NO:125组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0289] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:114,DE环的序列包括EQ ID NO:118,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:114组成,DE环的序列由EQ ID NO:118组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0290] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:115,DE环的序列包括EQ ID NO:126,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:115组成,DE环的序列由EQ ID NO:126组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0291] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:116,DE环的序列包括EQ ID NO:127,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:116组成,DE环的序列由EQ ID NO:127组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0292] 在一些实施例中,AB环的序列包括EQ ID NO:136,BC环的序列包括 EQ ID NO:117,DE环的序列包括EQ ID NO:128,并且FG环的序列包括EQ ID NO:129。在其他实施例中,AB环的序列由EQ ID NO:136组成,BC环的序列由EQ ID NO:117组成,DE环的序列由EQ ID NO:128组成,并且FG环的序列由EQ ID NO:129组成。

[0293] 在一些实施例中,BC环的序列包括SEQ ID NO:174,DE环的序列包括SEQ ID NO:175,并且FG环的序列包括SEQ ID NO:177。在其他实施例中,BC环的序列由SEQ ID NO:174组成,DE环的序列由SEQ ID NO:175组成,并且FG环的序列由SEQ ID NO:177组成。

[0294] 在一些实施例中,该CD40L-特异性单体亚单位包括一个选自选自下组的序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42以及146。在其他实施例中,该CD40L-特异性单体亚单位由一个选自下组的序列组成,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42以及146。

[0295] 在一些实施例中,该CD40L-特异性单体亚单位包括SEQ ID NO:28或 146。在其他实施例中,该CD40L-特异性单体亚单位由SEQ ID NO:28或146组成。

[0296] 在一些实施例中,本发明的CD40L-特异性Tn3单体亚单位包括以下氨基酸序列:

[0297] IEVKDVTDTTALITWX₁DX₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈CELTYGIKDVPDRTTIDLWX₉HX₁₀A X₁₁YSIGNLKPDTEYEVSLICRX₁₂GDMSSNPAKETFTT (SEQ ID NO:167)

[0298] 其中:

[0299] (a) X₁表示氨基酸残基丝氨酸(S)或丝氨酸(L);

[0300] (b) X₂表示氨基酸残基天冬氨酸(D)或谷氨酸(E);

[0301] (c) X₃表示氨基酸残基组氨酸(H)、异亮氨酸(I)、缬氨酸(V)、苯丙氨酸(F)或色氨酸(W);

[0302] (d) X₄表示氨基酸残基丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、谷氨酸(E)或天冬氨酸(D);

[0303] (e) X₅表示氨基酸残基谷氨酸(E)、亮氨酸(L)、谷氨酰胺(Q)、丝氨酸(S)、天冬氨酸(D)或天冬酰胺(N);

[0304] (f) X₆表示氨基酸残基苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y);

[0305] (g) X₇表示氨基酸残基异亮氨酸(I)、缬氨酸(V)、组氨酸(H)、谷氨酸(E)或天冬氨酸(D);

- [0306] (h) X_8 表示氨基酸残基甘氨酸(G)、色氨酸(W)或缬氨酸(V)；
- [0307] (i) X_9 表示氨基酸残基色氨酸(W)、苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；
- [0308] (j) X_{10} 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、谷氨酰胺(Q)、甲硫氨酸(M)或组氨酸(H)；
- [0309] (k) X_{11} 表示氨基酸残基色氨酸(W)或组氨酸(H)；并且
- [0310] (l) X_{12} 表示氨基酸残基精氨酸(R)或丝氨酸(S)。
- [0311] 在一些实施例中，本发明的CD40L-特异性Tn3单体亚单位由以下氨基酸序列组成：
- [0312] IEVKDVTDTTALITWX₁DX₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈CELTGYGIKDVPDRTTIDLWX₉HX₁₀A X₁₁YSIGNLKPDTEYEVSLICRX₁₂GDMSSNPAKETFTT (SEQ ID NO:167)
- [0313] 其中：
- [0314] (a) X_1 表示氨基酸残基丝氨酸(S)或丝氨酸(L)；
- [0315] (b) X_2 表示氨基酸残基天冬氨酸(D)或谷氨酸(E)；
- [0316] (c) X_3 表示氨基酸残基组氨酸(H)、异亮氨酸(I)、缬氨酸(V)、苯丙氨酸(F)或色氨酸(W)；
- [0317] (d) X_4 表示氨基酸残基丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)；
- [0318] (e) X_5 表示氨基酸残基谷氨酸(E)、亮氨酸(L)、谷氨酰胺(Q)、丝氨酸(S)、天冬氨酸(D)或天冬酰胺(N)；
- [0319] (f) X_6 表示氨基酸残基苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；
- [0320] (g) X_7 表示氨基酸残基异亮氨酸(I)、缬氨酸(V)、组氨酸(H)、谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)；
- [0321] (h) X_8 表示氨基酸残基甘氨酸(G)、色氨酸(W)或缬氨酸(V)；
- [0322] (i) X_9 表示氨基酸残基色氨酸(W)、苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；
- [0323] (j) X_{10} 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、谷氨酰胺(Q)、甲硫氨酸(M)或组氨酸(H)；
- [0324] (k) X_{11} 表示氨基酸残基色氨酸(W)或组氨酸(H)；并且
- [0325] (l) X_{12} 表示氨基酸残基精氨酸(R)或丝氨酸(S)。
- [0326] 在一些实施例中，该CD40L-特异性单体亚单位包括一个选自下组的序列，该组由以下各项组成：SEQ ID NO:44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、以及82。在一些实施例中，该CD40L-特异性单体亚单位由一个选自下组的序列组成，该组由以下各项组成：SEQ ID NO: 44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、以及82。
- [0327] 在一些实施例中，本发明的CD40L-特异性Tn3单体亚单位包括以下氨基酸序列：
- [0328] IEVX₁DVTDTTALITWX₂RSX₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀CELX₁₁YGIKDVPDRTTIDLX₁₂X₁₃X₁₄X₁₅YVHYSIGNLKPDTX₁₆YEVSLICLTDTGTYX₁₇NPAKETFTT (SEQ ID NO: 171)
- [0329] 其中：
- [0330] (a) X_1 表示氨基酸残基赖氨酸(K)或谷氨酸(E)；
- [0331] (b) X_2 表示氨基酸残基苏氨酸(T)或异亮氨酸(I)；
- [0332] (c) X_3 表示氨基酸残基天冬酰胺(N)或丙氨酸(A)；
- [0333] (d) X_4 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、亮氨酸(L)、丙氨酸(A)、苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；
- [0334] (e) X_5 表示氨基酸残基酪氨酸(Y)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、异亮氨酸

(I) 或丝氨酸(S)；

[0335] (f) X_6 表示氨基酸残基酪氨酸(Y)、丝氨酸(S)、丙氨酸(A)或组氨酸(H)；

[0336] (g) X_7 表示氨基酸残基天冬酰胺(N)、天冬氨酸(D)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0337] (h) X_8 表示氨基酸残基亮氨酸(L)、苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0338] (i) X_9 表示氨基酸残基组氨酸(H)、脯氨酸(P)、丝氨酸(S)、亮氨酸(L) 或天冬氨酸(D)；

[0339] (j) X_{10} 表示氨基酸残基甘氨酸(G)、苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0340] (k) X_{11} 表示氨基酸残基丙氨酸(A)或苏氨酸(T)；

[0341] (l) X_{12} 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、天冬酰胺(N)、谷氨酸(E)、天冬酰胺(R)或天冬氨酸(D)；

[0342] (m) X_{13} 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、谷氨酰胺(Q)、苏氨酸(T)、天冬酰胺(N)或丙氨酸(A)；

[0343] (n) X_{14} 表示氨基酸残基脯氨酸(P)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或丙氨酸(A) 或没有氨基酸；

[0344] (o) X_{15} 表示氨基酸残基异亮氨酸(I)或没有氨基酸；

[0345] (p) X_{16} 表示氨基酸残基谷氨酸(E)或赖氨酸(K)；并且

[0346] (q) X_{17} 表示氨基酸残基丝氨酸(S)或天冬酰胺(N)。

[0347] 在一些实施例中，本发明的CD40L-特异性Tn3单体亚单位由以下氨基酸序列组成：

[0348] IEVX₁DVTDTTALITWX₂X₃RSX₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀CELX₁₁YGIKDVPDRTTIDLX₁₂X₁₃X₁₄X₁₅YVHY
SIGNLKPDTX₁₆YEVSLICLTDTGTYX₁₇NPAKETFTT (SEQ ID NO: 171)

[0349] 其中：

[0350] (a) X_1 表示氨基酸残基赖氨酸(K)或谷氨酸(E)；

[0351] (b) X_2 表示氨基酸残基苏氨酸(T)或异亮氨酸(I)；

[0352] (c) X_3 表示氨基酸残基天冬酰胺(N)或丙氨酸(A)；

[0353] (d) X_4 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、亮氨酸(L)、丙氨酸(A)、苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；

[0354] (e) X_5 表示氨基酸残基酪氨酸(Y)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或丝氨酸(S)；

[0355] (f) X_6 表示氨基酸残基酪氨酸(Y)、丝氨酸(S)、丙氨酸(A)或组氨酸(H)；

[0356] (g) X_7 表示氨基酸残基天冬酰胺(N)、天冬氨酸(D)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0357] (h) X_8 表示氨基酸残基亮氨酸(L)、苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0358] (i) X_9 表示氨基酸残基组氨酸(H)、脯氨酸(P)、丝氨酸(S)、亮氨酸(L) 或天冬氨酸(D)；

[0359] (j) X_{10} 表示氨基酸残基甘氨酸(G)、苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0360] (k) X_{11} 表示氨基酸残基丙氨酸(A)或苏氨酸(T)；

[0361] (l) X_{12} 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、天冬酰胺(N)、谷氨酸(E)、天冬酰胺(R)或天冬氨酸(D)；

[0362] (m) X_{13} 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、谷氨酰胺(Q)、苏氨酸(T)、天冬酰胺(N)或丙氨酸(A)；

[0363] (n) X_{14} 表示氨基酸残基脯氨酸(P)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或丙氨酸(A) 或没有氨基酸;

[0364] (o) X_{15} 表示氨基酸残基异亮氨酸(I) 或没有氨基酸;

[0365] (p) X_{16} 表示氨基酸残基谷氨酸(E) 或赖氨酸(K);并且

[0366] (q) X_{17} 表示氨基酸残基丝氨酸(S) 或天冬酰胺(N)。

[0367] 在一些实施例中,CD40L-特异性单体支架包括一个Tn3模块,其中一个或多个 β 链包括至少一个氨基酸取代,除了在C和F β 链(分别是SEQ ID NO: 13或14;和SEQ ID NO:17)中的半胱氨酸残基可以不被取代之外。

[0368] 可以针对长度和/或序列多样性将连接CD40L-特异性单体亚单位的不同 β 链的环随机化。在一个实施例中,CD40L-特异性单体亚单位具有至少一个长度和/或序列多样性被随机化的环。在一个实施例中,CD40L-特异性单体亚单位的至少一个环、至少两个环、至少三个环、至少四个环、至少五个环或至少六个环的长度和/或序列多样性被随机化。在一个实施例中,CD40L-特异性单体亚单位的至少一个环保持不变,同时至少一个额外的环的长度和/或序列多样性被随机化。在另一个实施例中,环AB、CD、和EF中的至少一个、至少两个、或全部三个保持不变,同时环BC、DE、和FG中的至少一个、至少两个、或全部三个的长度或序列多样性被随机化。在另一个实施例中,环AB、CD、和EF中的至少一个、至少两个、或至少全部被随机化,同时环BC、DE、和FG中的至少一个、至少两个、或全部三个的长度或序列多样性被随机化。在又一个实施例中,环AB、CD、EF、BC、DE、以及FG中的至少一个环、至少两个环、至少三个环、至少4个环、至少五个环、或全部六个环的长度或序列多样性被随机化。

[0369] 在一些实施例中,在一个环内的一个或多个残基保持不变,同时其他残基的长度和/或序列多样性被随机化。在一些实施例中,在一个环内的一个或多个残基保持为预先确定的并且有限数目的不同的氨基酸,同时其他残基的长度和/或序列多样性被随机化。因此,本发明的CD40L-特异性单体亚单位可以包括一个或多个具有简并的共有序列的环和/或一个或多个不变的氨基酸残基。

[0370] 在一个实施例中,本发明的CD40L-特异性单体亚单位包括一个被随机化的AB环。在另一个实施例中,本发明的CD40L-特异性单体亚单位包括一个被随机化的BC环。在一个实施例中,本发明的CD40L-特异性单体亚单位包括一个被随机化的CD环。在一个实施例中,本发明的CD40L-特异性单体亚单位包括一个被随机化的DE环。在一个实施例中,本发明的CD40L-特异性单体亚单位包括一个被随机化的EF环。

[0371] 在某些实施例中,本发明的CD40L-特异性单体亚单位包括一个被保持为具有至少一个比人类生腱蛋白C的第三FnIII结构域的同源FG环短的氨基酸残基并且在一个或多个位置处被进一步随机化的FG环。

[0372] 在具体实施例中,环BC、DE、和FG中至少之一被随机化,其中A β 链包括SEQ ID NO: 10或11,B β 链包括SEQ ID NO:12,C β 链包括SEQ ID NO: 13或14,D β 链包括SEQ ID NO:15,E β 链包括SEQ ID NO:16,F β 链包括SEQ ID NO:17,并且G β 链包括SEQ ID NO:18,AB环包括SEQ ID NO:4或136, CD环包括SEQ ID NO:6并且EF环包括SEQ ID NO:8或137。

[0373] 在其他具体实施例中,环AB、CD、和EF中至少之一被随机化,其中 A β 链包括SEQ ID NO:10或11,B β 链包括SEQ ID NO:12,C β 链包括SEQ ID NO:13或14,D β 链包括SEQ ID NO:15, E β 链包括SEQ ID NO:16,F β 链包括SEQ ID NO:17,并且G β 链包括SEQ ID NO:18,BC环包括

SEQ ID NO: 5, DE环包括SEQ ID NO: 7并且FG环包括SEQ ID NO: 9或139。

[0374] 增强的支架稳定性

[0375] 可以通过许多不同的途径增加本发明的Tn3支架的稳定性。在一些实施例中, 可以通过延伸N端和/或C端区来稳定本发明的Tn3支架。可以将N端和/或C端区延伸1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或多于10个氨基酸。在其他实施例中, 可以通过引入增加血清半衰期的改变来稳定本发明的Tn3支架, 如在此所述。在仍另一个实施例中, 本发明的Tn3支架包括至少一个氨基酸残基的添加、缺失或取代, 以稳定该支架的疏水核。

[0376] 如在国际专利申请号PCT/US2011/032184中所披露, 可以通过工程化非天然的二硫键来有效地稳定本发明的Tn3支架。在一些实施例中, 本发明的支架包括非天然发生的二硫键, 如在PCT申请号: WO 2009/058379中所描述。可以利用生物信息学途径来鉴定适于工程化二硫键的候选位置。

[0377] 在一个实施例中, 本发明的Tn3单体亚单位包括至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、或至少五个非天然发生的分子内二硫键。在一个实施例中, 本发明的Tn3单体亚单位包括至少一个非天然发生的分子内二硫键, 其中所述至少一个非天然发生的二硫键稳定该单体。在又一个实施例中, 本发明的Tn3支架包括至少一个非天然发生的二硫键, 其中这个键位于两个不同的单体或多聚体Tn3 支架之间, 即这个二硫键是一个分子间二硫键。例如, 二硫键可以连接不同的支架 (例如, 两个CD40L-特异性单体支架)、一个Tn3支架和一个接头、一个Tn3支架和一个Fc结构域、或一个Tn3支架和一个抗体或其片段。

[0378] 在一些实施例中, 本发明的Tn3支架包括至少一个非天然发生的分子间二硫键, 该分子间二硫键连接一个Tn3单体亚单位和一个分离的异源部分、一个 Tn3单体亚单位和一个融合至或共轭至同一Tn3支架的异源部分、或一个Tn3单体亚单位和一个或融合至或共轭至不同Tn3支架的异源部分。

[0379] 在一些实施例中, 本发明的Tn3支架包括一个形成具有至少2个、至少 3个、至少4个或更多个单体亚单位的Tn3多聚支架的二硫键。

[0380] 在另一个实施例中, 本发明的Tn3支架可以包括N端和/或C端区的延伸。在一个实施例中, 本发明的Tn3支架可以包括一个用于增加血清半衰期的改变, 如在此所述。在又一个实施例中, 本发明的支架包括至少一个氨基酸残基的添加、缺失或取代, 以稳定该支架的疏水核。

[0381] 稳定性测量

[0382] 可以通过本领域熟知的技术容易地测量分离的或作为多聚Tn3支架的部分的本发明的Tn3单体亚单位的稳定性, 例如热变性 (T_m) 和离液变性 (例如用尿素、或胍盐处理)、蛋白酶处理 (例如用嗜热菌蛋白酶处理) 或另一种领域接受的方法, 以确定蛋白质稳定性。用于测量蛋白质稳定性的技术的综述可以发现于例如约翰威利父子出版公司 (John Wiley and Sons), 2007的“Current Protocols in Molecular Biology (分子生物学当前方案)”和“Current Protocols in Protein Science (分子蛋白质科学当前方案)”中。

[0383] 多聚体Tn3支架

[0384] 本发明的一个方面提供了多聚体Tn3支架, 这些多聚体Tn3支架包括至少两个一前一后连接的本发明的Tn3单体亚单位, 并且其中至少一个单体是 CD40L-特异性单体亚单位。可以将这样的多聚体Tn3支架组装为多种形式。在一个具体方面中, 本发明提供了多聚

体Tn3支架,其中至少两个CD40L-特异性单体亚单位经由一个肽接头被一前一后地连接。在一些实施例中,这些多聚体Tn3支架展示出靶标结合的效价和/或亲合性、或该一种或多种靶标的其他作用的增加。在一些实施例中,当多个单体亚单位与同一靶标结合时,靶标结合的效价的和/或亲合性的增加得以实现。在一些实施例中,效价的增加改善对该靶标的特定作用,例如增加靶蛋白的二聚化。

[0385] 在一个特定实施例中,本发明的多体Tn3支架包括至少两个一前一后连接的CD40L-特异性单体亚单位,其中每个CD40L-特异性单体亚单位与至少一个靶标结合,并且其中每个CD40L-特异性单体亚单位包括多个被连接至多个环区的 β 链,其中至少一个环是亲本Tn3支架(SEQ ID NO:3)中的同源环的非天然发生的变体。

[0386] 在一个实施例中,例如通过直接连接CD40L-特异性单体亚单位、或通过包含一个接头(例如,肽接头)经由CD40L-特异性单体亚单位之间的共价结合产生多聚体Tn3支架。在具体实例中,通过构建编码CD40L-特异性单体亚单位的融合基因,或可替代地通过将半胱氨酸残基的密码子工程化进入CD40L-特异性单体亚单位并且允许在表达产物之间形成二硫键来产生共价键合的Tn3支架。

[0387] 在一个实施例中,本发明的多聚体Tn3支架包括被直接彼此连接而没有任何额外的介入氨基酸的至少两个CD40L-特异性单体亚单位。在另一个实施例中,本发明的多聚体Tn3支架包括经由一个接头(例如,肽接头)而被一前一后连接的至少两个CD40L-特异性单体亚单位。

[0388] 在一个特定实施例中,本发明的多聚体Tn3支架包括经由一个肽接头被一前一后连接的至少两个CD40L-特异性单体亚单位,其中该肽接头包括1个至约1000个、或1个至约500个、或1个至约250个、或1个至约100个、或1个至约50个、或1个至约25个氨基酸。在一个特定实施例中,该多聚体Tn3支架包括经由一个肽接头被一前一后连接的至少两个CD40L-特异性单体亚单位,其中该肽接头包括1个至约20个、或1个至约15个、或1个至约10个、或1个至约5个氨基酸。

[0389] 在一个特定实施例中,该多聚体Tn3支架包括经由一个接头(例如,肽接头)被一前一后连接的至少两个CD40L-特异性单体亚单位,其中该接头是一个功能部分。将基于该多聚体Tn3支架的所希望的功能和/或特征来选择该功能部分。例如,可以将对于纯化有用的功能部分(例如,组氨酸标签)用作接头。作为接头有用的功能部分包括但不限于:聚乙二醇(PEG)、细胞毒剂、放射性核素、显像剂、生物素、二聚化结构域、人血清白蛋白(HSA)或其FcRn结合部分、抗体的结构域或片段、单链抗体、结构域抗体、白蛋白结合结构域、IgG分子、酶、配体、受体、结合肽、非Tn3支架、表位标签、重组多肽聚合物、细胞因子、以及类似物。在下文披露了可以被用作接头的特定的肽接头以及功能部分。

[0390] 在特定实施例中,这个功能部分是一种免疫球蛋白或其片段。在一些实施例中,这种免疫球蛋白或其片段包括一个Fc结构域。在一些实施例中,这一Fc结构域不能诱导至少一种Fc γ R-介导的效应子功能,例如ADCC(抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用)。在本领域中已知可以改变Fc结构域,以减少或消除至少一种Fc γ R-介导的效应子功能,参见例如美国专利号5,624,821和6,737,056。

[0391] 在一些实施例中,该多聚体Tn3支架包括经由一个或多个接头连接的至少两个CD40L-特异性单体亚单位,其中在每个CD40L-特异性单体亚单位之间施置的接头可以是相

同的接头或不同的接头。在一些实施例中,一种接头可以包括多个接头,这多个接头可以是相同的接头或不同的接头。在一些实施例中,当多个接头被串联时,这些接头中的一些或全部可以是功能部分。

[0392] 支架结合化学计量

[0393] 在一些实施例中,单体或多聚体Tn3支架包括一个对不同表位具有特异性的CD40L-特异性单体亚单位,这些不同的表位可以是单一CD40L分子上的或不同CD40L靶分子上的不同表位。在一些实施例中,多聚体Tn3支架可以包括以下CD40L-特异性单体亚单位,其中每个亚单位靶向一个或多个CD40L分子上的一个或多个不同的表位。

[0394] 在其他实施例中,单体或多聚体Tn3支架可以与同一CD40L分子上的两个或更多个不同表位结合。在一些实施例中,这些不同的表位是不重叠的表位。在其他实施例中,这些不同的表位是重叠的表位。

[0395] 在又一个具体实施例中,单体或多聚体Tn3支架可以与一个CD40L 分子上的一个或多个表位结合并且额外地与第二个CD40L分子上的一个或多个表位结合。在一些实施例中,这些不同的靶分子是低聚复合物(例如,三聚体CD40L 复合物)的一部分。

[0396] 在仍另一个具体实施例中,单体或多聚体Tn3支架可以与CD40L三聚体上的单一表位结合。在仍另一个实施例中,单体或多聚体Tn3支架可以与至少两个CD40L三聚体上的同一表位结合。

[0397] 在某些实施例中,单体或多聚体Tn3支架可以与相邻细胞表面上的 CD40L分子的两个或更多个拷贝的同一表位结合。在某些实施例中,单体或多聚体Tn3支架可以与溶液中的CD40L分子的两个或更多个拷贝的同一表位结合。在一些实施例中,单体或多聚体Tn3支架可以与具有相同或不同结合亲和力和/或亲合性的CD40L上的同一表位或不同表位结合。

[0398] 在另一个实施例中,单体或多聚体Tn3支架可以与CD40L的一个或多个拷贝上的表位结合并且实现或增强(例如,协同地)对该靶标的所希望的作用,例如阻止与受体结合或阻止低聚化。

[0399] 此外,当本发明的单体或多聚体Tn3支架包括多个CD40L-特异性单体亚单位(例如不同单体),其中的每个单体靶向CD40L上的不同表位时,可以根据某种模式或特殊的方向排列此类单体亚单位,以实现或增强某一种生物效应。可以使用本领域已知的方法组装单体亚单位的这样的组合并且随后对其进行评估。融合

[0400] 本发明提供了以下Tn3支架,其中至少一个CD40L-特异性单体亚单位可以被融合至一个异源部分。在此背景下,使用该异源部分不是来作为间隔区连接支架而是可以为该Tn3支架提供额外的官能度。在一些实施例中,异源部分还可以作为接头而发挥作用。本发明涵盖共轭至或融合至一个或多个异源部分的Tn3 支架的用途,这些异源部分包括但不限于肽、多肽、蛋白质、融合蛋白、核酸分子、小分子、模拟剂、合成药物、无机分子、以及有机分子。因此,本发明提供了包括一个或多个CD40L-特异性Tn3单体的多肽,单体包括但不限于在此描述的融合蛋白。

[0401] 本发明涵盖重组地融合至或化学地共轭至异源蛋白质或多肽或其片段的Tn3支架的用途。共轭包括共价共轭和非共价共轭两者。在一些实施例中,Tn3 支架可以被融合至或化学地共轭至具有至少10个、至少20个、至少30个、至少 40个、至少50个、至少60个、至少70个、至少80个、至少90个、至少100个、至少200个、至少300个、至少500个、或至少1000个氨基

酸的多肽,以产生融合蛋白。

[0402] Tn3支架与一个或多个异源部分的融合或共轭可以是直接的,即无需在 Tn3支架与异源部分之间施置接头,或可以经由一个或多个在此描述的接头序列。在一些实施例中,可以使用支架通过将该Tn3支架融合至或共轭至对靶细胞中的具体细胞表面受体具有特异性的抗体来将异源多肽体外或体内地靶向具体的细胞类型。

[0403] 还可以使用本领域已知的方法将融合至或共轭至异源多肽的Tn3支架用于体外免疫测定以及纯化方法中。参见例如国际公开号W0 93/21232;欧洲专利号 EP 439,095; Naramura (那拉穆拉) 等人, Immunol. Lett. (免疫学快报) 39:91-99, 1994; 美国专利号5, 474, 981; Gillies (吉利斯) 等人, PNAS 89:1428-1432, 1992; 以及 Fe11 (菲尔) 等人, J. Immunol. (免疫学杂志) 146:2446-2452, 1991, 将其通过引用以其全文结合。

[0404] 在一些实施例中,可以通过将支架与免疫球蛋白或其结构域融合或共轭而将Tn3支架与人类免疫应答整合在一起,这些免疫球蛋白或其结构域包括但不限于IgG的恒定区(Fc),经由通过N端或C端。类似地,可以使用在Tn3支架与补体蛋白(例如CIq)之间的融合物来靶向细胞。

[0405] 不同公开物描述了用于获得生理学上有活性的分子的方法,通过向这些分子中引入FcRn-结合多肽(参见例如W0 97/43316;美国专利号5,869,046;美国专利号5,747,035; W0 96/32478;以及W0 91/14438)、通过这些分子与保留 FcRn-结合亲和力但是对其他Fc受体的亲和力已经被大大减小的抗体融合(参见例如W0 99/43713)、或通过这些分子与抗体的FcRn结合结构域融合(参见例如 W0 00/09560;美国专利号4,703,039)来修改这些分子的半衰期。还可以在美国专利号7,083,784中发现增加生理学上有活性的分子的半衰期的具体技术和方法。确切地,在此考虑了可以将Tn3支架融合至来自IgG的Fc区,其中该Fc区包括氨基酸残基突变M252Y/S254T/T256E或H433K/N434F/Y436H,其中根据卡巴特(Kabat)编号模式来指定氨基酸位置。在此确切考虑了Tn3支架与不能够诱导 ADCC的Fc结构域变体的融合。

[0406] 在一些实施例中,可以通过将Tn3支架与本质上非结构化的重组多肽(例如,XTENTM多肽)基因地融合或通过与聚乙二醇(PEG)共轭来增加Tn3支架的半衰期。

[0407] 在一些实施例中,可以将Tn3支架与增加或延长体内血清半衰期的分子融合。在一些实施例中,可以将支架与白蛋白(例如人血清白蛋白(HSA))、其新生儿Fc受体(FcRn)结合片段、PEG、多糖、抗体、补体、血红蛋白、结合肽、脂蛋白以及其他因子共轭,以增加其在血流中的半衰期和/或其组织渗透。可以通过标准技术产生任何这些融合物,例如通过由使用公众可获得的基因序列构建的重组融合基因表达融合蛋白。

[0408] 在一些实施例中,可以通过共轭至或融合至一种HSA变体来改善Tn3 支架的一种特性,该HSA变体即是衍生自包括至少一个氨基酸取代、缺失、或序列平截的全长HSA (SEQ ID NO:139)的分子。

[0409] 在一些实施例中,通过与HSA变体共轭而改善的特性是血浆半衰期。Tn3支架的血浆半衰期的改善可以是由于以下特性的改变,例如血浆半衰期的增加或减少、或其他药物代谢动力学参数的变化。在一些实施例中,该HSA变体是一种衍生自全长HSA (SEQ ID NO: 138)的突变体。在一个具体实施例中,该HSA 变体在位置34处包括一个半胱氨酸至丝氨酸的取代(SEQ ID NO:133)。可以用来修饰Tn3支架的血浆半衰期的HSA变体描述于例如国际

公布WO 2011/103076 和WO 2011/051489中,将二者通过引用以其全文而结合。在一些实施例中,通过将Tn3支架与在HSA的结构域III中包括至少一个氨基酸取代的HSA变体融合来增加本发明的Tn3支架的血浆半衰期。

[0410] 在一些实施例中,本发明的Tn3支架包括一个HSA变体,该HSA变体包括全长成熟的HSA (SEQ ID NO:138) 或其片段的序列,除了至少一个在选自下组的位置处的氨基酸取代以外,该组由以下各项组成:407、415、463、500、506、508、509、511、512、515、516、521、523、524、526、535、550、557、573、574、以及580,相对于全长成熟的HSA的位置编号;其中至少一个氨基酸取代不包括在位置573处的赖氨酸(K)被取代为谷氨酸(E),并且其中该Tn3支架具有比未共轭至该HSA变体的Tn3支架的血浆半衰期长的血浆半衰期。

[0411] 在一些其他实施例中,相对于在全长成熟HSA中的位置进行编号,至少一个氨基酸取代在选自下组的位置,该组由以下各项组成:463、508、523、以及524,其中该Tn3支架具有比未共轭至该HSA变体的Tn3支架的血浆半衰期长的血浆半衰期。

[0412] 在其他实施例中,本发明的Tn3支架包括一个HSA变体,该HSA变体包括全长成熟HSA (SEQ ID NO:133或138) 或其片段的序列,相对于在全长成熟HSA中的位置进行编号,除了至少一个选自下组的氨基酸取代以外,该组由以下各项组成:

[0413] (a) 将位置407处的亮氨酸(L)取代为天冬酰胺(N)或酪氨酸(Y);

[0414] (b) 将位置415处的缬氨酸(V)取代为苏氨酸(T);

[0415] (c) 将位置463处的亮氨酸(L)取代为天冬酰胺(N);

[0416] (d) 将位置500处的赖氨酸(K)取代为精氨酸(R);

[0417] (e) 将位置506处的苏氨酸(T)取代为酪氨酸(Y);

[0418] (f) 将位置508处的苏氨酸(T)取代为精氨酸(R);

[0419] (g) 将位置509处的苯丙氨酸(F)取代为甲硫氨酸(M)或色氨酸(W);

[0420] (h) 将位置511处的丙氨酸(A)取代为苯丙氨酸(F);

[0421] (i) 将位置512处的天冬氨酸(D)取代为酪氨酸(Y);

[0422] (j) 将位置515处的苏氨酸(T)取代为谷氨酰胺(Q);

[0423] (k) 将位置516处的亮氨酸(L)取代为苏氨酸(T)或色氨酸(W);

[0424] (l) 将位置521处的精氨酸(R)取代为色氨酸(W);

[0425] (m) 将位置523处的异亮氨酸(I)取代为天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)、甘氨酸(G)、赖氨酸(K)、或精氨酸(R);

[0426] (n) 将位置524处的赖氨酸(K)取代为亮氨酸(L);

[0427] (o) 将位置526处的谷氨酰胺(Q)取代为甲硫氨酸(M);

[0428] (p) 将位置535处的组氨酸(H)取代为脯氨酸(P);

[0429] (q) 将位置550处的天冬氨酸(D)取代为谷氨酸(E);

[0430] (r) 将位置557处的赖氨酸(K)取代为甘氨酸(G);

[0431] (s) 将位置573处的赖氨酸(K)取代为苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)、脯氨酸(P)、色氨酸(W),或酪氨酸(Y);

[0432] (t) 将位置574处的赖氨酸(K)取代为天冬酰胺(N);

[0433] (u) 将位置580处的谷氨酰胺(Q)取代为赖氨酸(K);以及

[0434] (v) 两个或更多个所述取代的组合,

[0435] 其中所述Tn3支架具有比未共轭至所述HSA变体的Tn3支架的血浆半衰期更长的血浆半衰期。

[0436] 在一些实施例中,该Tn3支架包括一个HSA变体,该HSA变体包括全长成熟HSA (SEQ ID NO:133或138) 或其片段的序列,相对于在全长成熟HSA 中的位置进行编号,除了至少一个选自下组的氨基酸取代以外,该组由以下各项组成:

[0437] (a) 将位置463处的亮氨酸(L) 取代为天冬酰胺(N);

[0438] (b) 将位置508处的苏氨酸(T) 取代为精氨酸(R);

[0439] (c) 将位置523处的异亮氨酸(I) 取代为天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)、甘氨酸 (G)、赖氨酸(K)、或精氨酸(R);

[0440] (d) 将位置524处的赖氨酸(K) 取代为亮氨酸(L);以及

[0441] (e) 两个或更多个所述取代的组合,

[0442] 其中所述Tn3支架具有比未共轭至所述HSA变体的Tn3支架的血浆半衰期更长的血浆半衰期。

[0443] 此外,可以将本发明的Tn3支架融合至标记物序列(例如肽),以协助纯化。在一些实施例中,标记物氨基酸序列是多组氨酸肽(His-标签),例如八-组氨酸-标签(His-8-标签)或六-组氨酸-标签(His-6-标签),例如在pQE表达载体(凯捷公司(QIAGEN, Inc.), 9259 伊顿大街,查茨沃思庄园(Chatsworth), 加州, 91311) 提供的标签,在其他载体中,许多标签是可商购的。如在Gentz(根茨)等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA(美国国家科学院论文集) 86:821-824,1989 中所描述,例如,多组氨酸为融合蛋白的纯化提供便利。可用于纯化的其他标签包括但不限于对应于衍生自流感血凝素血凝素蛋白的表位的(“HA”) 标签(参见例如,Wilson(威尔逊)等人,Cell(细胞) 37:767,1984)、FLAG标签、Strep- 标签、myc-标签、V5标签、GFP-标签、AU1-标签、AU5-标签、ECS-标签、GST- 标签、或OLLAS标签。

[0444] 可以通过基因改组(gene-shuffling)、基序改组(motif-shuffling)、外显子改组、和/或密码子改组(统称为“DNA改组”) 技术产生包括本发明的Tn3 支架的额外的融合蛋白。

[0445] 可以采用DNA改组来改变Tn3支架对靶标的作用(例如,产生具有更高亲和力和更低离解速率的支架)。在重组之前,可以通过随机诱变经由易错PCR、随机核苷酸插入、以及其他方法改变Tn3支架。可以将一个或多个编码与特定靶标结合的支架的多核苷酸的部分与一个或多个异源分子的一种或多种组分、基序、部分、部件、结构域、片段等重组。

[0446] 抗体和Fc结构域融合

[0447] 在一些实施例中,本发明的Tn3支架包括一个融合至抗体(例如,IgG) 的结构域或片段(包括但不限于Fc结构域)的CD40L-特异性单体亚单位。

[0448] 在一些实施例中,仅仅一个CD40L-特异性单体亚单位被共轭至或融合至抗体的结构域或片段。例如,可以将单一的CD40L-特异性单体亚单位融合至抗体的结构域或片段(例如,抗体的重链或轻链)的多肽的N端。在其他实施例中,可以通过将一个或多个CD40L-特异性单体亚单位与抗体的结构域或片段(例如,抗体的重链和/或轻链、或Fc结构域)的多肽的N端和/或C端融合或共轭来创建Tn3支架。

[0449] 在一些实施例中,一些或全部融合至抗体的结构域或片段的CD40L-特异性单体亚单位是相同的。在一些其他实施例中,一些或全部融合至抗体的结构域或片段的CD40L-特

异性单体亚单位是不同的。

[0450] 在一个特定实施例中,本发明的Tn3支架包括一个融合至Fc结构域的 CD40L-特异性单体亚单位。在其他实施例中,本发明的Tn3支架包括至少两个融合至Fc结构域的CD40L-特异性单体亚单位。在一个特定实施例中,两个融合至 Fc结构域的CD40L-特异性单体亚单位是相同的。在一个特定实施例中,两个融合至Fc结构域的CD40L-特异性单体亚单位是不同的。在一个特定实施例中,两个融合至Fc结构域的CD40L-特异性单体亚单位一前一后地彼此连接,并且一个 CD40L-特异性单体亚单位被融合至该Fc结构域。

[0451] 在一些实施例中,可以通过使用偏好形成异源二聚体的Fc结构域突变来二聚化本发明的Tn3支架。在本领域中已知的是,Fc区的变体(例如,氨基酸取代和/或添加和/或缺失)增强或降低抗体的效应子功能并且可以改变该抗体的药物代谢动力学特性(例如半衰期)。因此,在某些实施例中,本发明的Tn3支架包括一个或多个含有被改变的Fc区的Fc结构域,其中在Fc区中已经做出了一个或多个改变,以改变该Tn3支架的功能特性和/或药物代谢动力学特性。在某些实施例中,本发明的Tn3支架包括一个或多个含有被改变的Fc区的Fc结构域,其中在Fc区中已经做出了一个或多个改变,以减少或消除至少一种Fc R-介导的效应子功能。

[0452] 还已知的是,可以修饰Fc区的糖基化,以增加或减少效应子功能和/或抗炎性活性。因此,在一个实施例中,本发明的Tn3支架包括一个具有改变的氨基酸残基的糖基化的Fc区,以便改变Tn3支架的细胞毒特性和/或抗炎性特性。Tn3支架拓扑结构

[0453] 本发明的Tn3支架能以任何适合的空间排布融合至Fc结构域、抗体轻链、以及抗体重链的C端。参加例如,国际公开PCT/US2011/032184,得到预期的支架拓扑结构的详细说明。

[0454] 本发明的支架的产生

[0455] 可以将在此描述的Tn3支架在任何用于演化出新的或改善的靶标结合蛋白的技术中使用。在一个具体实例中,该靶标被固定在固相支持体(例如柱树脂或微量滴定板孔)上,并且该靶标与基于候选支架的结合蛋白的文库相接触。这样的文库可以由通过CDR样环的序列和/或长度的随机化由Tn3支架构建的克隆组成。

[0456] 在此方面中,细菌噬菌体(噬菌体)展示是一种熟知的技术,该技术允许人们筛选大的寡肽文库,以鉴定那些文库中能够与一种靶标特异性结合的一个或多个成员。噬菌体展示是一种将变体多肽展示为在细菌噬菌体颗粒的表面上的外壳蛋白的融合蛋白的技术(Scott(斯科特),J.K.和Smith(史密斯),G.P. (1990) Science(科学) 249:386)。可以采用生物信息学途径确定自然发生的FnIII结构域的环长和多样性偏好。使用这一分析,可以采用环长和序列多样性的偏好研发一个“受限随机化”途径。在这一受限随机化中,将相对环长和序列偏好合并进文库策略的研发中。将环长和序列多样性分析整合进文库研发中导致受限随机化(即被随机化的环中的某些位置受限于可以在那一位置存在哪种氨基酸)。

[0457] 本发明还提供了包括具有非天然发生的Tn3支架的多样群体的重组文库。在一个实施例中,这些文库包括非天然发生的Tn3支架,这些支架包括多个被连接至多个环区的 β 链结构域,其中一个或多个所述环通过至少一个氨基酸的缺失、取代或添加而变化。在一个具体实施例中,这些文库包括衍生自野生型Tn3 支架的Tn3支架。

[0458] 如以上详细说明书的,可以将连接这些支架的不同 β 链的环的长度和/或序列多样性

随机化。在一个实施例中,本发明的这些文库包括具有长度和/或序列多样性被随机化的至少一个环的Tn3支架。在一个实施例中,这些Tn3支架的至少一个环、至少两个环、至少三个环、至少四个环、至少五个环或至少六个环的长度和/或序列多样性被随机化。在一个实施例中,至少一个环保持不变,同时至少一个另外的环的长度和/或序列多样性被随机化。在另一个实施例中,环AB、CD、和EF中的至少一个、至少两个、或全部三个保持不变,同时环BC、DE、和FG 中的至少一个、至少两个、或全部三个的长度或序列多样性被随机化。在另一个实施例中,环AB、CD、和EF中的至少一个、至少两个、或至少全部被随机化,同时环BC、DE、和FG中的至少一个、至少两个、或全部三个的长度或序列多样性被随机化。

[0459] 在一个特定实施例中,本发明的这些文库包括FnIII支架,其中A β 链包括SEQ ID NO:10或11,B β 链包括SEQ ID NO:12,C β 链包括SEQ ID NO: 13或14,D β 链包括SEQ ID NO: 15,E β 链包括SEQ ID NO:16,F β 链包括SEQ ID NO:17,并且G β 链包括SEQ ID NO:18。

[0460] 在一个特定实施例中,本发明的这些文库由FnIII支架,其中A β 链由 SEQ ID NO: 10或11组成,B β 链由SEQ ID NO:12组成,C β 链由SEQ ID NO: 13或14组成,D β 链由SEQ ID NO:15组成,E β 链由SEQ ID NO:16组成,F β 链由SEQ ID NO:17组成,并且G β 链由SEQ ID NO: 18组成。

[0461] 在一个特定实施例中,本发明的这些文库基本由FnIII支架,其中A β 链基本由SEQ ID NO:10或11组成,B β 链基本由SEQ ID NO:12组成,C β 链基本由SEQ ID NO:13或14组成,D β 链基本由SEQ ID NO:15组成,E β 链基本由SEQ ID NO:16组成,F β 链基本由SEQ ID NO:17组成,并且G β 链基本由SEQ ID NO:18组成。

[0462] 如以上详细说明书的,在一个环内的一个或多个残基可以保持不变,同时其他残基的长度和/或序列多样性被随机化。可任选地或可替代地,在一个环内的一个或多个残基可以保持为预先确定的并且有限数目的不同的氨基酸,同时其他残基的长度和/或序列多样性被随机化。因此,本发明的文库包括以下Tn3支架,这些支架可以包括一个或多个具有简并的共有序列的环和/或一个或多个不变的氨基酸残基。在另一个实施例中,本发明的这些文库包括具有被随机化的BC环的Tn3 支架。在另一个实施例中,本发明的这些文库包括具有被随机化的BC环的Tn3 支架。在仍另一个实施例中,本发明的这些文库包括具有被随机化的BC环的Tn3 支架。

[0463] 在一个实施例中,本发明的这些文库包括具有被随机化的DE环的Tn3 支架。在一个实施例中,本发明的这些文库包括具有被随机化的FG环的Tn3支架。在另一个实施例中,本发明的这些文库包括具有被随机化的FG环的FnIII支架。

[0464] 在一个特定实施例中,本发明的这些文库包括以下支架,其中这些支架包括以下氨基酸序列:

[0465] IEV (X_{AB})_n ALITW (X_{BC})_n CELX₁YGI (X_{CD})_n TTIDL (X_{DE})_n YSI (X_{EF})_n YEVS LIC (X_{FG})_n KE TFFT

[0466] 其中:

[0467] (a) X_{AB}、X_{BC}、X_{CD}、X_{DE}、X_{EF}、和X_{FG} 分别表示存在于AB、BC、CD、DE、EF、和FG环的序列中的氨基酸残基;

[0468] (b) X₁表示氨基酸残基A或T;并且

[0469] (c) 环的长度n是在2与26之间的整数。

[0470] 在一些实施例中,本发明的这些文库包括含有以下氨基酸序列的本发明的CD40L-

特异性Tn3单体亚单位：

[0471] IEVKDVTDTTALITWX₁DX₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈CELTYGIKDVPDRTTIDLWX₉HX₁₀A X₁₁YSIGNLKPD
TEYEVSLICRX₁₂GDMSSNPAKETFTT (SEQ ID NO:167)

[0472] 其中：

[0473] (a) X₁表示氨基酸残基丝氨酸(S)或丝氨酸(L)；

[0474] (b) X₂表示氨基酸残基天冬氨酸(D)或谷氨酸(E)；

[0475] (c) X₃表示氨基酸残基组氨酸(H)、异亮氨酸(I)、缬氨酸(V)、苯丙氨酸(F)或色氨酸(W)；

[0476] (d) X₄表示氨基酸残基丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)；

[0477] (e) X₅表示氨基酸残基谷氨酸(E)、亮氨酸(L)、谷氨酰胺(Q)、丝氨酸(S)、天冬氨酸(D)或天冬酰胺(N)；

[0478] (f) X₆表示氨基酸残基苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；

[0479] (g) X₇表示氨基酸残基异亮氨酸(I)、缬氨酸(V)、组氨酸(H)、谷氨酸(E)或天冬氨酸(D)；

[0480] (h) X₈表示氨基酸残基甘氨酸(G)、色氨酸(W)或缬氨酸(V)；

[0481] (i) X₉表示氨基酸残基色氨酸(W)、苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；

[0482] (j) X₁₀表示氨基酸残基丝氨酸(S)、谷氨酰胺(Q)、甲硫氨酸(M)或组氨酸(H)；

[0483] (k) X₁₁表示氨基酸残基色氨酸(W)或组氨酸(H)；并且

[0484] (l) X₁₂表示氨基酸残基精氨酸(R)或丝氨酸(S)。

[0485] 在一些实施例中，本发明的这些文库包括含有以下氨基酸序列的本发明的CD40L-特异性Tn3单体亚单位：

[0486] IEVX₁DVTDTTALITWX₂X₃RSX₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀CELX₁₁YGIKDVPDRTTIDLX₁₂X₁₃X₁₄X₁₅YVHY
SIGNLKPDXTX₁₆YEVSLICLTDDGTXY₁₇NPAKETFTT (SEQ ID NO: 171)

[0487] 其中：

[0488] (a) X₁表示氨基酸残基赖氨酸(K)或谷氨酸(E)；

[0489] (b) X₂表示氨基酸残基苏氨酸(T)或异亮氨酸(I)；

[0490] (c) X₃表示氨基酸残基天冬酰胺(N)或丙氨酸(A)；

[0491] (d) X₄表示氨基酸残基丝氨酸(S)、亮氨酸(L)、丙氨酸(A)、苯丙氨酸(F)或酪氨酸(Y)；

[0492] (e) X₅表示氨基酸残基酪氨酸(Y)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或丝氨酸(S)；

[0493] (f) X₆表示氨基酸残基酪氨酸(Y)、丝氨酸(S)、丙氨酸(A)或组氨酸(H)；

[0494] (g) X₇表示氨基酸残基天冬酰胺(N)、天冬氨酸(D)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0495] (h) X₈表示氨基酸残基亮氨酸(L)、苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0496] (i) X₉表示氨基酸残基组氨酸(H)、脯氨酸(P)、丝氨酸(S)、亮氨酸(L)或天冬氨酸(D)；

[0497] (j) X₁₀表示氨基酸残基甘氨酸(G)、苯丙氨酸(F)、组氨酸(H)或酪氨酸(Y)；

[0498] (k) X₁₁表示氨基酸残基丙氨酸(A)或苏氨酸(T)；

[0499] (l) X₁₂表示氨基酸残基丝氨酸(S)、天冬酰胺(N)、谷氨酸(E)、天冬酰胺(R)或天冬

氨酸(D)；

[0500] (m) X_{13} 表示氨基酸残基丝氨酸(S)、谷氨酰胺(Q)、苏氨酸(T)、天冬酰胺(N)或丙氨酸(A)；

[0501] (n) X_{14} 表示氨基酸残基脯氨酸(P)、缬氨酸(V)、异亮氨酸(I)或丙氨酸(A) 或没有氨基酸；

[0502] (o) X_{15} 表示氨基酸残基异亮氨酸(I) 或没有氨基酸；

[0503] (p) X_{16} 表示氨基酸残基谷氨酸(E) 或赖氨酸(K)；并且

[0504] (q) X_{17} 表示氨基酸残基丝氨酸(S) 或天冬酰胺(N)。

[0505] 本发明进一步提供了通过筛选本发明的这些文库，用于鉴定与靶标(例如，CD40L)结合并且与亲本Tn3支架相比对该靶标(例如，CD40L)具有增加的稳定性或改善的的作用的重组Tn3支架的方法。

[0506] 在某些实施例中，用于鉴定与亲本Tn3支架相比具有增加的蛋白质稳定性并且与靶标特异性结合的重组Tn3支架的方法包括：

[0507] 在适于形成支架：靶标配体复合物的条件下，使该靶标配体与本发明的一个文库接触；

[0508] 从该络合物中获得与该靶标配体结合的支架；

[0509] 确定在步骤(b)中获得的支架的稳定性是否大于野生型Tn3支架的稳定性。

[0510] 可以使用同一方法鉴定对该靶标具有改善的结合亲和力、亲合力等的重组Tn3支架。在一个实施例中，在步骤(a)中，将本发明的支架文库与固定的靶标一起孵育。在一个实施例中，在步骤(b)中，洗涤该支架：靶标配体络合物以除去非特异性粘合剂，并且在非常严格条件下洗脱最紧的粘合剂并且使其经受PCR，以回收序列信息。在此确切考虑了可以使用在此披露的方法或本领域普通技术人员已知的方法，将在步骤中(b)获得的粘合剂和/或序列信息用来创建新的文库，在需要或无需进一步突变该序列的情况下，可以使用该文库来重复选择过程。在一些实施例中，可以继续多轮选择，直到获得对该抗原具有足够的亲和力的粘合剂。

[0511] 本发明的一个另外的实施例是一批编码包括本发明的支架并且如上所述的文库的分离的核酸分子。

[0512] 可以使本发明的支架经受亲和力成熟。在这一领域接受的过程中，使特定的结合蛋白经受一个方案，选择该方案来对特定的靶标具有增加的亲和力进行的方案(参见Wu(吴)等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA.(美国国家科学院论文集) 95(11):6037-42)。本发明形成的支架可以展示出在亲和力成熟之前，至少与该支架一样高的结合特征。

[0513] 本发明还提供了鉴定能够与靶标结合的蛋白支架的氨基酸序列的方法，以便形成支架：靶标复合物。在一个实施例中，该方法包括：(a)使本发明的一个文库与固定的或可分离的靶标接触；(b)将支架：靶标复合物与游离的支架分离；(c)使(b)的分离的支架复制，以便生成一个以具有降低的多样性并且以富含能够与该靶标结合的显示的支架而与(a)中的文库区分开的新多肽展示文库；d)用(c)的新的文库可任选地重复步骤(a)和(b)；以及e)确定编码来自(d)的一个种类的显示支架的区域的核酸序列并且因此推导出能够与该靶标结合的肽序列。

[0514] 在另一个实施例中，在由一个文库筛选鉴定以后，本发明的Tn3支架可以被进一步

随机化。在一个实施例中,本发明的方法包括进一步随机化使用在此描述的一种方法从文库中鉴定的支架的至少一个环、至少两个环、至少三个环、至少四个环、至少五个环或至少六个环。在另一个实施例中,使进一步被随机化的支架经受鉴定能够与靶标结合的支架的随后的方法。这一方法包括(a)使所述进一步被随机化的支架与固定的或可分离的靶标接触,(b)将进一步被随机化的支架:靶标复合物与游离的支架分离,(c)使(b)的分离的支架复制,可任选地重复步骤(a)-(c),以及(d)确定编码所述进一步被随机化的支架的区域的核酸序列并且因此,推导出能够与该靶标结合的肽序列。

[0515] 在一个另外的实施例中,进一步被随机化的支架包括预先在第一文库中被随机化的至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、或至少六个被随机化的环。在一个交替的另外的实施例中,进一步被随机化的支架包括预先在第一文库中未被随机化的至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、或至少六个被随机化的环。

[0516] 本发明还提供了一种用于获得至少两个与至少一个或多个靶标结合的 Tn3 支架的方法。这一方法允许筛选合作地发挥作用以引起具体应答的试剂。当需要多于一个支架的合作的激动活性时,使用这样的一种筛选可以是有利的。这一方法允许筛选协同试剂而无需重定文库的格式,以形成多聚体复合物。在一个实施例中,本发明的方法包括使靶标配体与本发明的文库在允许形成支架:靶标配体复合物的条件下进行接触,使所述支架与交联剂(被定义为使至少两个相同的或不同的支架离得很近的试剂)结合,其中这些支架的交联引起一个可检测的应答并且从该复合物中获得与该靶标结合的所述支架。在一个另外的实施例中,该交联剂是支架特异性抗体或其片段、表位标签特异性抗体或其片段、二聚化结构域(例如Fc区)、卷曲螺旋基序(例如但不限于亮氨酸拉链)、化学交联剂、或本领域已知的另一种二聚化结构域。

[0517] 本发明还提供了利用本发明的Tn3支架检测化合物的方法。基于通过文库筛选获得的Tn3支架的结合特异性,在测定中使用此类Tn3支架来检测样品中的特定靶标是可能的,例如用于诊断方法。在一个实施例中,检测化合物的方法包括使样品中的所述化合物与本发明的Tn3支架在允许形成化合物:支架复合物的条件下进行接触并且检测所述支架,由此检测样品中的所述化合物。在另外的实施例中,将该支架标记(即,放射性标记、荧光、酶联或比色标记),以协助该化合物的检测。

[0518] 本发明还提供了利用本发明的Tn3支架捕捉化合物的方法。基于通过文库筛选获得的Tn3支架的结合特异性,在测定中使用此类Tn3支架来捕获样品中的特定靶标是可能的,例如用于纯化方法。在一个实施例中,捕获样品中的化合物的方法包括使样品中的所述化合物与本发明的支架在允许形成化合物:支架复合物的条件下进行接触并且将所述复合物从该样品中除去,由此捕获所述样品中的所述化合物。在另外的实施例中,将Tn3支架固定,以协助除去化合物:支架复合物。

[0519] 在一些实施例中,从本发明的文库中分离的Tn3支架包括至少一个、至少两个、至少四个、至少五个、至少六个、或更多个被随机化的环。在一些实施例中,来自供体支架的分离的Tn3支架环序列可以与FnIII接收者支架中的任何环互换,接收者支架包括但不限于Tn3接收者支架(例如,来自供体支架的FG环序列可以被转移至接收者FnIII支架中的任何环)。在特定实施例中,分离的环序列可以被转移至接收者支架中的同源环(例如,来自供体支架的FG环序列可以被转移至FnIII接收者支架的FG环位置处)。在一些实施例中,分离的

环序列可以与不同接收者支架随机地“混合并相配”。

[0520] 在其他实施例中,可以通过环序列鉴定分离的Tn3支架序列。例如,使用一个文库来淘具体的靶标并且分离一批特定的粘合剂。可以将随机化的环序列表征为独立于Tn3支架背景的特异序列(即,与靶标X结合的支架,其中所述支架包括SEQ ID NO:X的FG环序列)。在替代性实施例中,在一个支架展示出两个与靶标X结合的环境序列的情况下,可以将这些环境序列表征为在该支架序列不存在的情况下结合靶标X。换言之,在此考虑了从结合具体靶标的文库中分离的支架可以被表达为独立于该支架骨架结合那一靶标的可变环境序列。这一过程类似于抗体的可变区中的CDR的概念。

[0521] 亲和力成熟

[0522] 本发明的Tn3支架的研发可以涉及一个或多个体外或体内亲和力成熟步骤。在一些实施例中,Tn3单体亚单位可以经历单步的亲和力成熟。在一些实施例中,Tn3单体亚单位可以经历两步或更多步的亲和力成熟。可以采用通常导致亲本 Tn3支架中的氨基酸改变、或确切地亲本Tn3支架的环中的氨基酸改变的任何亲和力成熟途径,这些改变改善亲和力成熟的Tn3支架与所希望的抗原的结合。

[0523] 可以经由例如随机诱变、“漫步(walk though)”诱变、以及“浏览(look through)”诱变实现这些氨基酸改变。可以通过使用例如易错PCR、酵母菌或细菌的“增变基因”菌株、在基于FnIII的结合分子的全部从头合成或部分从头合成过程中掺入随机的或限定的核酸改变来实现这样的诱变。用于进行亲和力成熟和/或诱变的方法描述于例如美国专利号7,195,880;6,951,725;7,078,197;7,022,479;5,922,545;5,830,721;5,605,793;5,830,650;6,194,550;6,699,658;7,063,943;5,866,344 以及PCT公开W0 06023144中。

[0524] 此类亲和力成熟方法可能进一步需要增加抗原结合筛选测定的严谨度,以选择对抗原具有改善的亲和力的Tn3支架。可以在这里使用增加蛋白质相互作用测定的严格性的领域公认的方法。在一个实施例中,可以改变一个或多个测定条件(例如,测定缓冲液的含盐浓度),以减小Tn3支架与所希望的抗原的亲和力。在另一个实施例中,Tn3支架与所希望的抗原结合所允许的时间的长度被减少。

[0525] 在另一个实施例中,可以向蛋白质相互作用测定中添加竞争性结合步骤。例如,首先可以允许该Tn3支架与所希望的固定抗原结合。然后添加特定浓度的非固定抗原,用来与固定抗原竞争结合,这样使得对抗原具有最低亲和力的 Tn3支架被从固定抗原上洗脱下来,导致选择出对具有改善的抗原结合亲和力的 Tn3支架。可以通过增加向该测定中添加的非固定抗原的浓度来进一步增加测定条件的严谨度。

[0526] 筛选方法可能也需要多轮选择,以富集一个或多个具有改善的抗原结合的Tn3支架。在一个实施例中,在每一轮选择中,向该Tn3支架中引入另外的氨基酸突变。在另一个实施例中,在每一轮选择中,增加与所希望的抗原的结合的严格性,以选择对抗原具有增加的亲和力的Tn3支架。

[0527] 在一些实施例中,通过Tn3的BC、DE、和FG环的部分的饱和诱变进行亲和力成熟。在一些实施例中,使用孔克尔致变作用(Kunkel mutagenesis)进行饱和诱变。在其他实施例中,通过使用PCR进行饱和诱变。

[0528] 在一些实施例中,应用至少一轮、至少两轮、至少三轮、至少四轮、至少五轮、或多于五轮的亲和力成熟。在一些实施例中,仅对一个环应用饱和诱变,而在一些其他实施例

中,在一轮亲和力成熟的过程中,仅对一个环或一个环的一部分进行突变。在一些实施例中,在同一轮的亲和力成熟过程中,对多于一个环或一个或多个环的部分进行突变。

[0529] 在其他实施例中,在同一轮的亲和力成熟过程中,同时突变BC、DE、和FG环。

[0530] 在将单体组装为与同一靶标的不同表位结合的多聚体Tn3支架的情况下,可以单独筛选每个结合特异性。

[0531] 在一些实施例中,使用噬菌体展示文库随机化这些环。在一些实施例中,可以使用本领域公认的方法确定Tn3支架与所希望的靶标的结合。而且,可以使用领域公认的方法确定在筛选中鉴定的Tn3支架的氨基酸序列。

[0532] 在一些实施例中,与亲和力成熟之前的同一Tn3支架相比,本发明的单体亲和力成熟的支架展示出对CD40L的至少5倍、至少10倍、至少20倍、至少40倍、至少60倍、至少80倍、或至少100倍或更多倍的亲和力的增加,如通过表面等离子共振(Surface Plasmon Resonance)或通过本领域已知的其他测定所测量的。在一些实施例中,本发明的单体亲和力成熟的支架具有小于5 μ M、小于1 μ M、小于500 μ M、小于250 μ M、小于100 μ M、或者小于50 μ M的解离常数(K_d),如通过表面等离子共振或通过本领域已知的其他测定所测量的。

[0533] 可以将这些亲和力成熟方法应用于研发具有令人希望的改善的结合特性,例如增加的亲和力或其他令人希望的特征(例如有利的药物代谢动力学特性、高效力、低免疫原性、增加的或减少的交叉反应性等)的Tn3支架。

[0534] 串联重复序列的产生

[0535] 可以通过使用本领域已知的限制性内切酶在限制位点处连接寡核苷酸来产生串联构建体(即通过将两个CD40L-特异性单体亚单位连接而形成的二聚体)的连接,这些限制性内切酶包括但不限于II型和IIS型限制性内切酶。

[0536] 本发明的多聚体Tn3支架在C端和/或N端和/或如在此所描述的结构域之间可以包括一个接头。另外,包括至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个多肽支架的本发明的支架可以被融合至或共轭至一个二聚化结构域,包括但不限于选自以下的抗体部分:

[0537] (i) 具有VL、CL、VH以及CH1结构域的Fab片段;

[0538] (ii) 作为在CH1结构域的C端具有一个或多个半胱氨酸残基的Fab片段的Fab'片段;

[0539] (iii) 具有VH和CH1结构域的Fd片段;

[0540] (iv) 具有VH和CH1结构域并且在CH1结构域的C端具有一个或多个半胱氨酸残基的Fd'片段;

[0541] (v) 具有抗体的单臂的VL和VH结构域的Fv片段;

[0542] (vi) 由VH结构域组成的dAb片段;

[0543] (vii) 分离的CDR区;

[0544] (viii) F(ab')₂片段,即包括两个由铰链区的二硫桥键连接的Fab'片段的二价片段;

[0545] (ix) 单链抗体分子(例如,单链Fv; scFv);

[0546] (x) 具有两个抗原结合位点的“双抗体”,包括一个被连接至同一多肽链中的轻链可变域(VL)的重链可变域(VH);

[0547] (xi) 包括一对串联Fd区段 (VH-CH1-VH-CH1) 的“线性抗体”，这对串联 Fd区段与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区；

[0548] (xii) 全长抗体；以及

[0549] (xiii) 包括CH2-CH3的Fc区，该Fc区可以进一步包括全部铰链区和/或CH1 区或其一部分。

[0550] Tn3支架生产

[0551] 本发明的Tn3支架的重组表达需要构建一个包含编码该Tn3支架的多核苷酸的表达载体。一旦获得了编码Tn3支架的多核苷酸，便可以使用本领域中熟知的技术经由重组DNA技术生产用于产生该Tn3支架的载体。因此，在此描述了通过表达含有编码Tn3支架的核苷酸序列的多核苷酸来制备蛋白质的方法。可以使用本领域普通技术人员熟知的方法来构建包含编码支架多肽的序列以及适当的转录和翻译控制信号的表达载体。这些方法包括例如体外重组DNA技术、合成技术、以及体内基因重组。因此，本发明提供了包括编码本发明的Tn3支架的核苷酸序列、被可操作地连接至启动子的可复制的载体。

[0552] 通过常规技术将表达载体转移至宿主细胞中，并且然后通过常规技术来培养所转染的细胞，以产生本发明的Tn3支架。因此，本发明提供了包含编码本发明的支架的多核苷酸、被可操作地连接至异源性启动子的宿主细胞。适合的宿主细胞包括但不限于微生物，例如细菌（如大肠杆菌和纳豆芽孢杆菌）。

[0553] 可以利用多种宿主表达载体系统来表达本发明的Tn3支架。此类宿主表达系统代表通过其可以产生并随后纯化感兴趣的编码序列的载体，但还代表当用合适的核苷酸编码序列转化或转染时，原位表达本发明的一种支架的细胞。这些包括但不限于用包含支架编码序列的重组细菌噬菌体DNA的、质粒DNA的或粘粒 DNA的表达载体转化的微生物，如细菌（例如，大肠杆菌和枯草芽孢杆菌），或哺乳动物细胞系统（例如，COS、CHO、BHK、293、NSO、以及3T3细胞）。

[0554] 用于生产本发明的Tn3支架的方法披露于例如国际专利申请公开号W0 2009/058379中。一旦已经通过重组表达产生本发明的支架，便可以通过本领域已知的用于蛋白质纯化的任何方法纯化该支架。

[0555] 在一些实施例中，可以通过在重组表达过程中替代可以被糖基化的氨基酸残基来以糖基化形式生产本发明的支架。在一个特定实施例中，在甘氨酸-丝氨酸接头（例如，SEQ ID NO:131或SEQ ID NO:132）中的丝氨酸氨基酸可以被其他氨基酸残基替代，例如丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或缬氨酸（参见例如SEQ ID NO:140、141、142和143），以便在重组表达过程中阻止糖基化作用。在一些特定实施例中，将N-糖基化位点从本发明的Tn3支架中去除。在其他实施例中，在重组表达之后，可以将本发明的支架去糖基化。使用例如酶混合物在重组表达之后体外去糖基化的方法在本领域中是已知的（例如，PFGase F、Enodo F Multi、Orela O-linked Glycan Release（Orela O-连接的聚糖释放酶）、Enzymatic CarboRelease（酶的碳水化合物释放酶）、以及由QA-bio公司，Palm Desert（棕榈沙漠），加州销售的Enzymatic DeGlycoMx去糖基化试剂盒）。

[0556] 可以将研究实验室中的本发明的Tn3支架的生产按比例放大用于在分析规模的反应器或生产规模的反应器中生产支架，如描述于美国专利公开号US 2010-0298541A1中。

[0557] 分泌型Tn3支架的大规模生产

[0558] 可以将本发明的Tn3支架细胞内地生产或将其生产为分泌形式。在一些实施例中，这些分泌型支架是适当折叠并完全功能化的。本发明的Tn3支架能以大规模过程生产。在一些实施例中，在研究实验室中能以大规模过程生产本发明的支架，可以将其按比例放大以在分析规模的生物反应器（例如但不限于5L、10 L、15L、30L、或50L生物反应器）中生产本发明的支架。在其他实施例中，在研究实验室中能以大规模过程生产本发明的Tn3支架，可以将其按比例放大以在生产规模的生物反应器（例如但不限于75L、100L、150L、300L、或500L）中生产本发明的Tn3支架。在一些实施例中，与在研究实验室中进行的生产过程相比，本发明的大规模过程导致在生产效率上很少的减少或没有减少。

[0559] 接头

[0560] 在多聚体Tn3支架中的单体亚单位可以由蛋白质和/或非蛋白质接头连接，其中每个接头被融合到至少两个单体亚单位。适合的接头可以由蛋白质接头、非蛋白质接头、及其组合组成。接头的组合可以是同数的或异数的。在一些实施例中，本发明的多聚体Tn3支架包括多个单体亚单位，其中所有的接头都是相同的。在其他实施例中，多聚体Tn3支架包括多个单体亚单位，其中至少一个接头与剩余的接头在功能上或结构上是不同的。在一些实施例中，接头可以本身通过直接或间接参与与靶标的结合而有助于多聚体Tn3支架的活性。

[0561] 在一些实施例中，该蛋白质接头是一种多肽。接头多肽应该具有适合以这样一种方式连接两个或更多个单体亚单位的长度，在该方式中它们相对于彼此采取正确的构象，这样使得它们保留所希望的活性。

[0562] 在一个实施例中，该多肽接头包括1个至约1000个氨基酸残基、1个至约50个氨基酸残基、1-25个氨基酸残基、1-20个氨基酸残基、1-15个氨基酸残基、1-10个氨基酸残基、1-5个氨基酸残基、1-3个氨基酸残基。本发明进一步提供了编码该多肽接头序列的核酸，例如DNA、RNA、或两者的组合。选择被包含在该多肽接头中的氨基酸残基应该展示出不显著地干扰本发明的多聚体Tn3支架的活性或功能的特性。因此，多肽接头应该大体上不展示出将与本发明的Tn3多聚体支架的活性或功能不一致的职责、或干扰内部折叠、或与一个或多个单体亚单位中的氨基酸残基形成键或其他相互作用，这将严重地妨碍本发明的多聚体Tn3支架与CD40L的结合。

[0563] 将天然发生的连同人工的肽接头用于将多肽连接进新颖的连接融合多肽中在该文献中是熟知的。因此，与两个或更多个单体亚单位融合的接头是天然的接头、人工接头、或其组合。在一些实施例中，存在于本发明的Tn3多聚体支架中的所有肽接头的氨基酸序列都是相同的。在其他实施例中，存在于本发明的多聚体Tn3支架中的至少两个肽接头的氨基酸序列是不同的。

[0564] 在一些实施例中，多肽接头拥有构象柔性。在一些实施例中，多肽接头序列包括一个(G-G-G-G-X)_m氨基酸序列，其中X是丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、甘氨酸(G)、异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)或缬氨酸(V)并且m是一个正整数（参见例如，SEQ ID NO:209）。在一个特定实施例中，多肽接头序列包括一个(G-G-G-G-S)_m氨基酸序列，其中m是一个正整数（参见例如，SEQ ID NO:147）。在另一个具体实施例中，多肽接头序列包括一个(G-G-G-G-G)_m氨基酸序列，其中m是一个正整数（参见例如，SEQ ID NO:148）。在仍另一个具体实施例中，多肽接头序列包括一个(G-G-G-G-A)_m氨基酸序列，其中m是一个正整数（参见例如，SEQ ID NO:149）。在一些实施例中，多肽接头是固有非结构化的天然的或人工的多肽（参见例如，

Schellenberger (舍伦贝格尔) 等人, *Nature Biotechnol.* (自然生物技术) 27:1186-1190, 2009; 还参见, Sickmeier (斯科米尔) 等人, *Nucleic Acids Res.* (核酸研究) 35:D786-93, 2007)。

[0565] 能以引入包括非多肽部分的附接基团的氨基酸残基的这样一种方式修饰该肽接头。这样的氨基酸残基的实例可以是半胱氨酸残基(然后非多肽部分顺序附接至其上)或该氨基酸残基可以包括一个体内N-糖基化位点(由此将糖部分(体内)附接至该肽接头)。

[0566] 在一些实施例中, 存在于该多肽多聚体中的所有肽接头的氨基酸序列都是相同的。可替代地, 存在于该多肽多聚体中的所有肽接头的氨基酸序列可以是不同的。

[0567] Tn3支架的标记或共轭

[0568] 可以将本发明的Tn3支架以非共轭形式使用或可以被共轭至多种异源部分中的至少一个, 以协助靶标检测或用于成像或治疗。可以在纯化前或纯化后、进行纯化时标记或共轭本发明的Tn3支架。

[0569] 许多异源部分缺少本发明的Tn3支架可以连接至其上的适合的官能团。因此, 在一些实施例中, 通过一个接头将效应分子附接至该支架, 其中该接头包含用于共轭的反应基团。在一些实施例中, 共轭至本发明的Tn3支架的异源部分可以起接头的作用。在其他实施例中, 经由一个可以是可剪切的或不可剪切的接头将该部分共轭至该Tn3支架。在一个实施例中, 可剪切的连接分子是一种氧化还原可剪切的连接分子, 这样使得该连接分子在具有更低的氧化还原电位的环境中(例如细胞质)以及其他具有更高浓度的具有游离的巯基的分子的区域中是可剪切的。由于氧化还原电位的变化可以被剪切的连接分子的实例包括: 包含二硫化物的那些。

[0570] 在一些实施例中, 将本发明的Tn3支架工程化, 以提供用于共轭的反应基团。在这样的支架中, N端和/或C端也可以用来提供用于共轭的反应基团。在其他实施例中, N端可以被共轭至一个部分(例如但不限于PEG), 同时C端被共轭至另一个部分(例如但不限于生物素), 或反之亦然。

[0571] 术语“聚乙二醇”或“PEG”意指具有或不具有偶联剂、偶联部分或激活部分(例如, 具有硫醇、三氟甲基磺酸酯、三氟乙基磺酸酯、氮丙啶、环氧乙烷、N-羟基琥珀酰亚胺或马来酰亚胺部分)的聚乙二醇化合物或其衍生物。术语“PEG”旨在指示具有在500Da与150,000Da之间的分子量的聚乙二醇(包括其类似物), 其中例如末端OH-基团已经被甲氧基替代(被称为mPEG)。

[0572] 本发明的Tn3支架可以用聚乙二醇(PEG)衍生。PEG是具有两个末端羟基基团的氧化乙烯重复单位的一种线性的水溶性聚合物。通过PEG的分子量对其进行分类, 其分子量典型地在从约500道尔顿至约40,000道尔顿的范围。在一个特定实施例中, 采用的PEG具有在从5,000道尔顿至约20,000道尔顿的范围的分子量。与本发明的支架偶联的PEG可以是支链的或直链的。参见例如, Monfardini (蒙法蒂妮), C等人1995 *Bioconjugate Chem* (生物共轭化学) 6:62-69。PEG 从奈克塔公司(Nektar Inc.)、西格玛化学制品公司(Sigma Chemical Co.)以及其他公司是可商购的。此类PEG包括但不限于单甲氧基聚乙二醇(MePEG-OH)、单甲氧基聚乙二醇-琥珀酸酯(MePEG-S)、单甲氧基聚乙二醇-琥珀酰亚胺琥珀酸酯(MePEG-S-NHS)、单甲氧基聚乙二醇-胺(MePEG-NH₂)、单甲氧基聚乙二醇-三氟乙基磺酸酯(MePEG-TRES)、以及单甲氧基聚乙二醇-咪唑基-碳酰(MePEG-IM)。

[0573] 简言之,由非反应基团(如甲氧基或乙氧基)为利用的亲水聚合物(例如,PEG)在一端加帽。此后,通过与一种适合的激活剂反应在另一端将该聚合物激活,该激活剂是例如氰尿卤化物(例如,氰尿氯化物、溴化物或氟化物)、羰基二咪唑、酸酐剂(例如,二卤代琥珀酸酐,如二溴代琥珀酸酐)、酰基叠氮、对重氮鎓苄基醚、3-(对重氮鎓苯氧基)-2-羟丙基醚)以及类似物。然后,激活的聚合物与如在所述的多肽进行反应,以产生衍生自聚合物的多肽。可替代地,可以将本发明的Tn3支架中的一个官能团激活,用于与该聚合物反应,或可以使用已知的偶联方法将两个基团结合在一个协定的偶联反应中。将容易理解的是,可以使用本领域普通技术人员已知并且使用的大量的其他反应方案用PEG衍生化本发明的多肽。可以在该Tn3支架的任一端或该Tn3支架内的一个或多个官能团处将PEG偶联至本发明的支架。在某些实施例中,在N端抑或C端偶联PEG。

[0574] 在其他实施例中,可以将本发明的Tn3支架、其类似物或衍生物共轭至一种诊断剂或可检测的试剂。此类Tn3支架可以作为临床测试程序的一部分用于监测或预测疾病的发展或进展,例如确定具体治疗的疗效。

[0575] 本发明进一步涵盖共轭至治疗部分的Tn3支架的用途。可以将Tn3支架共轭至治疗部分(例如细胞毒素,如细胞抑制剂或杀细胞剂)、治疗剂或放射性金属离子(如, α -发射体)。细胞毒素或细胞毒剂包括对细胞有害的任何试剂。

[0576] 测定Tn3支架

[0577] 可以通过多种本领域已知的体外测定方法确定Tn3支架与抗原的结合亲和力以及其他结合特性,这些体外测定方法包括例如平衡法(如,酶联免疫吸附测定法(ELISA)或动力学(如,BIACORE®分析),以及其他方法,例如间接结合测定法、竞争性结合测定法、凝胶电泳法和色谱法(如,凝胶过滤法)。这些以及其他方法可以利用在被检查的一种或多种成分上的标记和/或采用多种检测方法,包括但不限于生色标记、荧光标记、发光标记、或同位素标记。可以在Paul(保罗),W.E.,编辑,Fundamental Immunology(基础免疫学),第4辑,Lippincott-Raven(利平科特-瑞文),Philadelphia(费城)(1999)中发现结合亲和力和动力学的详细说明。

[0578] 在一些实施例中,本发明的Tn3支架与具有特定动力学的靶标特异性结合。在一些实施例中,本发明的Tn3支架可以具有小于 $1 \times 10^{-2} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-3} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-4} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-5} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-6} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-9} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-10} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-11} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-12} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-13} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-14} \text{M}$ 或小于 $1 \times 10^{-15} \text{M}$ 的解离常数或 K_d ($k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$)。在特定实施例中,本发明的Tn3支架具有500 μM 、100 μM 、500 nM、100nM、1nM、500pM、100pM或更小的 K_d ,如通过BIAcore测定®或通过本领域已知的其他测定所确定的。

[0579] 在一个替代性实施例中,将本发明的Tn3支架的亲和力按照缔合常数(K_a)进行描述,缔合常数被计算为 $k_{\text{on}}/k_{\text{off}}$ 的比率,具有至少 $1 \times 10^2 \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^3 \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^4 \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^6 \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^7 \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^8 \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^9 \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{10} \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{11} \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{12} \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{13} \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{14} \text{M}^{-1}$ 、 $1 \times 10^{15} \text{M}^{-1}$ 、或至少 $5 \times 10^{15} \text{M}^{-1}$ 的缔合常数。

[0580] 在某些实施例中,本发明的Tn3支架从靶标表位解离的速率可能比 K_d 或 K_a 的值更相关。在一些实施例中,本发明的Tn3支架具有小于 10^{-3}s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 、小于 10^{-4}s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ 、小于 10^{-5}s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$ 、小于 10^{-6}s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-6} \text{s}^{-1}$ 、小于 10^{-7}s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-7} \text{s}^{-1}$ 、小于 10^{-8}s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-8} \text{s}^{-1}$ 、小于 10^{-9}s^{-1} 、小于 $5 \times 10^{-9} \text{s}^{-1}$ 、或小于 10^{-10}s^{-1} 的 k_{off} 。

[0581] 在某些其他实施例中,本发明的Tn3支架与靶标表位缔合的速率可能比 K_d 或 K_a 的值更相关。在此情况下,本发明的Tn3支架以至少 $10^5 M^{-1}s^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$ 、至少 $10^6 M^{-1}s^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ 、至少 $10^7 M^{-1}s^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$ 、或至少 $10^8 M^{-1}s^{-1}$ 、或至少 $10^9 M^{-1}s^{-1}$ 的 k_{on} 速率与靶标结合。

[0582] 本发明的Tn3支架还可以被附接至固相支持体,这尤其可用于靶标抗原的免疫测定或纯化。这样的固相支持体包括但不限于玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

[0583] CD40L-特异性Tn3支架

[0584] 本发明提供了与CD40L特异性结合的Tn3支架。在特定实施例中,本发明的支架与人类CD40L特异性结合。在其他特定实施例中,本发明的Tn3支架与来自小鼠、鸡、恒河猴、猕猴、大鼠、或兔的CD40L同系物结合。在一些实施例中,本发明的Tn3支架与CD40L的暴露表位结合。此类实施例包括在细胞和/或被转染以异位表达该受体的细胞上内源表达的CD40L。

[0585] 在一些实施例中,本发明的Tn3支架识别展示在单体CD40L上的表位。在其他实施例中,本发明的Tn3支架识别展示在CD40L的三聚体形式上的表位。在其他实施例中,本发明的Tn3支架识别展示在膜结合的CD40L上的表位。在其他实施例中,本发明的Tn3支架识别展示在可溶性CD40L上的表位。

[0586] 在另外的其他实施例中,本发明的Tn3支架与单体CD40L结合并且阻止或干扰CD40L分子的低聚化。在另外的其他实施例中,本发明的支架减少或抑制CD40L与CD40的相互作用。在其他实施例中,本发明的Tn3支架激动由CD40L介导的细胞信号传导。在另外的其他实施例中,本发明的Tn3支架拮抗由CD40L介导的细胞信号传导。

[0587] 本发明还提供了使用在此描述的Tn3支架调节CD40L活性的方法。在一些实施例中,本发明的方法包括使CD40L与CD40L-特异性支架接触并且阻断CD40与CD40L之间的相互作用。在其他实施例中,本发明的方法包括使表达CD40L的细胞与CD40L-特异性Tn3支架接触并且阻止CD40L从细胞表面的蛋白裂解。在其他实施例中,本发明的方法包括使CD40L单体与CD40L-特异性Tn3支架接触并且阻止CD40L低聚化。在其他实施例中,可以通过使用多聚体Tn3支架实现CD40L的二聚化或低聚化。

[0588] 在一些实施例中,本发明的方法包括给予减少CD40-介导的免疫应答(参见例如Elqueta(艾奎塔)等人229:152-172,2009)或由CD40与CD40L的结合引发的下游信号传导通路(如通过本领域已知的常规测定所测量)的CD40L特异性支架。

[0589] 不希望被任何具体的理论所束缚,本发明的CD40L支架可以通过以下方式发挥作用:通过阻止CD40L与CD40的结合,通过结合并多价螯合可溶性CD40L,通过改变CD40L与CD40的相互作用而非阻止结合,通过阻止或增强金属蛋白酶介导的CD40L从细胞表面的酶法裂解以产生可溶性CD40L,通过阻止或增强细胞表面CD40L胞吞作用等。

[0590] 特异性CD40L结合序列

[0591] 在一些实施例中,本发明的Tn3支架包括以下CD40L-特异性单体亚单位,这些亚单位包括至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、或至少六个与CD40L结合的环序列。

[0592] 在一些实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、或至少六个选自以下的CD40L-结合单体克隆的环序列:309(分离自天

然Tn3文库的亲本309家族克隆;SEQ ID NO:20),309FGwt (具有人源化的FG环的亲本309克隆;SEQ ID NO:22),340(亲和力成熟的 309克隆;SEQ ID NO:24),341(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:26),342(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:28或SEQ ID NO:146),343(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:30),344(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:32),345(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:34),346(亲和力成熟的309 克隆;SEQ ID NO:36),347(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:38),348(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:40),349(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:42),311(分离自天然Tn3文库的亲本311家族克隆;SEQ ID NO:44),311K4E(来自第一轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:46);311K4E_1(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:48),311K4E_2(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:50),311K4E_3(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:52),311K4E_4(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:54),311K4E_5(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:56),311K4E_7(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:58),311K4E_8(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:60),311K4E_9(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:62),311K4E_10(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:64),311K4E_11(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:66),311K4E_12(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:68),311K4E_13(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:70),311K4E_14(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:72),311K4E_15(来自第二轮亲和力成熟的变体 311家族克隆;SEQ ID NO:74),311K4E_16(来自第二轮亲和力成熟的变体311 家族克隆;SEQ ID NO:76),311K4E_19(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:78),311K4E_20(来自第二轮亲和力成熟的变体311家族克隆;SEQ ID NO:80),以及311K4E_21(来自第二轮亲和力成熟的变体311 家族克隆;SEQ ID NO:82)。

[0593] 在一些实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括至少一个选自列于表2 中的环序列的环序列。在其他实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括至少一个选自列于表2中的BC环序列的BC环序列。在其他实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括至少一个选自列于表2中的DE环序列的DE环序列。在其他实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括至少一个选自列于表2中的FG环序列的FG环序列。

[0594] 在一些实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括一个选自列于表2中的 BC环序列的BC环序列;以及一个选自列于表2中的DE环序列的DE环序列。在其他实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括一个选自列于表2中的BC环序列的BC环序列;以及一个选自列于表2中的FG环序列的FG环序列。在其他实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括一个选自列于表2中的DE环序列的DE 环序列;以及一个选自列于表2中的FG环序列的FG环序列。在一些实施例中,CD40L-特异性单体亚单位包括对应于来自一个、两个或三个不同Tn3克隆的环序列的环序列。

[0595] 在某些实施例中,在CD40L-特异性单体支架序列在该序列的C端包含一个接头和/或组氨酸标签(例如,His-8标签)、或额外的N端氨基酸的情况下,可以去除这些C端接头和/或组氨酸标签以及额外的N端氨基酸,因此对应的氨基酸序列包含C端接头和His标签序列以及N端额外的一个或多个氨基酸的缺失。

[0596] 在一些实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括一个单一的单体亚单位,例如342克隆序列(亲和力成熟的309克隆;SEQ ID NO:28和/或SEQ ID NO:146)。在其他实施例中,CD40L-特异性支架包括多于一个单体亚单位,例如一前一后两个342克隆单体亚单位(SEQ ID NO:28和/或SEQ ID NO:146)(参见例如,SEQ ID NO:135)。在特定实施例中,本发明的Tn3支架被共轭至变体HSA(参见例如,SEQ ID NO:134和SEQ ID NO:135)。在另外的实施例中,可以在多聚体Tn3支架的N端抑或C端共轭该HSA。

[0597] 在一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括一个单一的311K4E_12单体亚单位、一个GS接头、以及一个C34S HSA变体(参见例如,SEQ ID NO:201)。在另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括一个具有 β 链C CELTYG变体的单一的311K4E_12单体亚单位、一个全是甘氨酸的接头、以及一个C34S HSA变体(参见例如,SEQ ID NO:202)。在另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括两个一前一后地311K4E_12亚单位、以及两个GS接头,其中一个GS接头将亚单位彼此连接并且第二个GS接头将一个亚单位与C34S HSA变体连接(参见例如,SEQ ID NO:203)。在仍另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括两个一前一后地311K4E_12亚单位、以及两个全是甘氨酸的接头,其中一个全是甘氨酸的接头将亚单位彼此连接并且第二个全是甘氨酸的接头将一个亚单位与C34S HSA变体连接(参见例如,SEQ ID NO:204)。

[0598] 在一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括两个经由一个GS接头一前一后连接的309亚单位(参见例如,SEQ ID NO:205)。在另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括一个单一的连接至C34S HSA变体的309亚单位(参见例如,SEQ ID NO:206)。在另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括两个一前一后地309亚单位、以及两个GS接头,其中一个GS接头将亚单位彼此连接并且第二个GS接头将一个亚单位与C34S HSA变体连接(参见例如,SEQ ID NO:207)。

[0599] 在一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括一个单一的342单体亚单位、一个GS接头、以及一个C34S HSA变体(参见例如,SEQ ID NO:134)。在另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括一个单一的342单体亚单位、一个全是甘氨酸的接头、以及一个C34S HSA变体(参见例如,SEQ ID NO:144)。在另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括两个一前一后地342亚单位、以及两个GS接头,其中一个GS接头将亚单位彼此连接并且第二个GS接头将一个亚单位与C34S HSA变体连接(参见例如,SEQ ID NO:135)。在又另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括两个一前一后地342亚单位、以及两个全是甘氨酸的接头,其中一个全是甘氨酸的接头将亚单位彼此连接并且第二个全是甘氨酸的接头将一个亚单位与C34S HSA变体连接(参见例如,SEQ ID NO:145)。在又另一个特定实施例中,CD40L-特异性Tn3支架包括两个经由一个GS接头一前一后连接的342亚单位(参见例如,SEQ ID NO:208)。

[0600] 在一个特定实施例中,该CD40L-特异性Tn3支架包括在另一个特定实施例中,该CD40L-特异性Tn3支架包括一前一后地一个311亚单位或一个衍生自311(例如,311K4E_12)的亚单位和一个309亚单位或一个衍生自309(例如,342)的亚单位以及两个GS接头,其中一个GS接头将亚单位彼此连接并且第二个GS接头将一个亚单位与C34S HSA变体连接(参见例如,SEQ ID NO:135)。在又另一个具体实施例中,该CD40L-特异性Tn3支架包括一前一后地一个311亚单位或一个衍生自311(例如,311K4E_12)的亚单位和一个309亚单位或一个

衍生自309(例如,342)的亚单位以及两个全是甘氨酸的接头,其中一个全是甘氨酸的接头将亚单位彼此连接并且第二个全是甘氨酸的接头将一个亚单位与C34S HSA变体连接(参见例如,SEQ ID NO:145)。

[0601] CD40L-特异性串联二价Tn3支架和血清白蛋白(SA)融合物的实例示出图2A中(还参见图9A)。尽管在图2A中提供了特定的接头,但是考虑了如在此提供的其他接头。尽管可以使用野生型成熟SA,例如鼠血清白蛋白(MSA)或人血清白蛋白(HSA),但是在此考虑了在成熟SA中的一个或多个半胱氨酸(C) 氨基酸残基可以被例如丝氨酸(S)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、等取代。

[0602] 下面示出了代表性构建体。SA的序列被加下划线。接头被加框。将理解的是许多改变在本发明的范围内。例如,接头可以被改变(在此提供了若干非限制性实例),第一个或前两个N端氨基酸残基(SQ)可以不存在和/或被替代性氨基酸残基取代,可以掺入标签(例如,6xHis标签),可以在类似构建体中使用替代性CD40L-特异性支架(例如,基于纤连蛋白的第10个Fn3结构域的那些)等。

[0603] 342单价HSA构建体1 (SEQ ID NO:134)

[0604] [342单体]-(G₄S)₂接头-HSA_{C34S}

[0605] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAH YSIGNLKPD

[0606] TEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI

[0607] AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYG

[0608] EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARR

[0609] HPYFYAPELLFFAKRYKAAFTGCCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQK

[0610] FGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC

[0611] ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV

[0612] FLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ

[0613] NLIKQNC ELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR

[0614] MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAE

[0615] TFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKE

[0616] TCFAEEGKKLVAAASQAALGL

[0617] 342单价HSA构建体2 (SEQ ID NO:144)

[0618] [342单体]-G₁₀接头-HSA_{C34S}:

[0619] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAH YSIGNLKPD

[0620] TEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTTGGGGGGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI

[0621] AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYG

[0622] EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARR

[0623] HPYFYAPELLFFAKRYKAAFTGCCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQK

[0624] FGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC

[0625] ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV

[0626] FLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ

[0627] NLIKQNC ELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR

[0628] MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAE

- [0629] TFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKE
- [0630] TCFAEEGKKLVAASQAALGL
- [0631] 342二价HSA构建体1 (SEQ ID NO:135)
- [0632] [342单体] - (G₄S)₃接头 - [342单体] - (G₄S)₂接头 - HSA_{C34S}:
- [0633] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAH YSIGNLKP
- [0634] TEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTTGGGGSGGGSGGGGSRDAPSQIEVKD VDTTALI
- [0635] TWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSIGNLKPDTTEYEVSLICRSGDMS
- [0636] SNPAKETFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV
- [0637] KL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
- [0638] CFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKR
- [0639] YKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLS
- [0640] QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCE
- [0641] KP LLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPD
- [0642] YSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGE
- [0643] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL
- [0644] CVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
- [0645] RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQ
- [0646] AALGL
- [0647] 342二价HSA构建体2 (SEQ ID NO:145)
- [0648] [342单体] - G₁₅接头 - [342单体] - G₁₀接头 - HSA_{C34S}:
- [0649] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAH YSIGNLKP
- [0650] TEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTTGGGGGGGGGGGGGGGRLDAPSQIEVK DVTDTTALI
- [0651] TWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSIGNLKPDTTEYEVSLICRSGDMS
- [0652] SNPAKETFTTGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV
- [0653] KL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
- [0654] CFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKR
- [0655] YKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLS
- [0656] QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCE
- [0657] KP LLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPD
- [0658] YSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGE
- [0659] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL
- [0660] CVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
- [0661] RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQ
- [0662] AALGL
- [0663] 311K4E₁₂单价HSA构建体1 (SEQ ID NO:201)
- [0664] [311K4E₁₂单体] - (G₄S)₂接头 - HSA_{C34S}:
- [0665] SQIEVEDVTDTTALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPGDRTTIDLNQPYV HYSIGNLK
- [0666] PDTEYEVSLICLTDTGTNNPAKETFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKAL
- [0667] VLI AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRE

- [0668] TYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEI
- [0669] ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CAS
- [0670] LQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAK
- [0671] YICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEA
- [0672] KDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVE
- [0673] EPQNL IKQNC ELF EQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPE
- [0674] AKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF
- [0675] NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKAD
- [0676] DKETCFAEEGKKLV AASQAALGL
- [0677] 311K4E_12单价HSA构建体2 (SEQ ID NO:202)
- [0678] [311K4E_12单体] -G₁₀接头-HSA_{C34S}:
- [0679] SQIEVEDVTDTTALITWTNRSSYSNLHGCELTYGIKDVPGDRTTIDL NQPYV HYSIGNLK
- [0680] PDTEYEVSLICLTTDGTYN NPAKETFTTGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKAL
- [0681] VLI AFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRE
- [0682] TYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEI
- [0683] ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CAS
- [0684] LQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAK
- [0685] YICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEA
- [0686] KDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVE
- [0687] EPQNL IKQNC ELF EQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPE
- [0688] AKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF
- [0689] NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKAD
- [0690] DKETCFAEEGKKLV AASQAALGL
- [0691] 311K4E_12二价HSA构建体1 (SEQ ID NO:203)
- [0692] [311K4E_12单体] -G₄S₃接头 - [311K4E_12单体] - (G₄S)₂接头-HSA_{C34S}:
- [0693] SQIEVEDVTDTTALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPGDRTTIDL NQPYV HYSIGNLK
- [0694] PDTEYEVSLICLTTDGTYN NPAKETFTTGGGGSGGGSGGGGSRLDAPSQIE VEDVTDTT
- [0695] ALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPGDRTTIDL NQPYVHYSIGNLKPDTE YEVSLICL
- [0696] TTDGTYN NPAKETFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQS
- [0697] PFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQ
- [0698] EPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPEL
- [0699] LFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAW
- [0700] AVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK
- [0701] LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EY
- [0702] ARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC EL
- [0703] FEQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLS
- [0704] VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC
- [0705] TLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKK
- [0706] LVAASQAALGL

[0707] 311K4E_12二价HSA构建体2 (SEQ ID NO:204)

[0708] [311K4E_12单体]-G₁₅接头-[311K4E_12单体]-G₁₀接头-HSA_{C34S}:

[0709] SQIEVEDVTDTTALITWTNRSSYSNLHGCELTGKIDVPGDRTTIDLNQPYV HYSIGNLK

[0710] PDTEYEVSLICLTDDGTYNPAKETFTTGGGGGGGGGGGGGGGRLDAPSQ IEVEDVTDTT

[0711] ALITWTNRSSYSNLHGCELAYGKIDVPGDRTTIDLNQPYVHYSIGNLKPDTE YEVSILICL

[0712] TTDGTYNPAKETFTTGGGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQS

[0713] PFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQ

[0714] EPERNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPEL

[0715] LFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAW

[0716] AVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK

[0717] LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEQ

[0718] ARRHPDYSVVLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLE

[0719] FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLS

[0720] VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC

[0721] TLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKK

[0722] LVAASQAALGL

[0723] 药物组合物

[0724] 在另一个方面中,本发明提供了一种组合物(例如但不限于药物组合物),该组合物包含与药学上可接受的运载体一起配制的一个本发明的Tn3支架或其组合。此类组合物可以包括例如但不限于一个本发明的Tn3支架或两个或更多个不同的Tn3支架的组合。例如,本发明的药物组合物可以包括与靶标抗原上的不同表位结合或具有互补活性的Tn3支架的组合。在一个特定实施例中,药物组合物包括一个本发明的单一的单体Tn3支架。在一个特定实施例中,药物组合物包括一个本发明的多聚体Tn3支架。在仍另一个具体实施例中,药物组合物包括本发明的二聚体Tn3支架。

[0725] 本发明的药物组合物还能以联合治疗的方式被给予,例如与其他试剂组合。例如,联合治疗可以包括与至少一种其他的治疗组合的一个本发明的Tn3支架,其中该治疗可以是免疫治疗、化学治疗、放射治疗、或药物治疗。本发明的药物化合物可以包括一种或多种药学上可接受的盐。

[0726] 使用支架的方法

[0727] 本发明的Tn3支架具有体外和体内诊断和治疗用途。例如,可以向培养物(例如,体外的或离体的)或受试者(例如,体内的)中的细胞给予这些分子,用于治疗、预防或诊断多种失调。

[0728] 本发明还提供了使用本发明的Tn3支架的方法。本发明还涵盖使用本发明的Tn3支架(单独地抑或与其他疗法组合)用来预防、诊断、管理、治疗或缓解与以下疾病、疾病的失调或失调(包括但不限于癌症、炎症疾病和自身免疫性疾病、传染病)相关的一种或多种症状。本发明还涵盖使用共轭至或融合至一个部分(例如,治疗剂或药物)的本发明的Tn3支架(单独地或与其他疗法组合)用来预防、管理、治疗或缓解与以下疾病、失调或感染(包括但不限于癌症、炎症疾病和自身免疫性疾病、传染病)相关的一种或多种症状。

[0729] 本发明还提供了用传统的抗体不容易完成的靶向表位的方法。例如,在一个实施

例中,可以使用本发明的Tn3支架首先靶向临近的抗原并且同时结合,另一个结合结构域可能吸引隐藏的抗原。

[0730] 本发明还提供了使用Tn3支架来使不同的细胞类型集合的方法。在一个实施例中,本发明的蛋白质可以与具有一个结合结构域的靶细胞结合并且经由另一个结合结构域募集另一个细胞。在另一个实施例中,第一个细胞可以是癌细胞并且第二个细胞可以是免疫效应细胞(例如NK细胞)。在另一个实施例中,可以使用本发明的Tn3支架强化两个不同的细胞(例如抗原呈递细胞和T细胞)之间的相互作用,来可能地促进免疫应答。

[0731] 本发明还提供了使用Tn3支架来耗尽细胞群体的方法。在一个实施例中,本发明的方法可在以下细胞类型的耗尽中 useful:嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、T细胞、B细胞、肥大细胞、单核细胞以及肿瘤细胞。

[0732] 本发明还提供了将Tn3支架用作诊断剂的方法。可以使用此类诊断剂来测试CD40L的存在或不存在、CD40受体的存在或不存在、CD40L与CD40受体的结合效率、患者中游离的CD40L、样品中游离的CD40L、或样品中与CD40受体结合的CD40L。

[0733] 本发明的Tn3支架以及包括它的组合物对于许多目的是有用的,例如,作为针对大范围的慢性疾病和急性疾病以及失调(包括但不限于自体免疫性疾病和/或炎性疾病)的治疗剂。在此描述的本发明的组合物以及方法对于预防或治疗自身免疫性失调和/或炎性失调是有用的。

[0734] 自身免疫性失调和/或炎性失调的实例包括但不限于:斑秃、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、自身免疫性爱迪生氏病、肾上腺的自身免疫性疾病、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性卵巢炎和睾丸炎、舍格伦综合征(Sjogren's syndrome)、银屑病、动脉硬化、糖尿病的和/或其他视网膜病、晶体后纤维增生症、与年龄相关的黄斑变性、新生血管性青光眼、血管瘤、甲状腺增生(包括格雷夫斯病(Grave's disease))、角膜等组织移植、和慢性炎症、脓毒病、类风湿关节炎、腹膜炎、克罗恩病(Crohn's disease)、再灌注损伤、败血症、内毒素休克、囊性纤维化、心内膜炎、银屑病、关节炎(例如银屑病性关节炎)、过敏性休克、器官缺血、再灌注损伤、脊髓损伤和同种异体移植排斥、自身免疫性血小板减少症、白塞氏病(Behcet's disease)、大疱性类天疱疮、心肌病、口炎性腹泻-皮炎、慢性疲劳免疫功能失调综合征(CFIDS)、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经疾病、变应性肉芽肿血管炎(Churg-Strauss syndrome)、瘢痕性类天疱疮、CREST综合征、冷凝集素病、克罗恩病、盘状狼疮、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肾小球肾炎、格雷夫斯病、格林-巴利(Guillain-Barre)、桥本氏甲状腺炎、特发性肺纤维化、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、IgA的神经病、幼年型关节炎、扁平苔藓、红斑狼疮、美尼尔氏病(Meniere's disease)、混合性结缔组织病、多发性硬化、1型或免疫介导的糖尿病、重症肌无力、寻常性天疱疮、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、多肌炎和皮肌炎、原发性丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、银屑病、银屑病性关节炎、Raynaud氏现象、莱特尔氏综合征(Reiter's syndrome)、类风湿关节炎、结节病、硬皮病、舍格伦综合征、僵人综合征、系统性红斑狼疮、红斑狼疮、多发性大动脉炎、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎如疱疹样皮炎性血管炎、白癜风和韦格纳氏肉芽肿病。

[0735] 炎性失调的实例包括但不限于:哮喘、脑炎、炎症性肠病、慢性阻塞性肺病(COPD)、变应性紊乱、感染性休克、肺纤维化、未分化的脊柱关节病、未分化的关节病、关节

炎、炎性骨质溶解、以及由慢性病毒或细菌感染引起的慢性炎症。可以将本发明的组合物和方法与用来预防、管理或治疗以上疾病的一种或多种常规治疗一起使用。

[0736] 本发明提供了用于预防、管理、治疗或缓解癌症、自身免疫性疾病、炎性疾病或传染病或其一种或多种症状的方法,所述方法包括向对其有需要的受试者给予与一种或多种非癌症治疗剂的治疗剂组合的一个或多个本发明的Tn3支架(亦称,非癌症疗法)。

[0737] 此类试剂的实例包括但不限于镇吐剂、抗真菌剂、抗细菌剂(例如抗生素)、抗炎性剂、以及抗病毒剂。镇吐剂的非限制性实例包括美托哌丙嗪和甲氧氯普胺。抗真菌剂的非限制性实例包括唑类药物、咪唑、三唑、多烯、两性霉素以及嘧啶。抗细菌剂的非限制性实例包括更生霉素、博来霉素、红霉素、青霉素、光神霉素、头孢菌素、亚胺培南、氨曲南(axtreonam)、万古霉素、环丝氨酸、杆菌肽、氯霉素、克林霉素、四环素、链霉素、妥布霉素、庆大霉素、阿米卡星、卡那霉素、新霉素、大观霉素、甲氧苄啶、诺氟沙星、利福平(refampin)、多粘菌素、两性霉素B、制霉菌素、酮康唑、异烟肼、甲硝唑以及喷他脒。抗病毒剂的非限制性实例包括核苷类似物(例如,叠氮胸苷、阿昔洛韦(acyclovir)、更昔洛韦(ganciclovir)、阿糖腺苷(vidarabine)、碘苷、曲氟尿苷以及三唑核苷)、膦甲酸钠(foscarnet)、金刚烷胺、金刚烷乙胺、沙奎那韦、茚地那韦、利托那韦、干扰素(“IFN”) - α , β 或 γ 以及AZT。抗炎剂的非限制性实例包括非甾体抗炎药(“NSAID”)、甾体抗炎药、 β 激动剂、抗胆碱能剂以及甲基黄嘌呤。

[0738] 在一个实施例中,本发明包括能够治疗慢性炎症的组合物。在一个实施例中,这些组合物在免疫细胞的靶向中 useful,用于破坏或钝化。在一个实施例中,这些组合物在靶向激活的T细胞、休眠的T细胞、B细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞、或树突状细胞中 useful。在另一个实施例中,本发明包括能够减少免疫细胞功能的组合物。在另一个实施例中,这些组合物能够去除免疫细胞功能。

[0739] 在另一个实施例中,本发明包括对于治疗胃肠道的疾病有用的组合物。本发明的支架在低pH条件下展示出高水平的稳定性。在低pH下的稳定性提示该组合物将适于口服给予用于多种肠胃疾病,例如肠易激综合征、胃食管反流、假性肠梗阻、倾倒综合征、难治的呕吐、消化性溃疡、阑尾炎、缺血性结肠炎、溃疡性结肠炎、胃炎、幽门螺杆菌病、克罗恩病、惠普耳氏病、口炎性腹泻、憩室炎、憩室病、吞咽困难、食管裂孔疝、感染性食管失调、打嗝、反刍以及其他疾病。

[0740] 本发明进一步提供了组合的组合物以及使用此类组合物预防、治疗、减少、或缓解疾病或其症状的方法。本发明的Tn3支架可以与适于预防、治疗、减少或缓解疾病或其症状的常规的治疗组合。示例性的常规治疗可以发现于 Physician's Desk Reference (医师桌上参考手册)(第56版,2002年以及第57版,2003年)中。在一些实施例中,本发明的Tn3支架可以与化学疗法、放射疗法、手术、用生物制剂(抗体或肽)的免疫疗法、小分子、或本领域已知的另一种疗法组合。在一些实施例中,一起给予组合疗法。在其他实施例中,分开给予组合疗法。

[0741] 本发明还提供了诊断疾病的方法。可以将与疾病相关的特定靶标结合的本发明的Tn3支架应用于用来诊断所述疾病的方法中。在一个实施例中,在诊断受试者的疾病的方法中使用本发明的Tn3支架,所述方法包括从该受试者获得一个样品,使靶标与所述样品中的Tn3支架在允许形成靶标:支架相互作用的条件下进行接触,鉴定靶标:支架复合物并且由

此检测在该样品中的靶标。在其他实施例中,在此描述了有待诊断的疾病。

[0742] 本发明还提供了使特定靶标成像的方法。在一个实施例中,可以在用来使特定靶标的存在、位置、或进展成像的方法中使用共轭至显像剂的本发明的Tn3 支架,显像剂是例如绿色荧光蛋白、其他荧光标签(Cy3、Cy5、罗丹明以及其他)、生物素、或放射性核素。在一些实施例中,在体外进行使包括本发明的Tn3支架的靶标成像的方法。在其他实施例中,在体内进行使包括本发明的Tn3支架的靶标成像的方法。在其他实施例中,通过MRI、PET扫描、X射线、荧光检测或通过其他本领域已知的检测方法进行使包括本发明的Tn3支架的靶标成像的方法。

[0743] 本发明还提供了使用本发明的支架监测疾病进展、复发、治疗、或缓解的方法。在一个实施例中,通过如在此呈现的成像、诊断、或使化合物/靶标与本发明的Tn3支架接触的方法完成监测疾病进展、复发、治疗、或缓解的方法。

[0744] 药物剂量和给予

[0745] 为了制备包括本发明的Tn3支架的药物组合物或无菌组合物,将支架与一种药学上可接受的运载体或赋形剂混合。用于给予,组合物优选是无热原的,这些组合物基本不含内毒素和/或相关的生热物质。为治疗剂选择给予方案取决于若干因素,包括实体的血清或组织周转速率、症状的水平、实体的免疫原性、以及生物基质中的靶细胞的可亲性。在某些实施例中,给予方案使向患者递送的治疗剂与可接受水平的副作用一致的量最大化。

[0746] 在本发明的药物组合物中的活性成分的实际剂量水平可以被改变,以便获得针对具体的患者、组合物、以及给予模式有效地实现所希望的治疗响应的量的活性成分,而对这位患者是无毒的。选择的剂量水平将取决于各种药物代谢动力学因素,包括所采用的本发明的具体组合物或其酯、盐或酰胺的活性、给予途径、给予时间、所采用的具体化合物的排泄率、治疗的持续时间、与所采用的具体组合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料、正被治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康状况和先前病史、以及在医学领域中熟知的类似因素。

[0747] 还可以使用本领域已知的多种方法中的一种或多种经由一种或多种给予途径来给予本发明的组合物。在某些实施例中,可以将本发明的Tn3支架进行配制,以保证在体内的适当分布。

[0748] 等效物

[0749] 本领域的普通技术人员将认识到,或使用不超出常规实验能够确定在此描述的相对于本发明的特定的实施例的很多等效物。这样的等效物也旨在涵盖于以下的权利要求书中。

[0750] 在本说明书提到的所有公开、专利和专利申请均通过引用结合在此,引用程度就如同每个单独公开、专利或专利申请特定地并且单独地指示通过引用结合在此一般。

[0751] 实例

[0752] 现在参考以下实例描述本发明。这些实例仅是说明性的,并且本发明决不应该被解释为局限于这些实例,而是应该被解释为涵盖由于在此所提供的这些教导而变得明显的任何以及所有变化。

[0753] 实例1

[0754] 在亲本Tn3支架上构建3环文库

[0755] 在描述于国际专利申请公开号W0 2009/058379中的亲本Tn3支架的基础上构建一个文库,其中它被指定为“Tn3SS4”。该文库包含BC、DE和FG环的随机化区域。这一设计将特征标记的序列和环长多样性掺入进该Tn3文库中,这与针对天然FnIII结构域所描述的多样性的模式是一致的,即针对BC和FG环的三个不同的长度,并且使用“NHT”混合密码子方案用来向该文库中引入多样性(H=A、T、C)。这一方案产生了编码12/20氨基酸的12个密码子(参见表3),即每个密码子编码一个独特的氨基酸。此外,不存在终止密码子或半胱氨酸(Cys)密码子。

[0756] 表3

A	AAT=Asn	ATT=Ile	ACT=Thr
G	GAT=Asp	GTT=Val	GCT=Ala
C	CAT=His	CTT=Leu	CCT=Pro
T	TAT=Tyr	TTT=Phe	TCT=Ser
	A	T	C

[0757] 使用示于表4中的简并寡核苷酸产生文库多样性。

[0758] 表4

寡核苷酸	环	序列	SEQ ID NO
[0759] BC9 NHT	BC	ACCGCGCTGATTACCTGGNHTNHTSCGNHTG STNHTNHTNHTGGC TGTGAACTGACCTATGGCATTAAA	178

[0760]

BC11 NHT	BC	ACCGCGCTGATTACCTGGNHTNHTBSTNHTN HTNHTNHTNHTNHT NHTGGCTGTGAACTGACCTATGGCATTA	179
BC12 NHT	BC	ACCGCGCTGATTACCTGGNHTVMACCGNHTN HTNHTRRRCRGCNHT VTTNHTGGCTGTGAACTGACCTATGGCATTA AA	180
DE NHT	DE	CGATCGCACCACCATAGATCTGNHTNHTNHT NHTNHTNHTTATAG CATTGGTAACCTGAAACCG	181
FG9 NHT	FG	GAATATGAAGTGAGCCTGATTTGCNHTAMSN HTNHTGGTNHTNHT NHTKCGAAAGAAACCTTTACCACCGGTG	182
FG10 NHT	FG	GAATATGAAGTGAGCCTGATTTGCNHTAMSN HTNHTNHTNHTRGC NHTCCGGCGAAAGAAACCTTTACCACCGGTG	183
FG11 NHT	FG	GAATATGAAGTGAGCCTGATTTGCNHTAMSN HTNHTGGTNHTNHT AGCAACCCGGCGAAAGAAACCTTTACCACCG GTG	184

[0761] 核苷酸密码:N=G/A/T/C;H=A/T/C;R=A/G;S=G/C;B=T/C/G;V=A/C/G; M=A/C;K=G/T

[0762] 使用示于表5中的寡核苷酸组装该文库。

[0763] 表5

[0764]

寡核苷酸	序列	SEQ ID NO
BCX-DE 桥 v2	CAGATCTATGGTGGTGCATCGCCCGGCACA TCTTTAATGCCAT AGGTCAGTTCACA	185
DE-FGX 桥 v2	GCAAATCAGGCTCACTTCATATTCGGTATCC GGTTTCAGGTAC	186

[0765]		CAATGCTAT	
	KpnI amp rev v2	CGGGTCGGTTGGGGTACCGCCACCGGTGGTA AAGGTTTCTTT	187
	KpnI 反向的 v2	CGGGTCGGTTGGGGTA	188
	BC 文库 amp v2	GGCCCAGCCGGCCATGGCCGCCATTGAAGT GAAAGATGTGACCG ATACCACCGCGCTGATTACCTGG	189

[0766] 将简并寡核苷酸(等摩尔比例的分别对应于BC和FG环的寡核苷酸)、BCX-DE桥v2、DE-FGX桥v2、以及KpnI amp rev v2的混合物组装在20个循环的PCR反应中,而无需过量的外部引物。稀释该产物并且使用引物BC文库amp v2 和KpnI反向v2在常规PCR反应中进行扩增。生成的PCR产物产生一个完整的 Tn3基因,然后将该基因用NcoI和KpnI消化并且将其连接噬菌体展示载体中(描述于W0 2009/058379中)。通过电穿孔将DNA转化进大肠杆菌中。估计该文库的最终多样性约为 7.9×10^{10} 成员。

[0767] 电穿孔之后,在振荡下,将该文库在37℃下孵育1小时。添加M13K07 辅助噬菌体并且一小时之后,将细胞稀释为更大的体积并且在摇动下,使其在37℃下生长过夜。第二天,除去噬菌体并且用PEG 8000通过沉淀从上清液中进行浓缩。

[0768] 实例2

[0769] 淘选人类CD40L-特异性Tn3支架的文库

[0770] 针对CD40L淘选包含 $>10^{10}$ 独特序列的噬菌体展示的Tn3文库。这些文库中的多样性来源于BC、DE和FG环中的序列和长度变异性,BC、DE和FG 环类似于抗体可变域内的三个CDR环。通过在重组的生物素化的人类CD40L和过量表达CD40L的CHO细胞系上淘选文库来选择先导物Tn3蛋白质。使用针对这两种试剂的交替轮的淘选来确保先导物将识别重组的细胞外结构域连同天然的膜锚定CD40L。

[0771] 使用5倍摩尔过量的生物素化试剂用EZ-Link sulfo-NHS-生物素(皮尔斯公司(Pierce),罗克福德,伊利诺斯州)生物素化重组的人类CD40L(人类 MegaCD40L;Axxora公司)。在室温下孵育1小时后,将该样品在PBS中透析过夜,以除去非共轭的生物素。将10μg生物素化的CD40L固定在M280链亲和素珠粒(Dynal公司,卡尔斯巴德,加州)上,随后在包含10mg/ml BSA的PBS中封闭2小时。输入由如在实例1中描述而研发的文库组成,或额外地,由使用标准构建技术而研发的文库(例如描述于W0 2009/058379中)组成。

[0772] 将噬菌体在包含10mg/ml BSA的PBS中封闭2小时。将封闭的输入添加至封闭的M280链亲和素对照珠粒(没有靶标)中,并且在室温下在摇床(rocker)上孵育2小时,以耗尽具有至珠粒的粘合剂的文库。然后将耗尽的文库添加至 CD40L包衣的珠粒中并且在室温下在摇动平台上孵育2小时。在用PBST(PBS+ 0.1%吐温)洗涤三次以除去未结合的噬菌体之后,将这些珠粒添加至以指数方式生长的大肠杆菌XL-1蓝色细胞(E.coli XL-1Blue cell)中,随后在包含50μg/ml 羧苄青霉素的60ml 2xYT培养基中用M13K07辅助噬菌体共感染。在摇动下在 37℃下生长过夜之后,通过PEG沉淀从过夜的培养基中收获噬菌体。

[0773] 在过量表达CD40L的CHO细胞系上进行第二轮淘选(轮2)。将噬菌体文库在在室温

下摇动1小时的3%BSA/PBS中进行封闭。用Accutase酶(英杰公司(Invitrogen))分离细胞,用5ml PBS洗涤2次,并且将 10^7 个细胞在在室温下摇动30分钟的1ml 3%BSA/PBS中进行封闭。使封闭的细胞在500x g下旋下,持续5分钟,将其轻轻地重悬于封闭的噬菌体文库溶液中,并且在室温下孵育1 小时。通过将细胞在1ml 3%BSA/PBS中轻轻地洗涤3次并且在PBS中轻轻地洗涤一次来除去未结合的噬菌体,针对每次洗涤使用新鲜的微量离心管在微量离心机中通过在500x g下离心5分钟来粒化细胞。将细胞小球直接添加至以指数方式生长的大肠杆菌XL-1蓝色细胞中,然后将其如针对轮1描述的进行处理。

[0774] 如针对轮1描述的进行第3轮淘选,除了通过添加100mM HCl来洗脱结合的噬菌体、随后用1M Tris-HCl, pH 8中和以外。如针对轮1描述的,使用洗脱的、中和的噬菌体感染大肠杆菌XL1蓝色细胞。

[0775] 如针对轮2描述的,再次在细胞上进行第4轮淘选,除了在3%BSA/PBS 中进行5次洗涤以外。使用5 μ g的生物素化的MegaCD40L进行第5轮,然而在别的方面却如针对轮3描述的。

[0776] 在5轮淘选之后,对作为可溶性蛋白的生成的Tn3变体进行筛选。在PCR 中使用扩增的并经PEG沉淀的噬菌体液,以扩增一池的涵盖编码Tn3序列的片段。将这一片段池用NcoI+KpnI消化并且将其克隆进质粒pSec-oppA (L25M) -Tn3的对应的NcoI-KpnI位点中(参见例如,WO 2009/058379)。用pSec-oppA (L25M) -Tn3 衍生的构建体转化的大肠杆菌BL21DE3细胞接种在96孔深孔平板中的包含羧苄青霉素(100 μ g/ml)的自动诱导的魔力培养基(MagicMedia)(英杰公司)中。将培养物在37℃下、在摇动下生长18小时,并且通过离心将细胞与培养基分离。在用于CD40L结合的筛选测定中直接使用包含分泌的、可溶性Tn3变体的培养基。

[0777] 筛选十组克隆,每组96个,以鉴定与重组CD40L特异性结合的Tn3蛋白。简言之,利用的筛选测定通过与固定于微板的孔中的抗-His抗体结合来捕获被分泌进培养基中的可溶性His-标记的Tn3变体。在捕获后,洗掉培养基和过量的蛋白质,并且通过利用生物素化的人类MegaCD40L并且通过SA-HRP和常规的 ELISA试剂测量剩余的靶标(在洗涤平板以后)来监测捕获的Tn3变体与CD40L 之间的相互作用。

[0778] 在捕获步骤中,将固定的抗-His抗体用Tn3饱和,并且在每个孔中的捕获的Tn3的摩尔量变得几乎是相同的,与单独的克隆的表达水平无关。Tn3水平的归一化导致检定水平与靶标相互作用的有效率成比例并且不受蛋白质表达水平中的潜在差异的影响。

[0779] 对来自这一测定的阳性物测序,以鉴定与重组CD40L结合的34个独特 Tn3序列。从一组独特的CD40L-结合Tn3序列,使通过培养上清液的SDS-PAGE 判断的具有鲁棒的测定信号以及良好的表达水平的一组24个克隆经历再表达以及小规模纯化。

[0780] 简言之,用pSec-oppA (L25M) -Tn3衍生的构建体转化的大肠杆菌BL21 DE3细胞接种包含羧苄青霉素(100 μ g/mL)、具有1%葡萄糖的超级肉汤培养基。使培养物在37℃下生长至0.5-0.8的光密度(O.D.),然后用0.2mM IPTG诱导。在37℃下摇动5小时后,通过离心将细胞与培养基分离。通过使用Ni-NTA Superflow(凯杰公司),在具有20mM咪唑的2x PBS中洗涤,并且用具有250mM 咪唑的2x PBS洗脱进行分批纯化,实现从培养基中纯化Tn3支架。根据Gill(吉尔)和von Hippel(希佩尔)(Anal.Biochem.(分析生物化学)182:319,1989),将样品在PBS中透析,并且通过在280nm处的UV吸光度确定浓度。

[0781] 基于测定排序和SEC行为,将8个先导物的表达按比例放大并纯化,以降低内毒素水平(<1EU/mg),用于在功能性细胞测定中测试。

[0782] 两个Tn3克隆(被指定为309和311)在生物化学测定和基于细胞的测定中示出相似的活性(图6A、6B、6C),并且比最近的竞争性克隆有力3-5倍。

[0783] 人类CD40L-特异性单价Tn3支架309和311抑制总B细胞数目,浆细胞数目以及Ig类别转换(图6A、6B、6C)。图6A示出了309和311对被Jurkat D1.1细胞刺激的CD19阳性人类PBMC上的HuCD40L-诱导的CD86表达的抑制作用;图6B示出了309和311对HuCD40L刺激的B-细胞增殖的抑制;并且图6C示出了T/B细胞共培养中的浆细胞数目的抑制。通过FACS还示出309结合激活的初始T细胞(数据未示出)。用重组人类MegaCD40L(Axxora公司)或表达人类CD40L的CD40L细胞(D1.1, ATCC)刺激PBMC,并且在24小时后,通过FACS测量CD19+/CD86+细胞的百分比。

[0784] 单分散309和311先导物克隆并且在溶液中不展示出任何凝集或形成较高阶低聚物的趋势,如通过纯化的样品的尺寸排阻色谱法(SEC)分析所确定的(图7A)。

[0785] 使用在PBS pH 7.2中的1mg/mL的蛋白质样品通过差示扫描量热法(DSC)确定309和311先导物克隆的热稳定性,并且与亲本Tn3蛋白的热稳定性进行比较(图7B)。309和311先导物克隆具有 $70 \pm 1^\circ\text{C}$ 的 T_m ,该 T_m 仅略低于亲本Tn3的 T_m (72°C)。

[0786] 因为没有鉴定鼠交叉反应的克隆,所以进行如上所述的类似的淘选过程以鉴定被指定为M13的鼠特异性Tn3。M13在基于PBMC细胞的测定中也示出活性(参见图1A)

[0787] 实例3

[0788] CD40L-特异性Tn3支架先导物优化

[0789] 使用亲和力优化来增加选择的Tn3先导物的效价。通常,在与靶标接触的Tn3环内进行一轮或多轮诱变,同时从组合的噬菌体展示文库中选择改进的变体。

[0790] 3.1环交换

[0791] 为了确定在与CD40L的相互作用中涉及两个先导物中的3个环中的哪个环,产生以下构建体,其中每个单一的环序列改变为如在人类生腱蛋白C中发现的亲本Tn3环序列。如以上描述的针对筛选检定所描述的而进行,在结合测定中比较突变的变体与原始的变体的活性(图10A)。对两个先导物而言,突变BC和DE环导致与CD40L的结合的完全丧失,然而将FG环改变为亲本Tn3序列对结合没有影响(针对309)或具有有限的影响(311)。因此,BC和DE环似乎包含主要负责接触CD40L的序列,并且因此首先被选择用于亲和力优化。

[0792] 3.2 CD40L-特异性Tn3支架309先导物优化

[0793] 因为环交换实验表明309 FG-环序列可以被亲本Tn3 FG-环序列取代而不实质丢失结合效力,所以决定将这一构建体(被叫做309 FGwt)用作亲和力成熟的骨架。这将消除脱离亲本生腱蛋白C序列的非必需突变,以便减少可能的免疫原性风险。应该注意的是,亲本Tn3 FG-环序列包含一个RGD基序,该RGD基序稍后通过突变被从最终的先导物分子中消除。产生三个BC环文库和一个DE-环文库。

[0794] 针对三个BC环文库,进行三轮PCR,使用简并寡核苷酸BC9 PCR、BC 9-环NNK和309 BC-环NNKdope(表6)连同反向引物Kpn1 amp rev v2(表5),使用309 FGwt衍生的模板,该模板中的BC-环密码子已经被终止密码子替代。随后,用引物BC文库amp v2(表5)和KpnI反向v2,PCR扩增那些片段,给出全长Tn3文库片段。

[0795] 针对该DE-环文库,用DE PCR和KpnI amp反向v2在309 FGwt衍生的模板(其中的DE-环密码子已经被终止密码子替代)上进行PCR扩增,给出一个包含随机化的DE环和野生型Tn3 FG-环的片段,将该片段与编码DE环的Tn3 区上游的片段组合,用BC文库amp v2和BCX-DE桥v2在309模板上通过PCR 产生该DE环。在用外部引物BC文库amp v2和KpnI反向v2的重叠PCR中,将两个片段连接。

[0796] 表6:用于产生309FGwt L0文库的DNA寡核苷酸

	寡核苷酸	序列	SEQ ID
			NO
[0797]	BC9 PCR	5'-ACCGCGCTGATTACCTGGTCT1213111GGCTGT GA ACTGACCTATGGCATTAAAGATG	190
	BC 9-环 NNK	5'-ACCGCGCTGATTACCTGGNNKNNKSMGNNKGS TN NKNKNNKGGCTGTGAACTGACCTATGGCATTAA-3'	191
	309 BC- 环 NNKdope	5'-ACCGCGCTGATTACCTGG76K45K45K77K44K65 K78 T45K44KTGTGAACTGACCTATGGCATTAAA-3'	192
	DE PCR	5'- GATGTGCCGGGCGATCGCACCACCATAGATCTG1 11111TATAGCATTGGTAACCTGAAACCGG-3'	193
[0798]	上游 BC 环 Rev	CCAGGTAATCAGCGCGGTGGTAT	194
	BC 改组 rev	CAGATCTATGGTGGTGCATCGC	195
	DE 改组 FWD	TGTGAACTGACCTATGGCATTAAAGATGT	196

[0799] 1=所有19aa (-cys) 的密码子2=Ala/Pro的密码子3=Ala/Gly的密码子;

[0800] 4=70%G 10%A 10%C 10%T 5=10%G,70%A,10%C,10%T

[0801] 6=10%G,10%A,70%C,10%T 7=10%G,10%A,10%C,70%T

[0802] 8=70%A 15%C 15%T K=50%G/50%T

[0803] 将NcoI-KpnI片段克隆进噬菌体展示载体中,并且如在实例1中所描述的产生噬菌体文库。

[0804] 如在实例2中针对第一轮所描述的,在生物素化的人类MegaCD40L上分别地淘选四个文库,在第1轮中使用4μg CD40L并且在第2轮中使用1μg CD40L。在扩增第2轮后输出的噬菌体以后,使用Qiagen Spin M13试剂盒(凯杰公司,瓦伦西亚,加州)分离单链DNA,并且使用BC lib amp v2和BC改组rev 扩增包含来自BC环文库的片段的BC-环的池,然而使用引物DE-改组FWD和KpnI 反向的v2,扩增包含来自DE-环文库的片段的DE-环的池。将PCR片段进行凝胶纯化并且使用外部引物BC lib amp v2和KpnI反向的v2通过其重叠序列进行组装。使用生成的PCR片段在噬菌体载体中产生文库,如先前所述。如在实例2中所述,在生物素化

的人类MegaCD40L上将这一文库淘选总共5轮,除了在用阻断的M280 链亲和素磁珠孵育10分钟随后进行洗涤之前,针对第1轮至第4轮,使文库最初与处于50nM、20nM、20nM、以及10nM的浓度的靶标(总体积为50 μ l)进行接触,持续2小时以外。

[0805] 将输出集中克隆进质粒pSec-oppA (L25M) -Tn3 pSec的NcoI-KpnI位点中,并且使用在上面所描述的筛选测定中的可溶性蛋白针对CD40L结合对十六个 96孔平板进行筛选。择优挑选270个最高得分的克隆,再次测定并测序。选择十个克隆用于基于结合测定和序列分析的进一步表征。这包括在PBMC测定中评估效价、在生物传感器测定中进行针对结合至CD40L的K_d确定、通过差示扫描量热法确定热力学稳定性、并且通过尺寸排阻色谱法分析确定在溶液中凝集或形成更高阶低聚物的趋势。将结果总结于表7中。与十个优化克隆(被指定为340、341、342、343、344、345、346、347、348以及349)比对的309和309 FGwt克隆的序列示于图11A和11B中。

[0806] 亲和力成熟的变体展示出比309克隆高1-3个对数的效价,如通过DSC 测量的保留高的稳定性,并且如通过SEC测量的大多数是单分散的。

[0807] 表7

变体	PBMC IC ₅₀ (nM)	K _d (nM)	SEC 曲线	T _m , DSC (°C)
309	226	191	OK	72
309FGwt	760	nd	OK	71
340	0.7	2.2	OK	77
341	0.7	nd	OK(?)	71
342	0.7	1.4	OK	73
343	0.6	2.0	OK	69 (?)
344	1.3	nd	OK	(65+78.5)
345	37.3	39	OK	72
346	9.0	14.9	OK	71
347	11.0	10.7	OK	70
348	1.0	1.8	?	nd
349	38.2	21	OK(?)	nd

[0809] 通过用表达人类CD40L的Jurkat细胞(D1.1, ATCC) 刺激PBMC进行 PBMC测定,并且在24小时后,通过FACS测量CD19+/CD86+细胞的百分比。使用这一测定测试一系列先导Tn3支架并对其排序,以出现自基于生化指标的优先次序。PBMC测定的结果示于图10B中并且总结于表7中。

[0810] 在25°C下,用GLC传感片在Protein XPR36蛋白质相互作用阵列系统 (Bio-Rad, 赫拉克勒斯(Hercules), 加州) 上进行亲和力测量。将具有0.005%吐温20的Protein磷酸盐缓冲液,pH 7.4 (PBS/吐温) 用作电泳缓冲液。将人类MegaCD40L以约2300RU的表面密度固定在芯片上。在PBS/吐温/0.5mg/ml BSA, pH 7.4 (从150nM至4.7nM) 中制备Tn3变体(340、342、343、345、346、347、348、以及349) 的两倍稀释物。将每个浓度的样品以30 μ l/min的流速注入进六个分析物槽中,持续300秒钟。通过在Protein软件中使用平衡分析设置确定 K_d。将结果示于表7中。

[0811] 通过DSC对十个TCD40L-特异性Tn3变体的稳定性进行分析。简言之,在VP-Capillary DSC (迈克朗公司(MicroCal)) 上进行DSC测量。将蛋白质通过广延性透析(extensive dialysis) 交换进PBS (pH 7.2) 中,并且调节至0.25-0.5mg/ml 的浓度,用于DSC分析。将样品以90°C/小时的扫描速率从20°C-95°C进行扫描,无需重复扫描。将结果示于表7中。

[0812] 针对最好的克隆获得了超过309的IC₅₀的高达300倍的改善,以及超过用于产生先

导物优化文库的309 FGwt骨架的超过1000倍的改善。七个克隆具有个数位nM范围内的 K_d 。

[0813] 3.3 CD40L-特异性Tn3支架311先导物优化

[0814] 在进行先前提到的环用途实验之前(参见图10A)

[0815] 进行聚焦于在311的FG-环中引入多样性的先导物优化文库的初始尝试,产生噬菌体展示文库并对生成的噬菌体展示文库进行筛选。如先前所述,在生物素化的人类MegaCD40L上淘选4轮之后进行筛选,并且发现大多数阳性目标(hit)在Tn3的N端恒定区(即,BC-环的上游)中包含残基K4至E的偶然突变。没有检测到阳性目标的FG-环序列之间的明显的共有区。向311中引入单K4E突变导致在PBMC测定中的约100倍的效价增加(从约4 μ M至36nM)(参见图10C)。

[0816] 因为环交换实验表明与CD40L的结合需要BC和DE环序列,所以然后靶向在311K4E骨架中的这些环,用于进一步的亲和力成熟。产生两个单独的文库。一个文库以下面的策略靶向BC-环,其中每个残基具有50%成为野生型311序列的机会,以及约50%成为其他11个编码NHT的残基中之一的机会。另一个文库完全随机化6-残基DE-环。

[0817] 针对BC-环文库,在PCR反应中使用寡核苷酸BC11-311Gly和 BC11-311NHT(表8),在311衍生的模板上用反向引物KpnI amp rev v2(表5),在311衍生的模板中BC-环密码子已经被终止密码子替代,以产生包括BC、DE 和FG环的片段。最后,用引物BC文库amp K4E和KpnI amp rev v2扩增这些片段的1:1混合物,给出全长Tn3文库片段。

[0818] 如以上描述的309 FGwt DE-环文库产生DE-环文库,除了在PCR反应中使用311衍生的模板并且在最终的PCR扩增中使用BC文库amp K4E引物以外。

[0819] 表8.用于产生311K4E先导物优化文库的寡核苷酸。

	寡核苷酸	序列	SEQ ID
[0820]	BC11-311 Gly	5'- ACCGCGCTGATTACCTGG26T25TV1T46T46T45T45T25 T37T35TGGCTGTGAACTGACCTATGGCATTAAA-3'	197
	BC11-311 NHT	5'-ACCGCGCTGATTACCTGG26T25TV1T46T46T45T45T2 5 T37T35TNHTTGTGAACTGACCTATGGCATTAAA-3'	198
	BC 文库 amp K4E	5'-GGCCCAGCCGGCCATGGCCGCCATTGAAGTGGAAG ATGTGACCGATAACCACCGCGCTGATTACCTGG-3'	199
	BC11-311	5'-	197
[0821]	Gly	ACCGCGCTGATTACCTGG26T25TV1T46T46T45T45T25 T37T35TGGCTGTGAACTGACCTATGGCATTAAA-3'	
	BC11-311 NHT	5'-ACCGCGCTGATTACCTGG26T25TV1T46T46T45T45T2 5 T37T35TNHTTGTGAACTGACCTATGGCATTAAA-3'	198
	BC 文库 amp K4E	5'-GGCCCAGCCGGCCATGGCCGCCATTGAAGTGGAAG ATGTGACCGATAACCACCGCGCTGATTACCTGG-3'	199

[0822] 1=70%G,10%A,10%C,10%T 2=10%G,70%A,10%C,10%T

[0823] 3=10%G,10%A,70%C,10%T 4=10%G,10%A,10%C,70%T

[0824] 5=70%A,15%C,15%T 6=15%A,70%C,15%T

[0825] 7=15%A,15%C,70%T V=33%A,33%C,33%G

[0826] H=33%A,33%C,33%T

[0827] 用NcoI和KpnI消化全长文库片段,将其克隆进噬菌体展示载体中,并且如在实例1中所描述的产生噬菌体文库。

[0828] 如在实例1中所描述的,在生物素化的人类MegaCD40L上分别淘选两个文库,在第1轮中使用10g的蛋白质,在第2轮中使用5g的蛋白质,并且在第3轮中使用5g的蛋白质。在扩增第3轮后输出的噬菌体后,使用Qiagen 试剂盒(凯杰公司,瓦伦西亚,加州)分离单链DNA,并且如针对309 FGwt文库所描述的,对两个文库进行改组。如上针对309 FGwt改组的文库所描述的,在生物素化的人类MegaCD40L上对改组的文库淘选总共5轮,针对第1轮至第5轮使用100nM、20nM、4nM、1nM以及1nM的靶标。

[0829] 如先前所述,将输出集中克隆进可溶性分泌载体中,并且使用先前所述的可溶性蛋白筛选测定,针对CD40L结合对五个96孔平板进行筛选。相对于用 311K4E骨架变体获得的信号鉴定阳性目标。对作为粗的未纯化的蛋白质的18个最高得分的独特克隆,被指定为311K4E_1、311K4E_2、311K4E_3、311K4E_4、311K4E_5、311K4E_7、311K4E_8、311K4E_9、311K4E_10、311K4E_11、311K4E_12、311K4E_13、311K4E_14、311K4E_15、311K4E_16、311K4E_19、311K4E_20以及311K4E_21(序列示于图12A和图12B中)进行测定,用于解离速率排序。在生物传感器测定中,在Protein XPR36蛋白质相互作用阵列系统(Bio-Rad,赫拉克勒斯(Hercules),加州)上,用固定于芯片上的CD40L进行未纯化的Tn3支架的解离速率估计。将Mega人类CD40L固定于GLC芯片(BioRad)上并且将所有变体稀释至80nM的估计浓度,将其以30 μ l/min的流速进行注入,持续300秒钟,同时将解离时间设置为1200秒钟。将PBS, 0.005%吐温20, 3mM EDTA, pH 7.4用作电泳缓冲液。通过目测传感图和解离速率排序。纯化一个亚组的展示出最慢解离速率的四个变体(311K4E_3、311K4E_11、311K4E_12和 311K4E_15),并且确定 K_d 值在1.1nM与6.4nM之间(表9)。

[0830] 表9. 311K4E以及4个与人类CD40L结合的亲和力纯化的变体的 K_d 。

311变体	K_d (nM)
311K4E	18
311K4E_12	1.1
311K4E_11	6.3
311K4E_15	1.6
311K4E_3	6.4

[0831] 如在图10D中表明的,311K4E_12的降低的 K_d (从18nM至1nM)与相对于311K4E骨架在PBMC测定中的效价的12倍的增加相对应。

[0832] 总之,来自天然文库的原始目标309和311的先导物优化活动导致CD40L的个位数nM的粘合剂。

[0833] 在鼠特异性M13分子上进行类似的优化活动(数据未示出)。在PBMC 测定中,生成的优化的鼠CD40L-特异性分子(被指定为M31)示出超过亲本分子约20倍的效价的增加(图1A)。

[0834] 实例4

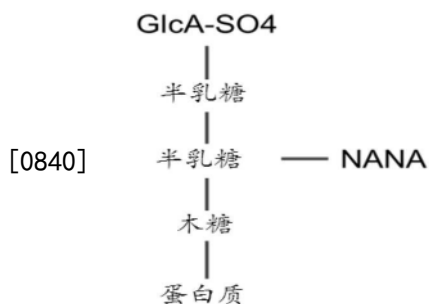
[0835] 未加标签的CD40L-特异性Tn3-HSA融合物的表达与纯化

[0836] 通过瞬时转染在哺乳动物293F细胞系中表达如图2A和9A中所概述的融合至HSA的Tn3构建体。基于内部产生的哺乳动物表达载体产生Tn3-HSA融合表达构建体。为了增加产物同质性,采用HSA的突变形式(被指定为HSA C34S),其中未成对的、部分暴露的半胱氨酸34已经被突变为丝氨酸(Zhao (赵) 等人, 2009, Eur. J. Pharm. Biopharm. (欧洲制药与生物制药杂志) 72:405-11)。

[0837] 可以通过离子交换色谱法(IEX)以一步纯化方式纯化该融合蛋白。通过盐梯度将309-309-HSA从Q-HP柱(GE医疗保健公司(GE HealthCare))洗脱的一个实例示于图9B中。除了主峰以外,看到次要的稍后的洗脱峰(构成小于10%的总峰面积)。质谱法分析表明这些次要的侧峰富含O-糖基化的309-309-HSA种类。收集包含主峰的部分并且将其用于随后的活性测定。

[0838] 对于更大规模的纯化,上面提及的IEX步骤的前面是使用HSA亲和基质(例如, HiTrap Blue HP (GE医疗保健公司))通过亲和色谱法从培养上清液中捕获Tn3-HSA融合物。洗涤后,可以用包含辛酸酸的缓冲液洗脱HSA融合蛋白。在磷酸盐缓冲液中稀释3倍后,将洗脱物装载在Q-HP柱上。

[0839] 一个或多个次要峰的分析揭示O-联的碳水化物部分的存在。提出了O-聚糖是一种衍生自下面所示的先前报道的O-木糖化的核心结构的碳水化物的异质混合物(Wakabayashi (若林) 等人, 1999, J. Biol. Chem. (生物化学杂志) 274:5436-5442):



[0841] 确定占优势的附接位点位于Tn3结构域之间的GGGGS接头中。还发现该聚糖在较小程度上存在于在Tn3与HSA之间发现的GGGGS接头中。因此,与单价构建体相比,O-聚糖的水平在二价构建体中更高并且与CHO细胞相比,在 HEK细胞产生的材料中更高。在不同Tn3构建体之间的水平也是变化的。因此,可以通过仔细的宿主细胞切割减少O-聚糖的水平,例如使用CHO细胞或其他发现的细胞,用来生产具有更低水平的O-聚糖的材料。此外,可以经由纯化方法除去包含O-聚糖的材料,以产生缺少O-聚糖的更同质的产物。可替代地,可以修饰该接头,以除去O-聚糖附接的一个或多个基本位点,例如通过将Ser残基突变为Gly。将若干构建体中的接头再工程化,以具有一个或多个GGGGG接头,在具有一个或多个GGGGG接头的材料中没有检测到任何类型的O-聚糖并且没有看到活性的差异(数据未示出)。

[0842] 实例5

[0843] CD40L-特异性Tn3支架的血清半衰期的延长

[0844] 将至血清白蛋白的融合开发为用来延长CD40L-特异性Tn3支架的血清半衰期的策略。为了确定鼠CD40L特异性Tn3-MSA融合物的药物代谢动力学(PK) 特性,进行小鼠PK测

定。由于小鼠FcRn与HSA结合显著地弱于它与MSA的结合,所以选择MSA融合物用于优于对应的HSA融合物的替代分子的研究,这导致来自核内体的减少的再循环以及因此增加的周转(Andersen(安徒生)等人J.Biol. Chem. (生物化学杂志) 285,4826-4836,2010)。

[0845] 使用HEK 293细胞表达融合至MSA的小鼠CD40L-特异性串联的二价 Tn3支架。观察到高水平的表达(图3A)。这些构建体在Tn3支架单位之间具有 1个(G_4S)接头并且在支架与MSA之间的接头中具有3个(G_4S)重复。此外,向每个M13和M31支架中引入一个N49Q突变,以除去潜在的N-联糖基化位点。这一突变不影响这些支架的效价(数据未示出)。在转染后第6天估算表达水平为 200mg/L。通过C端组氨酸标签(C-terminal His-tag)经由IMAC进行纯化。将纯化的蛋白质的产量评估为125mg/L培养上清液。

[0846] 当MSA被融合至二价M13支架时,观察到与不具有MSA的M13二聚体支架相比的8倍的效价的减少(图3B)。包括融合至MSA的亲合力成熟的M31 的二价支架比融合至MSA的对应的二价M13支架有力140倍,比单价M31MSA 融合物有力约900倍,并且具有与MR1抗鼠CD40L单克隆抗体可比较的效价(图 3C)。

[0847] 为了确定CD40L-特异性Tn3-MSA融合物的PK特性,进行小鼠PK分析。以10mg/kg向5-7周龄的雌性CD-1小鼠静脉内给予蛋白构建体。在不同时间点将每只小鼠放血150 μ l,并且通过ELISA测定确定Tn3-HSA融合物的血清浓度。简言之,将Nunc MaxiSorp平板用抗-FLAG M2抗体(安捷伦公司(Agilent))包衣,在PBS+0.1%吐温(PBST)中的PBST的4%乳中进行封闭,并且用鼠 MegaCD40L(Axxora公司)进行孵育。通过其FLAG标签固定MegaCD40L。将血清样品和蛋白标准品稀释于4%乳PBST中并且在洗涤平板后添加至PBST中。在孵育之后,将该平板在PBST中洗涤,并且使用兔抗-TN3多克隆抗体(科文斯公司(Covance))来检测Tn3-HSA融合构建体,在标准ELISA方案中使用山羊抗-兔HRP-共轭的抗体(杰克逊免疫研究公司(Jackson ImmunoResearch))。基于通过同一Tn3-MSA融合构建体的稀释测定产生的标准曲线的线性回归确定血清样品中的浓度。将浓度确定为3只不同的小鼠的平均值。

[0848] 如在图4A中所见,M31-MSA和M13-M13-MSA分别具有38小时和31 小时的半衰期,然而M31-M31-HSA构建体具有12小时的半衰期。相比之下, M13-M13串联构建体(未融合至MSA)自身展示出30分钟的半衰期(未示出)。

[0849] 与在小鼠支架中的观察结果形成对照,当HSA被融合至人类CD40L特异性支架时,在效价上没有显著的减少。图9C示出通过将包括两个309单体的人类CD40L-特异性二价Tn3支架与HSA融合,在效价上没有显著的减少,如在PMBC 测定中所测量的。

[0850] 将人类CD40L-特异性342-HSA单体构建体的PK特性与包括两个取代 (L463N和K524L) 以在单一的静脉注射后增强猕猴的血清半衰期的342-HSA变体的PK特性进行比较。向体重在2-5kg的雄性猕猴经由缓慢的团注以10mg/kg 给予蛋白构建体。在预剂量、给药后5分钟和30分钟;给药后2小时、12小时、24小时、以及48小时;以及在第4天、第8天、第11天、第15天、第22天、第29天、第36天、第43天以及第57天从外周血管中收集1mL的血液/动物/时间点。通过ELISA测定确定Tn3-HSA融合物的血清浓度。简言之,将Nunc MaxiSorp 平板用抗-FLAG M2抗体(安捷伦公司(Agilent))包衣,在PBS+0.1%吐温(PBST) 中的PBST的4%乳中进行封闭,并且用人类MegaCD40L(Axxora公司)进行孵育。通过其FLAG标签固定MegaCD40L。将血清样品和蛋白标准品稀释于4%乳 PBST中并且在洗涤平板后添加至PBST中。在孵育之后,将该平板在PBST中洗涤,并且使用兔抗-TN3多克隆抗体(科文斯公司

(Covance)) 来检测Tn3-HSA 融合构建体,在标准ELISA方案中使用山羊抗-兔HRP-共轭的抗体(杰克逊免疫研究公司(Jackson ImmunoResearch))。基于通过同一Tn3-HSA融合构建体的稀释测定产生的标准曲线的线性回归确定血清样品中的浓度。将浓度标绘于图4B中。342-HSA的构建体的半衰期是约7天,同时342-HSA L463N/K524L变体构建体在初始线性相期间示出13-17天的增加的半衰期(图4B)。30天后,与野生型HSA 构建体比较,342-HSA L463N/K524L变体构建体的血清浓度下降地更迅速。这些观察结果可以表明这一构建体在猴中的一些免疫原性。

[0851] 实例6

[0852] CD40L-特异性Tn3支架的表征

[0853] 6.1实验方法

[0854] 6.1.1 PBMC刺激测定:根据医学免疫公司(MedImmune)安全指南,从健康供体中获得血液。经由CPT试管分离PBMC(在1500g下旋转20分钟)并且用重组人类MegaCD40L(Axxora公司)或表达人类CD40L的Jurkat细胞(D1.1, ATCC)刺激 1×10^6 PBMC(每种条件)。在刺激24小时后,通过FACS测量 CD19+/CD86+细胞的百分比。使用这一测定测试一系列先导Tn3支架并对其排序,以出现自基于生化指标的优先次序。因为鼠配体与人类受体交叉反应,还可以用表达鼠CD40L的细胞系(D10.G4)或鼠MegaCD40L(Axxora公司ALX522120)代替人类细胞或重组蛋白刺激进行该测定。

[0855] 6.1.2鼠CD40R/NF κ B测定:在具有或不具有Tn3支架的情况下,用鼠 MegaCD40L(Axxora公司,目录号ALX522120)重组蛋白或过量表达CD40L的 D10.G4细胞(ATCC)刺激NF κ B报告基因NIH3T3细胞(Panomics公司NF κ B 报告基因系统和内部mCD40R转染)24小时。根据制造商的指示,添加Bright-Glow(普洛麦格(Promega)E2610)。经由在EnVision系统(珀金埃尔默(Perkin Elmer))上进行的NF κ B报告基因激活,读数为冷光(700)。

[0856] 6.1.3人类CD40R/NF κ B测定:在具有或不具有Tn3支架的情况下,用 MegaCD40L(Axxora公司ALX522110)重组蛋白或过量表达CD40L的D1.1 Jurkat 亚克隆细胞(ATCC)刺激报告基因HEK293细胞(Panomics公司并且是内部的)24小时。根据制造商的指示,添加Bright-Glow(普洛麦格(Promega)E2610)。经由在EnVision系统(珀金埃尔默(Perkin Elmer))上进行的NF κ B报告基因激活,读数为冷光(700)。

[0857] 6.1.4双细胞测定:从不同供体中分离初始T/B细胞。用纯化的人类B 细胞(5×10^4)培养用抗-CD3刺激的、丝裂霉素C处理的人类CD4+ T细胞(1×10^5)。如下进行读数:第2天:激活标记物(FACS),第5天:B细胞增殖(ATP代谢物,Cell-Titer Glo,英杰公司),第7天:浆细胞分化(FACS)第7天:Ig产生(ELISA,R&D系统)。

[0858] 6.1.5血小板凝集测定:腺苷二磷酸(ADP)来自Chrono-Log(Havertown,宾夕法尼亚州,美国)。所有其他时间产品至少是试剂等级的。将来自健康志愿者的血样收集在12.9mM柠檬酸钠中并且在150x g下离心15分钟,以获得PRP(富血小板血浆)。在分离PRP后,将试管再次在1,200x g下离心15分钟,以获得PPP(贫血小板血浆)。使用由Mustard(马斯塔德)等人(Br.J.Haematol.(英国血液学杂志)22:193-204,1972)描述的方法洗涤血小板,并且将其重悬于包含CaCl₂ 2mM、MgCl₂ 1mM、0.1%右旋糖、0.35%牛血清白蛋白、0.05U/mL腺苷三磷酸双磷酸酶,pH 7.35的蒂罗德液中。使用光透射凝集计(Chrono-Log 700-4DR, Chrono-Log公司,Havertown,宾夕法尼亚州,美国)研究血小板凝集并且在用表明的如所描

述的血小板激动剂刺激血小板后记录10min。在添加之前,用可溶性 CD40L (sCD40L) 预孵育 Tn3 支架,以形成免疫复合物。

[0859] 6.1.6 免疫测定:从Colorado Serum (丹佛,科罗拉多州) 购买绵羊红细胞 (SRBC) 并且在使用之前将其立即10倍地稀释于HBSS培养基中。在第0天,用0.2ml稀释的SRBC免疫小鼠。在免疫后第14天经由FACS测定激发的小鼠中的主生发中心 (GC) 响应 (GC B细胞、非-GC B-细胞、以及所有的T细胞亚群)。在第9-13天,在24小时内以表明的增量给予Tn3支架和对照物。

[0860] 6.1.7 KLH-特异性T细胞依赖性抗体应答 (TDAR) 测定:每周向中国来源并且体重为3.1-4.6kg的猕猴 (食蟹猴) (科文斯研究产品 (Covance Research Products), Alice TX) 静脉内地 (隐静脉或头静脉) 给予一次表明剂量 (0.5mg/kg、5mg/kg、40mg/kg) 的抑制剂 (342-单体-Tn3-HSA和342-342二价体-Tn3-HSA或对照物/载体)。在无菌条件下,用适当量的灭菌注射用水 (供应商中西部兽医供应 (Midwest Veterinary Supply), 诺里斯,宾夕法尼亚州) 使KLH (Lot No. MD158678 A, 供应商皮尔斯生物技术公司 (Pierce Biotechnologies), 罗克福德,伊利诺伊州) 复水。将小瓶涡旋用于混合并且然后将其收集在无菌的小瓶中。在两种情况下 (第1天和第29天), 在测试或对照物品给予结束的1小时内,在每个动物的背部的中线的左边皮下地给予1mL的KLH溶液 (10mg/mL)。在以下时间点处从所有动物中获得用于进一步分析的血样:预先测试、第4天、第6天、第8天、第11天、第15天、第22天、第25天、第32天、第34天、第36天、第39天、第43天、第46天、第50天以及第57天。在给药之前,取在第8天、第15天以及第22天收集的样品。在第8天、第11天以及第15天进行KLH-特异性IgM和IgG 抗体滴度的评估。在第15天, KLH-特异性IgM和IgG抗体的滴度分别示于图5G 和5H中。割点滴定法利用ELISA格式,以检测猴血清中的抗-KLH抗体。将样品用固定在ELISA板上的KLH孵育。孵育后,洗涤平板,并且用山羊抗-猴IgG-HRP 或IgM-HRP检测结合的抗体并且然后用四甲基联苯胺 (TMB) 可视化。

[0861] 对于所有利用动物的实验而言,遵循当前可接受的良好畜牧业的惯例,例如Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (实验动物的护理和使用指导); National Academy Press (国家学术出版社), 2011. 亨廷顿生命科学 (Huntingdon Life Sciences), East Millstone, 新泽西州被实验动物护理评估和认证国际协会 (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International) (AAALAC) 完全认可。针对所需的可能的兽医护理的任何条件并且必要时进行处理,由技术人员监测动物。

[0862] 6.2 CD40L-特异性Tn3支架功能上抵消CD40L:CD40相互作用。

[0863] 表达CD40L的T细胞吸引表达CD40的B细胞导致NF κ B信号通路的激活 (Zangani (赞格尼), 2009)。因此,使用NF κ B-荧光素酶报告基因细胞系来确定抗CD40L-Tn3分子是否可以抑制CD40衔接向下游发信号。用处于EC₉₀ (导致90%抑制的有效浓度;即,对于人类 MegaCD40L而言是1.5 μ g/ml,并且对于鼠 MegaCD40L而言是3 μ g/ml) 的人类抑或鼠 MegaCD40L刺激表达人类CD40L和报告基因的HEK293细胞。

[0864] 人类特异性342分子以1.5nM的IC₅₀抑制人类CD40L-诱导的NF κ B活性 (图13)。鼠特异性M31分子以IC₅₀=1.6nM抑制鼠CD40L-诱导的NF κ B活性 (图1B)。阳性对照抗-CD40L单克隆抗体5c8 (抗人类CD40L) 和MR1 (抗鼠CD40L) 两者的表现都比单体Tn3支架好约10倍, IC₅₀为

0.200nM+/-SD (测定的最低阈值)。这可能部分归因于单克隆抗体的二价性质,这有助于与其对应的 CD40L的相互作用的亲和性。

[0865] 6.3二聚体CD40L-特异性Tn3支架展示出改善的结合。

[0866] 实验数据表明相对于CD40L-特异性Tn3单体支架的结合,CD40L-特异性Tn3二价支架的结合是改善的。CD40L-特异性Tn3二价支架与CD40L的结合改善对靶标的作用,在一些情况下,在体外超过CD40L特异性Tn3单体支架的作用的约3个对数,如示于图2C和图2D中(鼠科动物),以及图8A和图8B中(人类)。

[0867] 图2C示出了鼠CD40L-特异性单价(M13)或二价串联支架对鼠CD40L与固定于生物传感器芯片上的鼠CD40受体的结合的竞争性抑制。M13单体与变化长度的肽接头连接,这些肽接头包括一个(1GS)、三个(3GS)、五个(5GS)或七个(7GS)“GGGS”重复。M13-1GS-M13支架的 IC_{50} 是29nM,然而单体M13支架的 IC_{50} 是71nM。具有更长接头的二价M13支架的 IC_{50} 是引人注目地更低的(5-6nM)。

[0868] 图2D示出了鼠CD40L-特异性单价的(M13)或二价的串联支架对B细胞上的鼠CD40L-诱导的CD86表达的抑制作用。二价支架比单价支架有力约3个对数。

[0869] 图8A和8B示出人类CD40L-特异性Tn3支架309和311以二价串联模式展示出增强的效价。二价311支架(图8A)和二价309支架(图8B)在抑制用Jurkat D1.1细胞刺激的CD19阳性人类PBMC上的人类CD40L-诱导的表达方面分别示出约7倍和500-1000倍的改善。二价309支架与生源体的5c8抗-人类CD40L单克隆抗体在效价上是可比较的。

[0870] 溶解度、稳定性以及纯化的容易没有被添加的不同长度的肽接头破坏,这些肽接头包括一个(1GS)、三个(3GS)、五个(5GS)或七个(7GS)“GGGS”重复(参见图2B)。

[0871] 6.4 CD40L-特异性Tn3支架结合与功能。

[0872] 除了上面描述的生物化学结合以外,重要的是证实这些新颖的Tn3支架能够结合激活后在初始T细胞上表达的内源CD40L。从多个供体中分离T细胞并且如所描述的进行激活。24小时后,上调CD40L表达,如通过用5c8(人类-特异性的)单克隆抗体和MR1(鼠-特异性的)单克隆抗体染色所确定的(数据未示出)。因为单克隆抗体证实这些分子可以结合天然蛋白质,所以CD40L-特异性Tn3支架分子能够检测的可比较水平的CD40L表达。

[0873] CD40L:CD40相互作用的功能后果之一是B细胞上的共刺激分子的上调(Yellin(叶琳)等人,J.Exp.Med.(实验医学杂志)6:1857-1864,1995)。针对其阻止共刺激分子的上调的能力对CD40L-定向的Tn3分子进行测试。使用内源表达人类或鼠CD40L(分别是D1.1Jurkat亚克隆或D10.G4)的细胞系刺激外周血单核细胞(PBMC)。一旦被刺激,便经由流式细胞计数法通过测量由CD19+B细胞上调的CD86的百分比评估B细胞的激活。在这一测定中,阳性对照单克隆抗体能够以0.170nM(5c8)和0.230nM(MR1)的 IC_{50} 抑制表达CD86的细胞的CD19+百分比。人类特异性优化的Tn3(342)能够以 IC_{50} 值=0.700nM拮抗CD86上调(n=5个供体)(参见图10B和表7)。

[0874] 鼠特异性优化的Tn3(M31)具有1.5nM的 IC_{50} 。当使用Mega-CD40L重组蛋白刺激PBMC时,观察到这些类似的结果。实验数据证明两种分子(无论是鼠特异性的还是人类特异性的)不仅可以抑制细胞内的主要信号通路(NF κ B),还可以抑制抑制其最重要的功能角色之一:T-B细胞相互作用。这一抑制作用可以消解CD40L在许多自身免疫性疾病和病症中的贡献。

[0875] 6.5抗-CD40L Tn3抑制T/B共培养后的B细胞增殖和浆细胞分化。

[0876] T细胞上的CD40L与表达CD40的B细胞的相互作用是T细胞帮助的一个基本方面,这协助获得性免疫应答的发展(Banchereau(邦舍罗),1994;Oxenius(欧恩尼斯),1996, van Kooten(范库腾)&Banchereau(邦舍罗),1997)。为了模拟这一相互作用,在T细胞和B细胞的初始细胞共培养物中评价340、342以及342-342二聚体的抗-hCD40L Tn3-HSA融合物,其中用纯化的人类B细胞培养抗-CD3刺激的、丝裂霉素C处理的人类CD4⁺ T细胞。测量B细胞在第四天增殖到第七天分化为浆细胞(PC)并且转换其产生的抗体类别的能力(PC和抗体数据未示出)(图15)(Ettinger(埃廷格),2007)。在不存在支架的情况下,或在存在非特异性对照支架的情况下,如与B细胞的细胞增殖相比,CD40L-特异性 Tn3支架342-342-HSA能够以至少50%减少T细胞诱导的增殖。当CD40L:CD40连接时,增殖是浆细胞分化的前体信号。还观察到浆细胞分化以及抗体类别转换的抑制(数据未示出)。

[0877] 6.6 CD40:CD40L轴的体内破坏。

[0878] CD40L:CD40R相互作用在T-依赖性免疫应答中的中心作用已经被很好地表征(Noelle(诺艾尔),1992;Renshaw(伦肖),1994,Wykes(威克斯),2003)。通过在第零天用绵羊红细胞(SRBC)免疫小鼠(静脉内地),使用鼠CD40L-特异性Tn3支架M31(M31-MSA和M31-M31-MSA)评价这些新颖的分子在T-依赖性免疫模型中的作用。

[0879] 在第9-13天,每天用表明的剂量的抑制剂腹膜内地注射小鼠并且在第14天,测定脾脏和淋巴结GC B细胞的数量。需要每天给药,给出这一分子体内的短的 $T_{1/2}$ (即31小时)(图4)。从先前发现(Jacob(雅各布),1991)中已经公认CD40L控制体液应答,例如在解剖部位(例如脾脏和淋巴结)中的生发中心的产生。在此,在用M31-MSA对比天然的或我们的非特异性对照物(D1-MSA)的剂量依赖性方式中观察到有助于生发中心形成的CD40L:CD40轴的破坏,如由GC B细胞的百分比所示出的。

[0880] 甚至在10mg/kg处,M31-MSA能够摧毁GC B细胞(图5B)连同MR1单克隆抗体(图5A)的百分比。其他的细胞亚群(包括特异性T细胞群体)似乎是正常的,这保证观察到的这些结果不是由于T细胞耗尽(图5C、图5D、图5E)。此外,来自抗-SRBC Ig ELISA数据的结果反映生发中心B细胞数据的结果(图5F)。一并考虑,这些数据表明鼠-特异性Tn3支架M31-MSA可以废除经由CD40信号传导驱动的反应。

[0881] 类似地,使用人类CD40L-特异性Tn3支架342(342-HSA和342-342-HSA)来评价这些新颖的分子在猕猴中的KLH-特异性T细胞依赖性抗体应答(TDAR)模型中的作用。在此,CD40L:CD40轴的破坏导致至KLH抗原的抗体的产生的剂量依赖性方式抑制。如在图5G和5H中所示,342-二价构建体在0.5mg/kg(mpk)处抑制IgM和IgG抗体的水平并且在5mg/kg处看到几乎完全抑制。342-单体构建体也抑制IgM和IgG的水平,但是在40mg/kg的更高浓度处看到几乎完全抑制。这些数据表明人类特异性Tn3支架构建体342-HSA和342-342-HSA两者都可以废除经由CD40信号传导驱动的反应。

[0882] 6.7人类CD40L-特异性Tn3支架不诱导血小板凝集。

[0883] 当在若干患者中出现血栓栓塞时,便停止了用抗-CD40L单克隆抗体的人类临床试验(Davidson(戴维森)等人Arth Rheu(类风湿关节炎),43:S271)。随后的预临床分析提示这是抗-CD40L单克隆抗体的靶标类别效应。因此,重要的是在血小板凝集测定中测试人类CD40L-特异性Tn3支架。

[0884] 当使用三个具有生理学CD40L的分子与一个具有抗-CD40L单克隆抗体的分子的比率时,在柠檬酸盐富血小板血浆 (PRP)、洗涤的血小板、以及全血中观察到促凝效应(图16A)。这些效应是由单克隆抗体Fc结构域依赖性相互作用随后是CD40L结合介导的(数据未示出)。在不存在Fc结构域融合物的情况下,没有观察到凝集。在具有任何作为二聚体或作为HSA融合蛋白的人类CD40L特异性Tn3支架的多个供体中没有观察到凝集(图16B和16C)。

[0885] 在血小板的存在下,通过创建可溶性CD40L/抗-CD40L单克隆抗体免疫复合物观察到如在临床试验中观察到的有害的副作用(图16A和在16C图上的5C8 轨迹)。此现象的另一个实例可以在转基因人类Fc γ RIIa鼠研究的组织学中看到 (Francis (弗朗西斯) 等人, 2010)。当给予可溶性CD40L/单克隆抗体免疫复合物时,在给予后的数分钟内,在肺组织内看到丰富的血栓。然而,当用抗-CD40L Tn3 支架重复时,根据对照样品,在肺中存在正常的组织学(数据未示出)。

[0886] 实例7

[0887] 被工程化以结合CD40L的纤连蛋白III型结构域:两种复合物的克隆,表达,纯化,结晶以及初步的X射线衍射分析。

[0888] 将重组人类可溶性CD40L与两个都被从噬菌体展示文库中分离为 CD40L粘合剂的CD40L-特异性Tn3单体支架309和311K4E-12共结晶。晶体衍射分别为3.1 Å和2.9 Å。此外,将重组人类可溶性CD40L与优化的Tn3单体342 单独共结晶并且与342单体和311K4E_12单体两者共结晶。针对这些结构,晶体衍射分别为 2.8 Å和1.9 Å。对应的晶体结构有助于理解Tn3支架与CD40L之间的相互作用并且可以将其用来设计更高亲和力的CD40L粘合剂以及结合多个表位的串联构建体。

[0889] 7.1 Tn3分子和人类可溶性CD40L的表述与纯化

[0890] 为了产生用于结晶的无标签的Tn3分子,使用内部IPTG-可诱导的载体在大肠杆菌中表达蛋白质,该载体被设计用来将重组表达的蛋白质分泌进周质间隙。除了凝血酶切割位点以外,这一载体具有一个P_{tac}启动子,即O_{ppA}信号肽突变体L25/M (MTNITKRSLVAAGVLAALMAGNVAMA) (SEQ ID NO:210)、一个C端8xHis-标签。将Tn3序列在信号肽与凝血酶切割位点之间进行亚克隆。

[0891] 根据制造商的说明(凯杰公司,瓦伦西亚,加州,美国),使用Ni-NTA 树脂纯化表达的分泌型His-标记的蛋白质,并且然后由凝血酶切割,随后再次进行 Ni-NTA亲和纯化,以除去未切割的完全蛋白质和切割的His-标记的片段。这一纯化步骤之后是使用HiTrap Q柱(GE医疗保健公司,皮斯卡塔韦,新泽西州,美国) 的离子交换步骤,在Äkta 提纯器(GE医疗保健公司,皮斯卡塔韦,新泽西州,美国) 上进行。基于SDS-PAGE和SEC结果,纯化的无标签的Tn3蛋白质示出大于 95%的纯度和同质性。

[0892] 通过GeneArt用N端6xHis-标签合成人类可溶性CD40L (113-261, UNIPROT: P29965) 基因并且在巨细胞病毒主要立即早期(hCMVie) 启动子的控制下将其内部地克隆进哺乳动物表达载体中(Boshart (包沙特) 等人,Cell (细胞) 41:521-530,1985)。将CD40L基因克隆进具有CD33信号肽的框架中。使用该载体中的EBNA和Ori P基因增加蛋白质表达。CD40L基因还掺入SV40多-A 序列,以允许其mRNA 3'-端的适当加工。将该构建体瞬时转染进293F悬浮细胞 (生长在293 Freestyle培养基中并且使用293 Fectin的人胚肾细胞

[HEK],英杰公司,卡尔斯巴德,加州,美国)中。使用标准方案使细胞生长并且在第4天和第8天后收获培养基。然后使用Ni-NTA树脂纯化可溶性CD40L蛋白质,随后是使用 Hi-Trap SP FF柱 (GE医疗保健公司,皮斯卡塔韦,新泽西州,美国)的离子交换步骤,并且在50mM Tris pH 7.5,50mM NaCl中透析。

[0893] 为了制备复合物,将分子Tn3 (309或311K4E_12或342)与CD40L以 1.1:1比率混合,使用Vivaspin浓缩器 (30,000Da截留;GE医疗保健公司,皮斯卡塔韦,新泽西州,美国)浓缩至约10mg/ml并且使其经受尺寸排阻色谱法 (SEC),使用用50mM Tris-HCl,pH 7.5、100mM NaCl、0.02%NaN₃预平衡的Superdex 200 10/300GL柱 (GE医疗保健公司,皮斯卡塔韦,新泽西州,美国) (图19,图A)。在分离步骤后,将该复合物浓缩至18mg/ml并且使其经受结晶。基本如上所述,使用1.1:1.1:1比率的三种组分制备342-311K4E_12-CD40L复合物。

[0894] 7.2结晶筛选与优化

[0895] 使用Phoenix结晶机器人 (艺术罗宾斯仪器公司 (Art Robbins Instruments),桑尼维尔,加州,美国)在96-孔易达利平板 (Intelli-plate) (艺术罗宾斯仪器公司 (Art Robbins Instruments),桑尼维尔,加州,美国)上建立沉滴结晶实验,通过将300nL体积的孔溶液与蛋白复合物溶液混合在滴隔区中并且使其针对50μL的孔溶液而平衡。使用来自汉普顿研究公司 (Hampton Research) (亚里索维耶荷,加州,美国)、绿宝生物系统公司 (Emerald BioSystems) (班布里奇岛,华盛顿州,美国)以及分子维度公司 (Molecular Dimensions) (阿波普卡 (Apopka),佛罗里达州,美国)的商业结晶筛选。

[0896] 309-CD40L、342-CD40L和342-311K4E_12-CD40L复合物的结晶各自都需要一个优化步骤,该优化步骤包括使用Additive Screen HT (汉普顿研究公司,亚里索维耶荷,加州,美国)的额外的筛选。在优化步骤中,将96孔平板的孔溶液用来自初始筛选的80%的成功溶液 (successful solution)以及20%的对应的添加剂填充。在将后者彻底混合后,滴剂由300nL的蛋白溶液以及300nL的新的孔溶液组成。直接从96孔平板收获衍射品质的晶体。用于低温保存,将晶体转移至具有增加的甘油浓度的母液三个连续溶液中。

[0897] 使衍射品质的311-CD40L晶体在不需要添加低温试剂的初始筛分溶液中生长。

[0898] 7.3 X射线衍射和数据收集

[0899] 在配备有ADSC Q315R CCD X射线检测器 (区域检测器系统公司 (Area Detector Systems Corporation),波威,加州,美国)的劳伦斯伯克利国家实验室 (Lawrence Berkeley National Laboratory) (加利福尼亚大学,伯克利)中,在 Beamline 5.0.3的高级光源处从单晶体中收集309-CD40L复合物的衍射图。在300 mm的晶体对检测器 (crystal-to-detector)距离以及0.8秒钟的曝光时间下收集360 个具有0.5°的振荡区间的连续图像。

[0900] 在配备有Rayonix 225HE检测器 (Rayonix有限责任公司,埃文斯顿,伊利诺伊州,美国)的阿贡国家实验室 (Argonne National Laboratory) (芝加哥大学,芝加哥,伊利诺伊州)中,在Beamline 31-ID-D的高级光子处从单晶体中收集 311K4E_12-CD40L、342-CD40L以及342-311K4E_12-CD40L复合物的X射线衍射图。在300mm的晶体对检测器 (crystal-to-detector)距离以及0.8秒钟的曝光时间下收集180个具有1°的振荡区间的连续图像。

[0901] 使用HKL2000套具进行所有数据组的减少和缩放 (Otwinowski (敖提因思科) & Minor (米诺尔),Methods in Enzymology (酶学方法),276:307-326. 1997)。

[0902] 7.4结果和讨论

[0903] 309-CD40L复合物的最具重复性的结晶条件似乎是Peg/Ion筛选(汉普顿研究公司)中的B5 (0.2M NaNO_3 , 20% PEG3350)。用附加的筛选(Additive Screen)的进一步优化从A1条件 (0.1M $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 产生了衍射品质的晶体。从96孔平板收获示于图19, 图B中的晶体, 并且在转移至补充有20%甘油的母液溶液中后将其在液氮中冷却。

[0904] 空间群对称: 该晶体属于具有 $a = 85.69 \text{ \AA}$ 、 $b = 90.64 \text{ \AA}$ 、 $c = 95.56 \text{ \AA}$ 的晶胞参数并且衍射为 $3.1 \text{ \AA}$ 的正交晶空间群。预期不对称单位包含一个CD40L的三聚体以及三个具有约 $2.3 \text{ \AA}^3/\text{Da}$ 的VM值的309分子。

[0905] 对于311K4E_12-CD40L结晶, Cryo I&II筛选(绿宝生物结构公司 (Emerald BioStructures)) 产生了许多既不需优化又不需低温保存的条件。将来自条件F7 (40% PEG 600, 0.1M CH_3COONa , 0.2M MgCl_2) 的单晶体(图19, 图C) 用于数据收集。

[0906] 空间群对称: 该晶体属于具有 $97.62 \text{ \AA}$ 的晶胞参数并且衍射为 $2.6 \text{ \AA}$ 的立体空间群P213。该不对称单位包含一个CD40L以及一个具有约 $2.9 \text{ \AA}^3/\text{Da}$ 的VM 值的311K4E_12分子。

[0907] 342-CD40L空间群对称: 该晶体属于具有 $a = 93.53 \text{ \AA}$ 、 $b = 93.53 \text{ \AA}$ 、 $c = 66.69 \text{ \AA}$ 的晶胞参数, 分离度为 $2.8 \text{ \AA}$ 的空间群P321。该不对称单位包含一个CD40L 单体以及一个342单体。

[0908] 342-311K4E_12-CD40L空间群对称: 该晶体属于具有 $a = 80.32 \text{ \AA}$ 、 $b = 143.48 \text{ \AA}$ 、 $c = 111.27 \text{ \AA}$ 、 $\beta = 98.22^\circ$ 的晶胞参数, 分离度为 $1.9 \text{ \AA}$ 的空间群P21。该不对称单位包含两个CD40三聚体、六个342单体、以及六个311K4E-12单体。

[0909] 针对所有结构的数据统计示于表10中。

[0910] 表10.X射线数据收集统计。

	309-CD40L	311K4E-12
[0911]	波长, $\text{\AA}$	0.9793
	分辨率, $\text{\AA}$	50.0-3.05 (3.16-3.05) ^a
	空间群	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
	晶胞参数, $\text{\AA}$	$a = 85.69$, $b = 90.64$, $c = 95.56$
	全反射	94,024
	独特的反射	14,555
	平均冗余	6.5 (6.4) ^a
	完整性, %	100.0 (100.0) ^a
[0912]	R_{sym}	0.097 (0.443) ^a
	平均 $I/\sigma(I)$	17.2 (4.6) ^a
插入的 ^a 值与最高的分辨率壳(shell)对应		

	342-CD40L	342-311K4E_12-CD40L
波长, Å	0.9793	0.9793
分辨率, Å	50.0-2.8 (2.83-2.82) ^a	144.5-1.9 (1.96-1.95) ^a
空间群	P321	P2 ₁
晶胞参数, Å	a = 93.53, b = 93.53, c = 66.69	a = 80.32, b = 143.48,
	c = 111.27, β = 98.22°	
[0913] 全反射	66,038 (549) ^a	733,814 (1806) ^a
独特的反射	8,406 (88) ^a	179,232 (1806) ^a
平均冗余	7.9 (6.2) ^a	4.1 (4.2) ^a
完整性, %	99.9 (100.0) ^a	99.7 (99.6) ^a
R _{sym}	0.19 (0.79) ^a	0.06 (0.57) ^a
平均 I/σ (I)	8.1 (1.4) ^a	14.5 (3.0) ^a
插入的 ^a 值与最高的分辨率壳(shell)对应		

[0914] CD40L形成一个三聚体(图17A中的多肽A、B和C)。每个309Tn3 支架(图17A中的多肽D、E和F)都与两个CD40L多肽接触。晶体结构揭示在每个309支架与第一和第二CD40L多肽之间存在六个特异性接触。BC中的天冬氨酸17与第一CD40L中的苏氨酸251接触。BC环中的谷氨酸18与第一CD40L 中的精氨酸203接触并且与第二CD40L中的异亮氨酸204接触。DE环中的丝氨酸47与第一CD40L中的组氨酸249接触。DE环中的色氨酸49与第一CD40L中的缬氨酸247接触。FG环中的天冬氨酸70与第二CD40L中的丝氨酸185接触(参见图17A)。与311支架接触的CD40L氨基酸残基也被示于图18A中。

[0915] 在309的情况下,每个311K4E_12单体支架(图17B中的多肽A、B、和C)都与两个CD40L多肽接触。晶体结构显示在每个311K4E_12支架与第一和第二CD40L多肽之间存在19个特异性接触。BC环中的天冬酰胺17与第一CD40L 中的酪氨酸146和谷氨酸142接触。BC环中的精氨酸18与第一CD40L中的谷氨酸142、酪氨酸146、以及甲硫氨酸148接触。BC环中的丝氨酸19与第一CD40L 中的谷氨酸142和亮氨酸155接触。BC环中的丝氨酸22与第一CD40L中的天冬酰胺151接触。BC环中的组氨酸15与第一CD40L中的酪氨酸146接触。DE环中的组氨酸51与第一CD40L中的酪氨酸146接触并且与第二CD40L中的谷氨酸 230接触。DE环中的缬氨酸50与第二CD40L中的谷氨酸230接触。311K4E_12 单体支架的N端区被连接至第二CD40L。第二CD40L中的精氨酸200与 311K4E_12的N端区中的苏氨酸7、天冬氨酸8、以及苏氨酸10接触。第二CD40L 中的精氨酸203与谷氨酸4和天冬氨酸5接触。与309支架接触的CD40L氨基酸残基也被示于图18B中。

[0916] 与309和311K4E_12处于复合物形式的CD40L的晶体结构示出 311K4E_12和309单体与位于该CD40L三聚体复合物的不同部分中的不同表位结合(图17C)。这些结构示出,两个支架都结合在将与CD40受体相互作用的同一沟中。

[0917] 与CD40L一起的342的晶体结构提供于图17D中并且示出与亲本309 克隆相比,尽管342与CD40L的同一部分结合,但是看到接触残基中的特异性变化。确切地,在342中,BC环中的天冬氨酸18与CD40L的苏氨酸251接触并且 DE环的组氨酸47与CD40L的组氨酸249接触,DE环的组氨酸48与CD40L的组氨酸249、丝氨酸245和丝氨酸248接触,并且DE环的组氨酸

50与CD40L的缬氨酸247接触。

[0918] 与CD40L一起的342和311K4E₁₂的晶体结构证明两个支架都可以同时与其对应的表位结合,这些表位位于该CD40L三聚体复合物的不同部分(图 17E)。维持每个单独的支架(如上所述)的接触。

[0919] 上面示出的这些实例说明本发明的不同方面以及本发明的方法的实践。这些实例并不旨在提供本发明的许多不同实施例的穷尽性的描述。因此,尽管出于理解的清楚的目的已经经由说明和实例较为详细地描述了本发明,但是本领域的普通技术人员将容易认识到,可以在不偏离所附权利要求书的精神或范围的情况下做出许多改变和修饰。

[0920] 在本说明书提到的所有公开、专利和专利申请均通过引用结合在此,引用程度就如同每个单独公开、专利或专利申请特定地并且单独地指示通过引用结合在此一般。

[0921] 序列

[0922] SEQ ID NO:1

[0923] CD40L sp|P29965|CD40L_人类-膜形式

[0924] 胞质域=1-20

[0925] 信号锚定II型膜蛋白区=21-46

[0926] 可溶态=113-261

[0927] MIETYNQTSRSAATGLPISMKIFMYLLTVFLITQMIGSALFAVYLHRRLDKIEDE RNLH

[0928] EDFVFMKTIQRCNTGERSLSLLNCEEIKSQFEGFVKDIMLNKEETKKENSFEMQ KGDQNP

[0929] QIAAHVISEASSKTTSVLQWAEKGYTMSNNLVTLENGKQLTVKRQGLYYIYA QVTFCSN

[0930] REASSQAPFIASLCLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCGQQSIHLGGVFELQPGAS VFDVN

[0931] VTDPSQVSHGTGFTSFGLLKL

[0932] SEQ ID NO:2

[0933] CD40L-可溶态,也对应于共结晶的构建体

[0934] MQKGDQNPQIAAHVISEASSKTTSVLQWAEKGYTMSNNLVTLENGKQLTVK RQGLYYIY

[0935] AQVTFCSNREASSQAPFIASLCLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCGQQSIHLGG VFELQ

[0936] PGASVFDVNTDPSQVSHGTGFTSFGLLKL

[0937] SEQ ID No:3

[0938] Tn3(具有未修饰的环)

[0939] IEVKDVTDTTALITWFKPLAEIDGCELTGKIDVPGDRTTIDLTEDENQYSIG NLKPDTE

[0940] YEVSLICRRGDMSSNPAKETFTT

[0941] SEQ ID NO:4

[0942] 生腱蛋白C的第三FnIII,AB环(Tn3)

[0943] KDVTDTT

[0944] SEQ ID NO:5

[0945] 生腱蛋白C的第三FnIII,BC环(Tn3)

[0946] FKPLAEIDG

[0947] SEQ ID NO:6

[0948] 生腱蛋白C的第三FnIII,CD环(Tn3)

[0949] KDVPGDR

- [0950] SEQ ID NO:7
- [0951] 生腱蛋白C的第三FnIII,DE环 (Tn3)
- [0952] TEDENQ
- [0953] SEQ ID NO:8
- [0954] 生腱蛋白C的第三FnIII,EF环 (Tn3)
- [0955] GNLKPDTE
- [0956] SEQ ID NO:9
- [0957] 生腱蛋白C的第三FnIII,FG环 (Tn3) ;还在309 FGwt、340、341、342、343、 344、345、346、347、348、以及349克隆中
- [0958] RRGDMSSNPA
- [0959] SEQ ID NO:10
- [0960] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链A (Tn3)
- [0961] RLDAPSQIEV
- [0962] SEQ ID NO:11
- [0963] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链A (Tn3) N端平截
- [0964] IEV
- [0965] SEQ ID NO:12
- [0966] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链B (Tn3)
- [0967] ALITW
- [0968] SEQ ID NO:13
- [0969] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链C (Tn3变体)
- [0970] CELAYGI
- [0971] SEQ ID NO:14
- [0972] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链C (Tn3)
- [0973] CELTYGI
- [0974] SEQ ID NO:15
- [0975] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链D (Tn3)
- [0976] TTIDL
- [0977] SEQ ID NO:16
- [0978] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链E (Tn3)
- [0979] YSI
- [0980] SEQ ID NO:17
- [0981] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链F (Tn3)
- [0982] YEVSLIC
- [0983] SEQ ID NO:18
- [0984] 生腱蛋白C的第三FnIII,β链G (Tn3)
- [0985] KETFTT
- [0986] SEQ ID NO:19
- [0987] 克隆309-分离自天然Tn3文库的亲本克隆

- [0988] AIEVKDVTDTTALITWSDEFGHYDGCELTGYIKDVPGDRTTIDLWWHSAWY SIGNLKPDY
- [0989] EYEVSLICYTDQEAGNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [0990] SEQ ID NO:20
- [0991] 克隆309-分离自天然Tn3文库的亲本克隆 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8 标签)
- [0992] IEVKDVTDTTALITWSDEFGHYDGCELTGYIKDVPGDRTTIDLWWHSAWYS IGNLKPDTE
- [0993] YEVSILICYTDQEAGNPAKETFTT
- [0994] SEQ ID NO:21
- [0995] 克隆309 FGwt-具有“人源化的”FG环的亲本克隆
- [0996] AIEVKDVTDTTALITWSDEFGHYDGCELTGYIKDVPGDRTTIDLWWHSAWY SIGNLKPDY
- [0997] EYEVSLICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [0998] SEQ ID NO:22
- [0999] 克隆309 FGwt-具有“人源化的”FG环的亲本克隆 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1000] IEVKDVTDTTALITWSDEFGHYDGCELTGYIKDVPGDRTTIDLWWHSAWYS IGNLKPDTE
- [1001] YEVSILICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1002] SEQ ID NO:23
- [1003] 克隆340-亲和力成熟的变体
- [1004] AIEVKDVTDTTALITWSDDFDNYEWCELTGYIKDVPGDRTTIDLWYHMAW YSIGNLKPDY
- [1005] EYEVSLICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1006] SEQ ID NO:24
- [1007] 克隆340-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1008] IEVKDVTDTTALITWSDDFDNYEWCELTGYIKDVPGDRTTIDLWYHMAWY SIGNLKPDTE
- [1009] YEVSILICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1010] SEQ ID NO:25
- [1011] 克隆341-亲和力成熟的变体
- [1012] AIEVKDVTDTTALITWSDDFADYVWCELTGYIKDVPGDRTTIDLWWHSAW YSIGNLKPDY
- [1013] EYEVSLICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1014] SEQ ID NO:26
- [1015] 克隆341-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1016] IEVKDVTDTTALITWSDDFADYVWCELTGYIKDVPGDRTTIDLWWHSAWY SIGNLKPDTE
- [1017] YEVSILICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1018] SEQ ID NO:27
- [1019] 克隆342-亲和力成熟的变体 (w/WT FG环) AIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTGYIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSIGNLKPDY
- [1020] EYEVSLICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1021] SEQ ID NO:28
- [1022] 克隆342-亲和力成熟的变体 (w/WT FG环;w/o N-端A,以及C-端接头和His8 标签)
- [1023] IEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTGYIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYS IGNLKPDTE

- [1024] YEVS LICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1025] SEQ ID NO:29
- [1026] 克隆343-亲和力成熟的变体 AIEVKDVTDTTALITWLDDWGSYHVCELTYGIKDVPGDRTTID
LWYHQAWYSI GNLKPDT
- [1027] EYEVS LICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1028] SEQ ID NO:30
- [1029] 克隆343-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1030] IEVKDVTDTTALITWLDDWGSYHVCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHQAWY SIGNLKPDE
- [1031] YEVS LICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1032] SEQ ID NO:31
- [1033] 克隆344-亲和力成熟的变体 AIEVKDVTDTTALITWSDEVGDYVVCCELTYGIKDVPGDRTTID
LWYHMAWYSI GNLKPDT
- [1034] EYEVS LICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1035] SEQ ID NO:32
- [1036] 克隆344-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1037] IEVKDVTDTTALITWSDEVGDYVVCCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHMAWY SIGNLKPDE
- [1038] YEVS LICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1039] SEQ ID NO:33
- [1040] 克隆345-亲和力成熟的变体 AIEVKDVTDTTALITWSDDFAEYVGCCELTYGIKDVPGDRTTID
LWWHSAWYSI GNLKPDT
- [1041] EYEVS LICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1042] SEQ ID NO:34
- [1043] 克隆345-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1044] IEVKDVTDTTALITWSDDFAEYVGCCELTYGIKDVPGDRTTIDLWWHSAWYS IGNLKPDE
- [1045] YEVS LICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1046] SEQ ID NO:35
- [1047] 克隆346-亲和力成熟的变体 AIEVKDVTDTTALITWSDDFEEYVVCCELTYGIKDVPGDRTTID
LWWHSAWYSIG NLKPDT
- [1048] EYEVS LICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1049] SEQ ID NO:36
- [1050] 克隆346-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1051] IEVKDVTDTTALITWSDDFEEYVVCCELTYGIKDVPGDRTTIDLWWHSAWYSI GNLKPDE
- [1052] YEVS LICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1053] SEQ ID NO:37
- [1054] 克隆347-亲和力成熟的变体 AIEVKDVTDTTALITWSDEVGQYVGCCELTYGIKDVPGDRTTID
LWYHMAWYSI GNLKPDT
- [1055] EYEVS LICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1056] SEQ ID NO:38
- [1057] 克隆347-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)

- [1058] IEVKDVTDTTALITWSDEVGQYVGCELTYGIKDVPDRTTIDLWYHMAWY SIGNALKPDTE
- [1059] YEVS LICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1060] SEQ ID NO:39
- [1061] 克隆348-亲和力成熟的变体 AIEVKDVTDTTALITWSDDIGLYVWCELTYGIKDVPDRTTIDLWFHQAWYSIG NLKPDTE
- [1062] EYEVS LICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1063] SEQ ID NO:40
- [1064] 克隆348-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1065] IEVKDVTDTTALITWSDDIGLYVWCELTYGIKDVPDRTTIDLWFHQAWYSI GNLKPDTE
- [1066] YEVS LICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1067] SEQ ID NO:41
- [1068] 克隆349-亲和力成熟的变体 AIEVKDVTDTTALITWSDEHAEFIGCELTYGIKDVPDRTTIDLWWHSAWYSIG NLKPDTE
- [1069] EYEVS LICRRGDMSSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1070] SEQ ID NO:42
- [1071] 克隆349-亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1072] IEVKDVTDTTALITWSDEHAEFIGCELTYGIKDVPDRTTIDLWWHSAWYSI GNLKPDTE
- [1073] YEVS LICRRGDMSSNPAKETFTT
- [1074] SEQ ID NO:43
- [1075] 克隆311-分离自天然Tn3文库的亲本克隆
- [1076] AIEVKDVTDTTALITWTNRSSYYNLHGCELTYGIKDVPDRTTIDLSSPYVH YSIGNLKP
- [1077] DTEYEVS LICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1078] SEQ ID NO:44
- [1079] 克隆311-分离自天然Tn3文库的亲本克隆 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8 标签)
- [1080] IEVKDVTDTTALITWTNRSSYYNLHGCELTYGIKDVPDRTTIDLSSPYVHY SIGNALKPD
- [1081] TEYEVS LICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1082] SEQ ID NO:45
- [1083] 克隆311K4E-来自第一轮亲和力成熟的变体
- [1084] AIEVEDVTDTTALITWTNRSSYYNLHGCELTYGIKDVPDRTTIDLSSPYVH YSIGNLKP
- [1085] DTEYEVS LICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
- [1086] SEQ ID NO:46
- [1087] 克隆311K4E-来自第一轮亲和力成熟的变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8 标签)
- [1088] IEVEDVTDTTALITWTNRSSYYNLHGCELTYGIKDVPDRTTIDLSSPYVHYS IGNLKP
- [1089] TEYEVS LICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1090] SEQ ID NO:47
- [1091] 克隆311K4E_1-来自第二轮亲和力成熟的变体
- [1092] AIEVEDVTDTTALITWINRSYYADLHGCELTYGIKDVPDRTTIDLQIYVH YSIGNLKP

- [1093] DTKYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1094] SEQ ID NO:48
- [1095] 克隆311K4E_1-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1096] IEVEDVDTTALITWINRSYYADLHGCELTYGIKDVPDRTTIDLQIYVHYS IGNLKP
- [1097] TKYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1098] SEQ ID NO:49
- [1099] 克隆311K4E_2-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体AIEVEDVDTTALITWTNRSSSYHL DGCELTYGIKDVPDRTTIDL SAAIYVHYSI GNLK
- [1100] PDTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1101] SEQ ID NO:50
- [1102] 克隆311K4E_2-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签) IEVEDVDTTALITWTNRSSSYHL DGCELTYGIKDVPDRTTIDL SAAIYVHYSIG NLKP
- [1103] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1104] SEQ ID NO:51
- [1105] 克隆311K4E_3-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体
- [1106] AIEVEDVDTTALITWINRSSYHNFPHCELAYGIKDVPDRTTIDLNSPYVHY SIGNALKP
- [1107] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1108] SEQ ID NO:52
- [1109] 克隆311K4E_3-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签) IEVEDVDTTALITWINRSSYHNFPHCELAYGIKDVPDRTTIDLNSPYVHYSIGN LKPD
- [1110] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1111] SEQ ID NO:53
- [1112] 克隆311K4E_4-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体
- [1113] AIEVEDVDTTALITWTNRSSSYNHLGCELAYGIKDVPDRTTIDLNNIYVH YSIGNALKP
- [1114] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1115] SEQ ID NO:54
- [1116] 克隆311K4E_4-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签) IEVEDVDTTALITWTNRSSSYNHLGCELAYGIKDVPDRTTIDLNNIYVHYSIG NLKPD
- [1117] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1118] SEQ ID NO:55
- [1119] 克隆311K4E_5-来自第二轮亲和力成熟的变体
- [1120] AIEVEDVDTTALITWTNRSSSYNHFHCELAYGIKDVPDRTTIDLNSPYVH YSIGNALKP
- [1121] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1122] SEQ ID NO:56
- [1123] 克隆311K4E_5-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1124] IEVEDVDTTALITWTNRSSSYNHFHCELAYGIKDVPDRTTIDLNSPYVHYS IGNLKP
- [1125] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT

- [1126] SEQ ID NO:57
- [1127] 克隆311K4E_7-来自第二轮亲和力成熟的变体
- [1128] AIEVEDVDTTALITWTNRSFYSLHGCELTGKDVPGDRTTIDLNQPYVH YSIGNLKP
- [1129] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1130] SEQ ID NO:58
- [1131] 克隆311K4E_7-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1132] IEVEDVDTTALITWTNRSFYSLHGCELTGKDVPGDRTTIDLNQPYVHY SIGNLKPD
- [1133] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1134] SEQ ID NO:59
- [1135] 克隆311K4E_8-来自第二轮亲和力成熟的变体
- [1136] AIEVEDVDTTALITWTNRSSYAYLHGCELAYGKDVPGDRTTIDLNQPYVH YSIGNLKP
- [1137] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1138] SEQ ID NO:60
- [1139] 克隆311K4E_8-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1140] IEVEDVDTTALITWTNRSSYAYLHGCELAYGKDVPGDRTTIDLNQPYVHY SIGNLKPD
- [1141] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1142] SEQ ID NO:61
- [1143] 克隆311K4E_9-来自第二轮亲和力成熟的变体
- [1144] AIEVEDVDTTALITWINRSSYANLHGCELTGKDVPGDRTTIDLSSPYVHY SIGNLKP
- [1145] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1146] SEQ ID NO:62
- [1147] 克隆311K4E_9-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1148] IEVEDVDTTALITWINRSSYANLHGCELTGKDVPGDRTTIDLSSPYVHYSI GNLKPD
- [1149] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1150] SEQ ID NO:63
- [1151] 克隆311K4E_10-来自第二轮亲和力成熟的变体
- [1152] AIEVEDVDTTALITWTNRSSYANYHGCELAYGKDVPGDRTTIDLNQPYVH YSIGNLKP
- [1153] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH
- [1154] SEQ ID NO:64
- [1155] 克隆311K4E_10-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
- [1156] IEVEDVDTTALITWTNRSSYANYHGCELAYGKDVPGDRTTIDLNQPYVHY SIGNLKPD
- [1157] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
- [1158] SEQ ID NO:65
- [1159] 克隆311K4E_11-来自第二轮亲和力成熟的变体
- [1160] AIEVEDVDTTALITWTNRSSYANLPGCELTGKDVPGDRTTIDLNSPYVH YSIGNLKP

- [1161] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
[1162] SEQ ID NO:66
[1163] 克隆311K4E_11-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
[1164] IEVEDVDTTALITWTNRSSYANLPGCELTYGIKDVPDRTTIDLNSPYVHYS IGNLKPD
[1165] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
[1166] SEQ ID NO:67
[1167] 克隆311K4E_12-来自第二轮亲和力成熟的变体
[1168] AIEVEDVDTTALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPDRTTIDLNQPYVH YSIGNLKP
[1169] DTEYEVSLICLTDDGTYNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
[1170] SEQ ID NO:68
[1171] 克隆311K4E_12-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
[1172] IEVEDVDTTALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPDRTTIDLNQPYVHY SIGNLKPD
[1173] TEYEVSLICLTDDGTYNPAKETFTT
[1174] SEQ ID NO:69
[1175] 克隆311K4E_13-来自第二轮亲和力成熟的变体
[1176] AIEVEDVDTTALITWINRSSYANLHGCELTYGIKDVPDRTTIDLNSPYVHY SIGNLKP
[1177] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
[1178] SEQ ID NO:70
[1179] 克隆311K4E_13-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
[1180] IEVEDVDTTALITWINRSSYANLHGCELTYGIKDVPDRTTIDLNSPYVHYS IGNLKPD
[1181] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
[1182] SEQ ID NO:71
[1183] 克隆311K4E_14-来自第二轮亲和力成熟的变体
[1184] AIEVEDVDTTALITWTARSAYSHHHYCELTYGIKDVPDRTTIDLRQPYVH YSIGNLKP
[1185] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
[1186] SEQ ID NO:72
[1187] 克隆311K4E_14-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)
[1188] IEVEDVDTTALITWTARSAYSHHHYCELTYGIKDVPDRTTIDLRQPYVHY SIGNLKPD
[1189] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT
[1190] SEQ ID NO:73
[1191] 克隆311K4E_15-来自第二轮亲和力成熟的变体
[1192] AIEVEDVDTTALITWTNRSSYANYHHCELTYGIKDVPDRTTIDLELYVHY SIGNLKPD
[1193] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHHH
[1194] SEQ ID NO:74
[1195] 克隆311K4E_15-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和

His8标签)

[1196] IEVEDVDTTALITWTNRSSYANYHHCELTYGIKDVPDRTTIDLELYVHYSI GNLKPDT

[1197] EYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT

[1198] SEQ ID NO:75

[1199] 克隆311K4E_16-来自第二轮亲和力成熟的变体

[1200] AIEVEDVDTTALITWTNRSSYSDLPGCELTYGIKDVPDRTTIDLSSPYVHY SIGNALKP

[1201] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH

[1202] SEQ ID NO:76

[1203] 克隆311K4E_16-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)

[1204] IEVEDVDTTALITWTNRSSYSDLPGCELTYGIKDVPDRTTIDLSSPYVHYSI GNLKPD

[1205] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT

[1206] SEQ ID NO:77

[1207] 克隆311K4E_19-来自第二轮亲和力成熟的变体

[1208] AIEVEDVDTTALITWTHRSAYSNHSFCELTYGIKDVPDRTTIDLNTPYVH YSIGNALKP

[1209] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH

[1210] SEQ ID NO:78

[1211] 克隆311K4E_19-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)

[1212] IEVEDVDTTALITWTHRSAYSNHSFCELTYGIKDVPDRTTIDLNTPYVHYS IGNLKPD

[1213] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT

[1214] SEQ ID NO:79

[1215] 克隆311K4E_20-来自第二轮亲和力成熟的变体

[1216] AIEVEDVDTTALITWTNRSLYANFHGCELTYGIKDVPDRTTIDLEQVYVH YSIGNALKP

[1217] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH

[1218] SEQ ID NO:80

[1219] 克隆311K4E_20-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)

[1220] IEVEDVDTTALITWTNRSLYANFHGCELTYGIKDVPDRTTIDLEQVYVHY SIGNALKPD

[1221] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT

[1222] SEQ ID NO:81

[1223] 克隆311K4E_21-来自第二轮亲和力成熟的变体

[1224] AIEVEDVDTTALITWTNRSSYSLPGCELTYGIKDVPDRTTIDLNQVYVH YSIGNALKP

[1225] DTEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTTGGGTLGHHHHHHHH

[1226] SEQ ID NO:82

[1227] 克隆311K4E_21-来自第二轮亲和力成熟的克隆变体 (w/o N-端A,以及C-端接头和His8标签)

[1228] IEVEDVDTTALITWTNRSSYSLPGCELTYGIKDVPDRTTIDLNQVYVHY SIGNALKPD

[1229] TEYEVSLICLTDDGTYSNPAKETFTT SEQ ID NO:83

- [1230] 克隆309和309 FGwt-BC环
[1231] SDEFGHYDG
[1232] SEQ ID NO:84
[1233] 克隆340-BC环
[1234] SDDFDNYEW
[1235] SEQ ID NO:85
[1236] 克隆341-BC环
[1237] SDDFADYVW
[1238] SEQ ID NO:86
[1239] 克隆342-BC环
[1240] SDDFGEYVW
[1241] SEQ ID NO:87
[1242] 克隆343-BC环
[1243] LDDWGSYHV
[1244] SEQ ID NO:88
[1245] 克隆344-BC环
[1246] SDEVG DYV
[1247] SEQ ID NO:89
[1248] 克隆345-BC环
[1249] SDDFAEYVG
[1250] SEQ ID NO:90
[1251] 克隆346-BC环
[1252] SDDFEEYV
[1253] SEQ ID NO:91
[1254] 克隆347-BC环
[1255] SDEVGQYVG
[1256] SEQ ID NO:92
[1257] 克隆348-BC环
[1258] SDDIGLYV
[1259] SEQ ID NO:93
[1260] 克隆349-BC环
[1261] SDEHAEFIG
[1262] SEQ ID NO:94
[1263] 克隆309、309 FGwt、341、345、346、349-DE环
[1264] WWHS AW
[1265] SEQ ID NO:95
[1266] 克隆340、344、347-DE环
[1267] WYHMAW
[1268] SEQ ID NO:96

- [1269] 克隆342-DE环
- [1270] WYHHAH
- [1271] SEQ ID NO:97
- [1272] 克隆343-DE环
- [1273] WYHQAW
- [1274] SEQ ID NO:98
- [1275] 克隆348-DE环
- [1276] WFHQAW
- [1277] SEQ ID NO:99
- [1278] 克隆309-FG环
- [1279] YTDQEAGNPA
- [1280] SEQ ID NO:100
- [1281] 克隆311、311K4E-BC环
- [1282] TNRSSYYNLHG
- [1283] SEQ ID NO:101
- [1284] 克隆311K4E_1-BC环
- [1285] INRSYYADLHG
- [1286] SEQ ID NO:102
- [1287] 克隆311K4E_2-BC环
- [1288] TNRSSYSHLDG
- [1289] SEQ ID NO:103
- [1290] 克隆311K4E_3-BC环
- [1291] INRSSYHNFPH
- [1292] SEQ ID NO:104
- [1293] 克隆311K4E_4-BC环
- [1294] TNRSSYSNHLG
- [1295] SEQ ID NO:105
- [1296] 克隆311K4E_5-BC环
- [1297] TNRSSYSNFBHG
- [1298] SEQ ID NO:106
- [1299] 克隆311K4E_7-BC环
- [1300] TNRSFYSNLHG
- [1301] SEQ ID NO:107
- [1302] 克隆311K4E_8-BC环
- [1303] TNRSSYAYLHG
- [1304] SEQ ID NO:108
- [1305] 克隆311K4E_9、311K4E_13-BC环
- [1306] INRSSYANLHG
- [1307] SEQ ID NO:109

- [1308] 克隆311K4E_10-BC环
- [1309] TNRSSYANYHG
- [1310] SEQ ID NO:110
- [1311] 克隆311K4E_11-BC环
- [1312] TNRSSYANLPG
- [1313] SEQ ID NO:111
- [1314] 克隆311K4E_12-BC环
- [1315] TNRSSYSNLHG
- [1316] SEQ ID NO:112
- [1317] 克隆311K4E_14-BC环
- [1318] TARSAYSHHHY
- [1319] SEQ ID NO:113
- [1320] 克隆311K4E_15-BC环
- [1321] TNRSSYANYHH
- [1322] SEQ ID NO:114
- [1323] 克隆311K4E_16-BC环
- [1324] TNRSSYSDLPG
- [1325] SEQ ID NO:115
- [1326] 克隆311K4E_19-BC环
- [1327] THRSAYSNHSF
- [1328] SEQ ID NO:116
- [1329] 克隆311K4E_20-BC环
- [1330] TNRSLYANFHG
- [1331] SEQ ID NO:117
- [1332] 克隆311K4E_21-BC环
- [1333] TNRSSYSNLPG
- [1334] SEQ ID NO:118
- [1335] 克隆311、311K4E、311K4E_9、311K4E_16-DE环
- [1336] SSPYVH
- [1337] SEQ ID NO:119
- [1338] 克隆311K4E_1-DE环
- [1339] DQIYVH
- [1340] SEQ ID NO:120
- [1341] 克隆311K4E_2-DE环
- [1342] SAAIYVH
- [1343] SEQ ID NO:121
- [1344] 克隆311K4E_3、311K4E_5、311K4E_11、311K4E_13-DE环
- [1345] NSPYVH
- [1346] SEQ ID NO:122

- [1347] 克隆311K4E_4-DE环
- [1348] NNIYVH
- [1349] SEQ ID NO:123
- [1350] 克隆311K4E_7、311K4E_8、311K4E_10、311K4E_12-DE环
- [1351] NQPYVH
- [1352] SEQ ID NO:124
- [1353] 克隆311K4E_14-DE环
- [1354] RQPYVH
- [1355] SEQ ID NO:125
- [1356] 克隆311K4E_15-DE环
- [1357] ELYVH
- [1358] SEQ ID NO:126
- [1359] 克隆311K4E_19-DE环
- [1360] NTPYVH
- [1361] SEQ ID NO:127
- [1362] 克隆311K4E_20-DE环
- [1363] EQVYVH
- [1364] SEQ ID NO:128
- [1365] 克隆311K4E_21-DE环
- [1366] NQVYVH
- [1367] SEQ ID NO:129
- [1368] 克隆311、311K4E、311K4E_1、311K4E_2、311K4E_3、311K4E_4、311K4E_5、311K4E_7、311K4E_8、311K4E_9、311K4E_10、311K4E_11、311K4E_13、311K4E_14、311K4E_15、311K4E_16、311K4E_19、311K4E_20、311K4E_21-FG 环
- [1369] LTTDGTYSNPA
- [1370] SEQ ID NO:130
- [1371] 克隆311K4E_12-FG环
- [1372] LTTDGTYNPA
- [1373] SEQ ID NO:131
- [1374] 2GS接头- (Gly4Ser) 2
- [1375] GGGSGGGGS
- [1376] SEQ ID NO:132
- [1377] 3GS接头- (Gly4Ser) 3
- [1378] GGGSGGGSGGGGS
- [1379] SEQ ID NO:133
- [1380] HSA C34S突变体
- [1381] Cys->Ser突变位置被加下划线
- [1382] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI~~AFAQYLQQ~~SPFEDHVKLVNEVTEFAK TCVADES~~AE~~
- [1383] NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEV

- [1384] DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA ADKAACLLP
- [1385] KLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAE VSKLVTD LTK
- [1386] VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAE VENDEMPA
- [1387] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLA KTYETTLEKC
- [1388] CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELF EQLGEYKFQ NALLVRY TKKVPQVST
- [1389] PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSD RVT KCCTES
- [1390] LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELV KHKPKAT
- [1391] KEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
- [1392] SEQ ID NO:134
- [1393] 342-2GS-HSAC34S-单价构建体
- [1394] HSAC34S被加下划线
- [1395] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSI GNLKPD
- [1396] TEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI
- [1397] AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYG
- [1398] EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARR
- [1399] HPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQK
- [1400] FGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTD LTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC
- [1401] ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV
- [1402] FLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
- [1403] NL IKQNC ELF EQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR
- [1404] MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAE
- [1405] TFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKE
- [1406] TCFAEEGKKLVAASQAALGL
- [1407] SEQ ID NO:135
- [1408] 342-3GS-342-2GS-HSAC34S二价构建体
- [1409] HSA被加下划线
- [1410] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSI GNLKPD
- [1411] TEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTTGGGGSGGGGSGGGGSRLDAPSQIEVKDVT DTTALI
- [1412] TWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSIGNLKPDTEYEVSLIC RSGDMS
- [1413] SNPAKETFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV
- [1414] KLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
- [1415] CFLQHKDDNP NL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
- [1416] YKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLS
- [1417] QRFPKAEFAEVSKLVTD LTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCE
- [1418] KPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPD
- [1419] YSVVL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELF EQLGE
- [1420] YKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL
- [1421] CVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
- [1422] RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQ

- [1423] AALGL
- [1424] SEQ ID NO:136
- [1425] 311克隆家族AB环N-端E变体
- [1426] EDVTDDT
- [1427] SEQ ID NO:137
- [1428] 311克隆家族EF环C-端K变体
- [1429] GNLKPDTK
- [1430] SEQ ID NO:138
- [1431] HSA人类全长
- [1432] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAK TCVADESAE
- [1433] NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEV
- [1434] DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA ADKAACLLP
- [1435] KLDELDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAE VSKLVTDLTK
- [1436] VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAE VENDEMPA
- [1437] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLA KTYETTLEKC
- [1438] CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRY TKKVPQVST
- [1439] PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSD RVTKCCTES
- [1440] LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELV KHKPKAT
- [1441] KEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL SEQ ID NO:139
- [1442] 309 FG环变体 (RR->RS突变体); 可以存在于342构建体中
- [1443] RSGDMSSNPA
- [1444] SEQ ID NO:140
- [1445] 2GX接头- (Gly4X) 2; X=Ala、Gly、Leu、Ile、Val
- [1446] GGGGXGGGGX
- [1447] SEQ ID NO:141
- [1448] 3GX接头- (Gly4X) 3; X=Ala、Gly、Leu、Ile、Val
- [1449] GGGGXGGGGXGGGGX
- [1450] SEQ ID NO:142
- [1451] G10接头- (Gly4Gly) 2
- [1452] GGGGGGGGGG
- [1453] SEQ ID NO:143
- [1454] G15接头- (Gly4Gly) 3
- [1455] GGGGGGGGGGGGGG
- [1456] SEQ ID NO:144
- [1457] 342-G10-HSAC34S-单价构建体2-全是Gly的接头
- [1458] HSA被加下划线
- [1459] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSI GNLKPD
- [1460] TEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTTGGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI
- [1461] AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYG

- [1462] EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARR
- [1463] HPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQK
- [1464] FGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC
- [1465] ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV
- [1466] FLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
- [1467] NLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKR
- [1468] MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAE
- [1469] TFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKE
- [1470] TCFAEEGKKLVAASQAALGL
- [1471] SEQ ID NO:145
- [1472] 342-G15-342-G10-HSAC34S二价构建体2-全是Gly的接头
- [1473] HSA被加下划线
- [1474] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSI GNLPD
- [1475] TEYEVSLICRSGDMSSNPAKETFTTGGGGGGGGGGGGGGRLDAPSQIEVKDV TDTTALI
- [1476] TWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSIGNLPDTEYEVSLIC RSGDMS
- [1477] SNPAKETFTTGGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHV
- [1478] KLNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
- [1479] CFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKR
- [1480] YKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
- [1481] QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCE
- [1482] KPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPD
- [1483] YSVVLRLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGE
- [1484] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQL
- [1485] CVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
- [1486] RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQ
- [1487] AALGL
- [1488] SEQ ID NO:146
- [1489] 克隆342-亲和力成熟的变体(w/FG环变体RR->RS被加下划线)
- [1490] IEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSIGNLPDTE
- [1491] YEVSLICRSGDMSSNPAKETFTT
- [1492] SEQ ID NO:147
- [1493] 示出了Gly-Ser接头模块, $(G_4S)_n$ 其中 $n=1-7$; $(G_4S)_n$ 模块, 其中 $n=1$
- [1494] GGGGS
- [1495] SEQ ID NO:148
- [1496] 示出了Gly接头模块, $(G_5)_n$ 其中 $n=1-7$; $(G_5)_n$ 模块, 其中 $n=1$
- [1497] GGGGG
- [1498] SEQ ID NO:149
- [1499] 示出了Gly-Ala接头模块, $(G_4A)_n$ 其中 $n=1-7$; $(G_4A)_n$ 模块, 其中 $n=1$
- [1500] GGGGA

- [1501] SEQ ID NO:150
- [1502] 多组氨酸标签(H₈)-一种用对于纯化有用的Tn3支架的任选组分可以与额外的接头残基组合。
- [1503] HHHHHHHH
- [1504] SEQ ID NO:151
- [1505] 接头-多组氨酸标签-一种对于纯化有用的Tn3支架的任选组分
- [1506] GGGSHHHHHHHH
- [1507] SEQ ID NO:152
- [1508] 成熟的MSA野生型
- [1509] EAHKSEIAHRYNDLGEQHFGLVLIAFSQYLQKCSYDEHAKLVQEVTDFAK TCVADESAA
- [1510] NCDKSLHTLFGDKLCAIPNLRENYGELADCCTKQEPERNECFLQHKDDNPS LPPFERPEA
- [1511] EAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRHPYFYAPELLYYAEQYNEILTQCCAE ADKESCLTP
- [1512] KLDGVKEKALVSSVRQRMKCSSMQKFGERAFAKAWAVARLSQTFPNADFAE ITKLATDLTK
- [1513] VNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISSKLQTCCDKPLLKKAHCL SEVEHDTMPA
- [1514] DLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLRLAK KYEATLEKC
- [1515] CAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTNCDLYEKLGEYGFQNAILVRY TQKAPQVST
- [1516] PTLVEAARNLGRVGTKCCTLPEDQRLPCVEDYLSAILNRVCLLHEKTPVSEH VTKCCSGS
- [1517] LVERRPCFSALTVDETYVPKEFKAETFTFHS DICTLPEKEKQIKKQTALAELV KHKPKAT
- [1518] AEQLKTVMDFAQFLDTCCAADKDTCFSTEGPNLVTRCKDALA
- [1519] SEQ ID NO:153
- [1520] 成熟的MSA-C34S/C579S Cys突变体;突变的残基被加下划线
- [1521] EAHKSEIAHRYNDLGEQHFGLVLIAFSQYLQKSSYDEHAKLVQEVTDFAK TCVADESAA
- [1522] NCDKSLHTLFGDKLCAIPNLRENYGELADCCTKQEPERNECFLQHKDDNPS LPPFERPEA
- [1523] EAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRHPYFYAPELLYYAEQYNEILTQCCAE ADKESCLTP
- [1524] KLDGVKEKALVSSVRQRMKCSSMQKFGERAFAKAWAVARLSQTFPNADFAE ITKLATDLTK
- [1525] VNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISSKLQTCCDKPLLKKAHCL SEVEHDTMPA
- [1526] DLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLRLAK KYEATLEKC
- [1527] CAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTNCDLYEKLGEYGFQNAILVRY TQKAPQVST
- [1528] PTLVEAARNLGRVGTKCCTLPEDQRLPCVEDYLSAILNRVCLLHEKTPVSEH VTKCCSGS
- [1529] LVERRPCFSALTVDETYVPKEFKAETFTFHS DICTLPEKEKQIKKQTALAELV KHKPKAT
- [1530] AEQLKTVMDFAQFLDTCCAADKDTCFSTEGPNLVTRSKDALA
- [1531] SEQ ID NO:154
- [1532] 克隆M13;BC、DE、FG环被加下划线
- [1533] IEVKDVTDTTALITWHDAFGYDFGCELTYGIKDVPGDRTTIDLPDHFHNYSI GNLKPDT
- [1534] EYEVSLICANDHGFDSNPAKETFTT
- [1535] SEQ ID NO:155
- [1536] 克隆M13N49Q;N49Q突变被加下划线
- [1537] IEVKDVTDTTALITWHDAFGYDFGCELTYGIKDVPGDRTTIDLPDHFHQYSI GNLKPDT
- [1538] EYEVSLICANDHGFDSNPAKETFTT

- [1539] SEQ ID NO:156
- [1540] M13N49Q-1GS-M13N49Q二价构建体;N49Q突变被加下划线
- [1541] SQIEVKDVTDTTALITWHDAFGYDFGCELTGIGKDVPGDRTTIDLPDHFHQYSIG NLKPD
- [1542] TEYEVSLICANDHGFDSNPAKETFTTTGGGGSRLDAPSQIEVKDVTDTTALITW HDAFGY
- [1543] DFGCELTGIGKDVPGDRTTIDLPDHFHQYSIGNLKPDTEYEVSLICANDHGFDSN PAKET
- [1544] FTT
- [1545] SEQ ID NO:157
- [1546] M13N49Q-3GS-MSA-C34S/C579S单价构建体;突变被加下划线
- [1547] SQIEVKDVTDTTALITWHDAFGYDFGCELTGIGKDVPGDRTTIDLPDHFHQY SIGNLKPD
- [1548] TEYEVSLICANDHGFDSNPAKETFTTTGGGSGGGGSGGGGSEAHKSEIAHR YNDLGEQHF
- [1549] KGLVLI AFSQYLQKSSYDEHAKLVQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLF GDKLCAIPN
- [1550] LRENYGELADCCTKQEPERNECF LQHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENP TTFMGHYL
- [1551] HEVARRHPYFYAPELLYYAEQYNEILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKAL VSSVRQRMK
- [1552] CSSMQKFGERAFAKAWAVARLSQTFPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDL LECADDRAE
- [1553] LAKYMCENQATISSKLQTCCKPLLKKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFV EDQEVCKNY
- [1554] AEAKDVFLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLRLAKKYEATLEKCCAEANPPACY GTVLAEFQP
- [1555] LVEEPKNLVKTNCDLYEKLGEYGFQNAILVRYTQKAPQVSTPTLVEAARNL GRVGTKCCT
- [1556] LPEDQRLPCVEDYLSAILNRVCLLHEKTPVSEHVTKCCSGSLVERRPCFSALT VDETYVP
- [1557] KEFKAETFTFHSIDICTLPEKEKQIKKQTALAELVKHKPKATAEQLKTVMDDF AQFLDTCC
- [1558] KAADKDTCFSTEGPNLVTRSKDALA
- [1559] SEQ ID NO:158
- [1560] M13N49Q-1GS-M13N49Q-3GS-MSA-C34S/C579S二价构建体;突变被加下划线
- [1561] SQIEVKDVTDTTALITWHDAFGYDFGCELTGIGKDVPGDRTTIDLPDHFHQY SIGNLKPD
- [1562] TEYEVSLICANDHGFDSNPAKETFTTTGGGGSRLDAPSQIEVKDVTDTTALIT WHDAFGY
- [1563] DFGCELTGIGKDVPGDRTTIDLPDHFHQYSIGNLKPDTEYEVSLICANDHGFDSN PAKET
- [1564] FTTGGGSGGGGSGGGGSEAHKSEIAHRYNDLGEQHF KGLVLI AFSQYLQK SSYDEHAKL
- [1565] VQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLFGDKLCAIPNLRENYGELADCCTK QEPERNECF
- [1566] LQHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRHPYFYAPE LLYYAEQYN
- [1567] EILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKALVSSVRQRMKCSSMQKFGERAFAKAWAVARLSQT
- [1568] FPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISS KLQTCCKP
- [1569] LLKKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYE YSRRHPDYS
- [1570] VSLLLRLAKKYEATLEKCCAEANPPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTNCD LYEKLGEYG
- [1571] FQNAILVRYTQKAPQVSTPTLVEAARNLGRVGTKCCTLPEDQRLPCVEDYL SAILNRVCL
- [1572] LHEKTPVSEHVTKCCSGSLVERRPCFSALT VDETYVPKEFKAETFTFHSIDICT LPEKEKQ
- [1573] IKKQTALAELVKHKPKATAEQLKTVMDDFAQFLDTCCAADKDTCFSTEGP NLVTRSKDA
- [1574] LA
- [1575] SEQ ID NO:159
- [1576] 克隆M31;BC、DE、FG环被加下划线
- [1577] IEVKDVTDTTALITWHDPSGYDFWCELTGIGKDVPGDRTTIDLPDHFHNYSI GNLKPDTE

- [1578] YEVS**LICANDHGFDSYPAKET**FTT
- [1579] SEQ ID NO:160
- [1580] 克隆M31N49Q;N49Q突变被加下划线
- [1581] IEVKDVTDTTALITWHDPSGYDFWCELT**YGIKDVPGDRTTIDLPDHFHQYSI** GNLKPDTE
- [1582] YEVS**LICANDHGFDSYPAKET**FTT
- [1583] SEQ ID NO:161
- [1584] M31N49Q-1GS-M31N49Q二价构建体;N49Q突变被加下划线
- [1585] SQIEVKDVTDTTALITWHDPSGYDFWCELT**YGIKDVPGDRTTIDLPDHFHQY** SIGNLKPD
- [1586] TEYEVSLICANDHGFDSYPAKETFTTTGGGSGRLDAP**SQIEVKDVTDTTALIT** WHDPSGY
- [1587] DFWCELT**YGIKDVPGDRTTIDLPDHFHQY**SIGNLKPDTEYEVSLICANDHGF DSYP**AKET**
- [1588] FTT
- [1589] SEQ ID NO:162
- [1590] M31N49Q-3GS-MSA-C34S/C579S单价构建体;突变被加下划线
- [1591] SQIEVKDVTDTTALITWHDPSGYDFWCELT**YGIKDVPGDRTTIDLPDHFHQY** SIGNLKPD
- [1592] TEYEVSLICANDHGFDSYPAKETFTTTGGGSGGGGSGGGGSEAHKSEIAHR YNDLGEQHF
- [1593] KGLVLIAFSQYLQKSSYDEHAKLVQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLF G**DKLCAIPN**
- [1594] LRENYGELADCCTKQEPERNECF**LQHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENP** TTFMGHYL
- [1595] HEVARRHPYFYAPELLYYAEQYNEILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKAL VSSVRQRMK
- [1596] CSSMQKFGERAFAKAWAVARLSQTFPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDL LECADDRAE
- [1597] LAKYMCENQATISSKLQTCCKPLLKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFV EDQEVCKNY
- [1598] AEAKDVFLGTFLYEYSRRHPDYSVSLLLRLAKKYEATLEKCCAEANPPACY GTVLA**EFQP**
- [1599] LVEEPKNLVKTNC**DLYEKLGEYGFQ**NAILVRYTQKAPQVSTPTLV**EAARNL** GRVGT**KCCT**
- [1600] LPEDQRLPCVEDYLSAILNRVCLLHEKTPVSEHVT**KCCSGSLVERRPCFSALT** VDETYVP
- [1601] KEFKAETFTFHS**DICTLPEKEKQIKKQ**TALAELVKHKPKATAEQLKTV**MDDF** AQFLDTCC
- [1602] KAADKDTCFSTEGPNLVTRSKDALA
- [1603] SEQ ID NO:163
- [1604] M31N49Q-1GS-M31N49Q-3GS-MSA-C34S/C579S二价构建体;突变被加下划线
- [1605] SQIEVKDVTDTTALITWHDPSGYDFWCELT**YGIKDVPGDRTTIDLPDHFHQY** SIGNLKPD
- [1606] TEYEVSLICANDHGFDSYPAKETFTTTGGGSGRLDAP**SQIEVKDVTDTTALIT** WHDPSGY
- [1607] DFWCELT**YGIKDVPGDRTTIDLPDHFHQY**SIGNLKPDTEYEVSLICANDHGF DSYP**AKET**
- [1608] FTTGGGSGGGGSGGGGSEAHKSEIAHRYNDLGEQHF**KGLVLIAFSQYLQK** SSYDEHAKL
- [1609] VQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLF**GDKLCAIPNL**RENYGELADCCTK QEPERNECF
- [1610] LQHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRHPYFYAPE LLYAEQYN
- [1611] EILTQCCAEADKESCLTPKLDGVKEKALVSSVRQRMKCSSMQKFGERAFAKAWAVARLSQT
- [1612] FPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATISS KLQTCCKP
- [1613] LLKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFLYEYSRRHPDYS
- [1614] VSLLLRLAKKYEATLEKCCAEANPPACYGTVLA**EFQPL**VVEEPKNLVKTNC**DLYEKLGEYG**
- [1615] FQ**NAILVRYTQKAPQVSTPTLV**EAARNLGRVGT**KCCTLP**EDQRLPCVEDYLSAILNRVCL
- [1616] LHEKTPVSEHVT**KCCSGSLVERRPCFSALT**VDETYVPKEFKAETFTFHS**DICTLPEKEKQ**

- [1617] IKKQTALAELVKHKPKATAEQLKTVMDFAQFLDTCCAADKDTCFSTEGP NLVTRSKDA
- [1618] LA
- [1619] SEQ ID NO:164
- [1620] 克隆D1-阴性对照Tn3
- [1621] IEVKDVTDTTALITWSPGERIWMFTGCELTYGIKDVPDRTTIDLTEDENQY SIGNLKPD
- [1622] TEYEVSLICPNYERISNPAKETFTTT
- [1623] SEQ ID NO:165
- [1624] D1-1GS-D1-3G-MSA-C34S/C579S二价构建体;突变被加下划线
- [1625] SQIEVKDVTDTTALITWSPGERIWMFTGCELTYGIKDVPDRTTIDLTEDEN QYSIGNLK
- [1626] PDTEYEVSLICPNYERISNPAKETFTTTGGGGSRLDAPSQIEVKDVTDTTALIT WSPGER
- [1627] IWMFTGCELTYGIKDVPDRTTIDLTEDENQYSIGNLKPDTEYEVSLICPNYERISNPAK
- [1628] ETFTTGGGSGGGSGGGGSEAHKSEIAHRYNDLGEQHFGLVLI^{AF}SQYL QKSSYDEHA
- [1629] KLVQEVTDFAKTCVADESAANCDKSLHTLFGDKLCAIPNLRENYGELADCC TKQEPERNE
- [1630] CFLQHKDDNPSLPPFERPEAEAMCTSFKENPTTFMGHYLHEVARRHPYFYA PELLYYAEQ
- [1631] YNEILTQCCA^{EAD}KESCLTPKLDGVKEKALVSSVRQRMKSSMQKFGERAF KAWAVARLS
- [1632] QTFPNADFAEITKLATDLTKVNKECCHGDLLECADDRAELAKYMCENQATI SSKLQTCCD
- [1633] KPLLKKAHCLSEVEHDTMPADLPAIAADFVEDQEVCKNYAEAKDVFLGTFL YEYSRRHPD
- [1634] YSVSLLLRLAKKYEATLEKCCA^{EAN}PPACYGTVLAEFQPLVEEPKNLVKTN CDLYEKLGE
- [1635] YGFQNAILVRYTQKAPQVSTPTLV^{EARN}LGRVGTCCCTLPEDQRLPCVED YLSAILNRV
- [1636] CLLHEKTPVSEHVTKCCSGSLVERRPCFSALTVDETYVPKEFKAETFTFHSDI CTLPEKE
- [1637] KQIKKQTALAELVKHKPKATAEQLKTVMDFAQFLDTCCAADKDTCFST EGPNLVTRSK
- [1638] DALA
- [1639] SEQ ID NO:166
- [1640] 克隆342RDG至SDG突变体;突变被加下划线
- [1641] IEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTYGIKDVPDRTTIDLWYHHAHYS IGNLKPDTE
- [1642] YEVSILICRSGDMSSNPAKETFTT
- [1643] SEQ ID NO:167
- [1644] 309 FGwt共有区
- [1645] 所有的链是亲本Tn3链; β 链C是CELTYGI变体 (SEQ ID NO:14);AB、CD、EF环是亲本Tn3环
- [1646] X1=Ser或Leu
- [1647] X2=Asp或Glu
- [1648] X3=His、Ile、Val、Phe或Trp
- [1649] X4=Ala、Gly、Glu或Asp
- [1650] X5=Glu、Leu、Gln、Ser、Asp或Asn
- [1651] X6=Phe或Tyr
- [1652] X7=Ile、Val、His、Glu或Asp
- [1653] X8=Gly、Trp或Val
- [1654] X9=Trp、Phe或Tyr

- [1655] X10=Ser、Gln、Met或His
[1656] X11=Trp或His
[1657] X12=Arg或Ser
[1658] IEVKDVTDTTALITWX1DX2X3X4X5X6X7X8CELTYGIKDVPGDRTTIDLWX 9HX10AX11YSIGN
LKPDTEYEVSLICRX12GDMSSNPAKETFTT
[1659] SEQ ID NO:168
[1660] 309 FGwt共有区,BC环
[1661] X1=Ser或Leu
[1662] X2=Asp或Glu
[1663] X3=His、Ile、Val、Phe或Trp
[1664] X4=Ala、Gly、Glu或Asp
[1665] X5=Glu、Leu、Gln、Ser、Asp或Asn
[1666] X6=Phe或Tyr
[1667] X7=Ile、Val、His、Glu或Asp
[1668] X8=Gly、Trp或Val
[1669] X1DX2X3X4X5X6X7X8
[1670] SEQ ID NO:169
[1671] 309 FGwt共有区,DE环
[1672] X9=Trp、Phe或Tyr
[1673] X10=Ser、Gln、Met或His
[1674] X11=Trp或His
[1675] WX9HX10AX11
[1676] SEQ ID NO:170
[1677] 309 FGwt共有区,FG环
[1678] X12=Arg或Ser
[1679] RX12GDMSSNPA
[1680] SEQ ID NO:171
[1681] 311共有区;所有的链是亲本Tn3链;两个β链C变体(SEQ ID NO:13和14);CD环是亲本Tn3环
[1682] X1=Lys或Glu
[1683] X2=Thr或Ile
[1684] X3=Asn或Ala
[1685] X4=Ser、Leu、Ala、Phe或Tyr
[1686] X5=Tyr、Ala、Gly、Val、Ile或Ser(BC/N-端接触)
[1687] X6=Tyr、Ser、Ala或His
[1688] X7=Asn、Asp、His或Tyr
[1689] X8=Leu、Phe、His或Tyr
[1690] X9=His、Pro、Ser、Leu或Asp
[1691] X10=Gly、Phe、His或Tyr

- [1692] X11=Ala或Thr
[1693] X12=Ser、Asn、Glu、Arg或Asp
[1694] X13=Ser、Gln、Thr、Asn或Ala
[1695] X14=Pro、Val、-、Ile或Ala (-没有氨基酸)
[1696] X15=-或Ile (-没有氨基酸)
[1697] X16=Glu或Lys
[1698] X17=Ser或Asn
[1699] IEVX1DVTDTTALITWX2X3RSX4X5X6X7X8X9X10CELX11YGIKDVPGDRT TIDLX12X13X14
X15YVHYSIGNLKPDXTX16YEVSLICLTDDGTXYX17NPAKETFT T
[1700] SEQ ID NO:172
[1701] 311共有区;311家族克隆中的β链C
[1702] X11=Ala或Thr
[1703] CELX11YGI
[1704] SEQ ID NO:173
[1705] 311共有区;AB环
[1706] X1=Lys或Glu
[1707] X1DVTDTT
[1708] SEQ ID NO:174
[1709] 311共有区;BC环
[1710] X2=Thr或Ile
[1711] X3=Asn或Ala
[1712] X4=Ser、Leu、Ala、Phe或Tyr X5=Tyr、Ala、Gly、Val、Ile或Ser (BC/N- 端接触)
[1713] X6=Tyr、Ser、Ala或His
[1714] X7=Asn、Asp、His或Tyr
[1715] X8=Leu、Phe、His或Tyr
[1716] X9=His、Pro、Ser、Leu或Asp
[1717] X10=Gly、Phe、His或Tyr
[1718] X2X3RSX4X5X6X7X8X9X10
[1719] SEQ ID NO:175
[1720] 311共有区;DE环
[1721] X12=Ser、Asn、Glu、Arg或Asp X13=Ser、Gln、Thr、Asn或Ala
[1722] X14=Pro、Val、-、Ile或Ala (-没有氨基酸)
[1723] X15=-或Ile (-没有氨基酸)
[1724] X12X13X14X15YVH
[1725] SEQ ID NO:176
[1726] 311共有区;EF环
[1727] X16=Glu或Lys
[1728] GNLKPDXTX16
[1729] SEQ ID NO:177

- [1730] 311共有区;FG环
- [1731] X17=Ser或Asn
- [1732] LTTDGTXYX17NPA
- [1733] SEQ ID NO:178
- [1734] BC9NHT寡核苷酸;环BC
- [1735] 核苷酸密码:N=G/A/T/C;H=A/T/C;R=A/G;S=G/C;B=T/C/G;V=A/C/G; M=A/C;K=G/T
- [1736] ACCGCGCTGATTACCTGGNHTNHTSCGNHTGSTNHTNHTNHTGGCTGTGAAC TGACCTAT
- [1737] GGCATTAAA
- [1738] SEQ ID NO:179
- [1739] BC11NHT寡核苷酸;环BC
- [1740] 核苷酸密码:N=G/A/T/C;H=A/T/C;R=A/G;S=G/C;B=T/C/G;V=A/C/G; M=A/C;K=G/T
- [1741] ACCGCGCTGATTACCTGGNHTNHTBSTNHTNHTNHTNHTNHTNHTNHTGGCT GTGAACTG
- [1742] ACCTATGGCATTAAA
- [1743] SEQ ID NO:180
- [1744] BC12NHT寡核苷酸;环BC
- [1745] 核苷酸密码:N=G/A/T/C;H=A/T/C;R=A/G;S=G/C;B=T/C/G;V=A/C/G; M=A/C;K=G/T
- [1746] ACCGCGCTGATTACCTGGNHTVMACCGNHTNHTNHTRRRCRCNHTVTTNHT GGCTGTGAA
- [1747] CTGACCTATGGCATTAAA
- [1748] SEQ ID NO:181
- [1749] DE NHT寡核苷酸;DE环
- [1750] 核苷酸密码:N=G/A/T/C;H=A/T/C;R=A/G;S=G/C;B=T/C/G;V=A/C/G; M=A/C;K=G/T
- [1751] CGATCGCACCACCATAGATCTGNHTNHTNHTNHTNHTTATAGCATTGGT AACCTGAA
- [1752] ACCG
- [1753] SEQ ID NO:182
- [1754] FG9NHT寡核苷酸;FG环
- [1755] 核苷酸密码:N=G/A/T/C;H=A/T/C;R=A/G;S=G/C;B=T/C/G;V=A/C/G; M=A/C;K=G/T
- [1756] GAATATGAAGTGAGCCTGATTTGCNHTAMSNHTNHTGGTNHTNHTNHTKCG AAAGAAACC
- [1757] TTTACCACCGGTG
- [1758] SEQ ID NO:183
- [1759] FG10NHT寡核苷酸;FG环
- [1760] 核苷酸密码:N=G/A/T/C;H=A/T/C;R=A/G;S=G/C;B=T/C/G;V=A/C/G; M=A/C;K=G/T
- [1761] GAATATGAAGTGAGCCTGATTTGCNHTAMSNHTNHTNHTNHTRGCNHTCCG GCGAAAGAA
- [1762] ACCTTTACCACCGGTG

- [1763] SEQ ID NO:184
- [1764] FG11NHT寡核苷酸;FG环
- [1765] 核苷酸密码:N=G/A/T/C;H=A/T/C;R=A/G;S=G/C;B=T/C/G;V=A/C/G; M=A/C;K=G/T
- [1766] GAATATGAAGTGAGCCTGATTTGCNHTAMSNHTNHTGGTNHTNHTAGCAAC CCGGCGAAA
- [1767] GAAACCTTTACCACCGGTG
- [1768] SEQ ID NO:185
- [1769] BCX-DE桥v2寡核苷酸
- [1770] CAGATCTATGGTGGTGCGATCGCCCGGCACATCTTTAATGCCATAGGTCAGT TCACA
- [1771] SEQ ID NO:186
- [1772] DE-FGX桥v2寡核苷酸
- [1773] GCAAATCAGGCTCACTTCATATTCGGTATCCGGTTTCAGGTTACCAATGCTA T
- [1774] SEQ ID NO:187
- [1775] KpnI amp rev v2寡核苷酸
- [1776] CGGGTCGGTTGGGGTACCGCCACCGGTGGTAAAGGTTTCTTT
- [1777] SEQ ID NO:188
- [1778] KpnI反向的v2寡核苷酸
- [1779] CGGGTCGGTTGGGGTA
- [1780] SEQ ID NO:189
- [1781] BC文库amp v2寡核苷酸
- [1782] GGCCCAGCCGGCCATGGCCGCCATTGAAGTGAAAGATGTGACCGATACCAC CGCGCTGAT
- [1783] TACCTGG
- [1784] SEQ ID NO:190
- [1785] BC9PCR寡核苷酸
- [1786] 核苷酸密码:1=所有19aa(-cys)的密码子2=Ala/Pro 50/50的密码子;3= Ala/Gly的密码子
- [1787] ACCGCGCTGATTACCTGGTCT1213111GGCTGTGAACTGACCTATGGCATT AAAGATG
- [1788] SEQ ID NO:191
- [1789] BC 9-环NNK寡核苷酸
- [1790] 核苷酸密码:K=50%G/50%T
- [1791] ACCGCGCTGATTACCTGGNNKNNKSMGNNKGSTNNKNNKNNKGGCTGT GAACTGACCTA
- [1792] TGGCATTAAA
- [1793] SEQ ID NO:192
- [1794] 309 BC-环NNKdope寡核苷酸
- [1795] 核苷酸密码:4=70%G 10%A 10%C 10%T;5=10%G,70%A,10%C,10%T; 6=10%G,10%A,70%C,10%T;7=10%G,10%A,10%C,70%T;8=70% A 15%C 15%T;并且K=50%G/50%T
- [1796] ACCGCGCTGATTACCTGG76K45K45K77K44K65K78T45K44KTGTGAACTG ACCTA
- [1797] TGGCATTAAA

- [1798] SEQ ID NO:193
- [1799] DE PCR寡核苷酸
- [1800] 核苷酸密码:1=所有19aa(-cys)的密码子
- [1801] GATGTGCCGGGCGATCGCACCACCATAGATCTG111111TATAGCATTGGT AACCTGAAA
- [1802] CCGG
- [1803] SEQ ID NO:194
- [1804] 上游BC环Rev寡核苷酸
- [1805] CCAGGTAATCAGCGCGGTGGTAT
- [1806] SEQ ID NO:195
- [1807] BC改组rev寡核苷酸
- [1808] CAGATCTATGGTGGTGCGATCGC
- [1809] SEQ ID NO:196
- [1810] DE改组FWD寡核苷酸
- [1811] TGTGAACTGACCTATGGCATTAAAGATGT
- [1812] SEQ ID NO:197
- [1813] BC11-311Gly寡核苷酸
- [1814] 核苷酸密码:1=70%G,10%A,10%C,10%T;2=10%G,70%A,10%C,10%T;3=10%G,10%A,70%C,10%T;4=10%G,10%A,10%C,70%T;5=70%A,15%C,15%T;6=15%A,70%C,15%T;7=15%A,15%C,70%T;V=33%A,33%C,33%G。
- [1815] ACCGCGCTGATTACCTGG26T25TV1T46T46T45T45T25T37T35TGGCTGTG AACTG
- [1816] ACCTATGGCATTAAA
- [1817] SEQ ID NO:198
- [1818] BC11-311NHT寡核苷酸
- [1819] 核苷酸密码:1=70%G,10%A,10%C,10%T;2=10%G,70%A,10%C,10%T;3=10%G,10%A,70%C,10%T;4=10%G,10%A,10%C,70%T;5=70%A,15%C,15%T;6=15%A,70%C,15%T;7=15%A,15%C,70%T;V=33%A,33%C,33%G;并且H=33%A,33%C,33%T
- [1820] ACCGCGCTGATTACCTGG26T25TV1T46T46T45T45T25T37T35TNHTTGTGA ACTG
- [1821] ACCTATGGCATTAAA
- [1822] SEQ ID NO:199
- [1823] BC文库amp K4E寡核苷酸
- [1824] GGCCCAGCCGCCATGGCCGCCATTGAAGTGGAAGATGTGACCGATACC ACCGCGCTGAT
- [1825] TACCTGG
- [1826] SEQ ID NO:200
- [1827] 延长的半衰期HSA变体(C34S,L463N,K524L);突变被加下划线
- [1828] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI^{IAFAQYLQ}QSPFEDHVKL^{VNEVTEFAKTC} VADESAE
- [1829] NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA^{KQE}PERNECFLQHKDDNP^{NLP} RLVRPEV
- [1830] DVMCTAFHDNEETFLKKYLYE^{IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAA}FT^{EC}QAAD KAACLLP
- [1831] KLDEL^{RDEG}KASSAKQRLK^{CASLQK}GERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSK L^{VTDLTK}

- [1832] VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVE NDEMPA
- [1833] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVVLRLAKT YETTLEKC
- [1834] CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTK KVPQVST
- [1835] PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVNHEKTPVSDRV TKCTES
- [1836] LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQILKQTALVELVKH KPKAT
- [1837] KEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
- [1838] SEQ ID NO:201
- [1839] 311K4E₁₂-I变体单价构建体(包括GS接头和C34S HSA);接头和突变的丝氨酸被加下划线
- [1840] SQIEVEDVDTTALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPGDRTTIDLNPYVHYS IGNLK
- [1841] PDTEYEVSLICLTDTGTNNPAKETFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGE ENFKAL
- [1842] VLI AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCT VATLRE
- [1843] TYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKKDDNPNLPRLVRPEVDMCTAFHDNEETFL KKYLYEI
- [1844] ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAK QRLKAS
- [1845] LQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECAD DRADLAK
- [1846] YICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEA
- [1847] KDVFLGMFLYFYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVF DEFKPLVE
- [1848] EPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKHPE
- [1849] AKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDE TYVPKEF
- [1850] NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKAD
- [1851] DKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
- [1852] SEQ ID NO:202
- [1853] 311K4E₁₂-I变体单价构建体(包括β链C CELTYG变体,所有的G街头,以及 C34S HSA);接头和突变的丝氨酸被加下划线
- [1854] SQIEVEDVDTTALITWTNRSSYSNLHGCELTYGIDVPGDRTTIDLNPYVHYS IGNLK
- [1855] PDTEYEVSLICLTDTGTNNPAKETFTTGGGGGGGGGSDAHKSEVAHRFKDLG EENFKAL
- [1856] VLI AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCT VATLRE
- [1857] TYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKKDDNPNLPRLVRPEVDMCTAFHDNEETFL KKYLYEI
- [1858] ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAK QRLKAS
- [1859] LQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECAD DRADLAK
- [1860] YICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEA
- [1861] KDVFLGMFLYFYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVF DEFKPLVE
- [1862] EPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CKHPE
- [1863] AKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDE TYVPKEF
- [1864] NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFV EKCKAD
- [1865] DKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
- [1866] SEQ ID NO:203
- [1867] 311K4E₁₂-I变体二价构建体(包括GS接头和C34S HSA);接头和突变的丝氨酸被加下划线

- [1868] SQIEVEDVDTTALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPGDRTTIDLNQPYVHYS IGNLK
[1869] PDTEYEVSLICLTDDGTYNNAKETFTTGGGGSGGGSGGGGSRLDAPSQIEVE DVTDDT
[1870] ALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPGDRTTIDLNQPYVHYSIGNLKPDTEYE VSLICL
[1871] TTDGTYNNAKETFTTGGGGSGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAF AQYLQQS
[1872] PFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEM ADCCAKQ
[1873] EPERNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPY FYAPEL
[1874] LFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFG ERAFKAW
[1875] AVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICEN QDSISSK
[1876] LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLY EY
[1877] ARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLI KQNCCEL
[1878] FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMP CAEDYLS
[1879] VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFT FHADIC
[1880] TLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKET CFAEEGKK
[1881] LVAASQAALGL
[1882] SEQ ID NO:204
[1883] 311K4E_12-I变体二价构建体(包括所有G接头和S34HSA);接头和突变的丝氨酸被
加下划线
[1884] SQIEVEDVDTTALITWTNRSSYSNLHGCELTGDIKDVPGDRTTIDLNQPYVHYS IGNLK
[1885] PDTEYEVSLICLTDDGTYNNAKETFTTGGGGGGGGGGGGGGGGGGRLDAPSQIE VEDVDTT
[1886] ALITWTNRSSYSNLHGCELAYGIKDVPGDRTTIDLNQPYVHYSIGNLKPDTEYE VSLICL
[1887] TTDGTYNNAKETFTTGGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIA FAQYLQQS
[1888] PFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEM ADCCAKQ
[1889] EPERNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPY FYAPEL
[1890] LFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKFG ERAFKAW
[1891] AVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICEN QDSISSK
[1892] LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL GMFLY EY
[1893] ARRHPDYSVLLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLI KQNCCEL
[1894] FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMP CAEDYLS
[1895] VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFT FHADIC
[1896] TLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKET CFAEEGKK
[1897] LVAASQAALGL
[1898] SEQ ID NO:205
[1899] 309-3GS-309二价构建体
[1900] SQIEVKDVTDTTALITWSDEFGHYDGCELTGDIKDVPGDRTTIDLWWHSAW YSIGNLKPD
[1901] TEYEVSLICYTDQEAGNPAKETFTTGGGGSGGGSGGGGSRLDAPSQIEVKD VDTTALI
[1902] TWSDEFGHYDGCELTGDIKDVPGDRTTIDLWWHSAWYSIGNLKPDTEYEVSLICYTDQEAG
[1903] NPAKETFTT
[1904] SEQ ID NO:206
[1905] 309-2GS-HSAC34S单价构建体

[1906] SQIEVKDVTDTTALITWSDEFGHYDGCELTGIGKDVPGDRTTIDLWWHSAW YSIGNLKPD
[1907] TEYEVSLICYTDQEAGNPAKETFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGE ENFKALVLI
[1908] AFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCT VATLRETYG
[1909] EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFL KKYLYEIAARR
[1910] HPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQ RLKCASLQK
[1911] FGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYIC
[1912] ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDV
[1913] FLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQ
[1914] NLIKQNCLEFELGGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSK CCKHPEAKR
[1915] MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDET YVPKEFNAE
[1916] TFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE KCKKADDKE
[1917] TCFAEEGKKLVAASQAALGL

[1918] SEQ ID NO:207

[1919] 309-3GS-309-2GS-HSAC34S二价构建体

[1920] SQIEVKDVTDTTALITWSDEFGHYDGCELTGIGKDVPGDRTTIDLWWHSAW YSIGNLKPD
[1921] TEYEVSLICYTDQEAGNPAKETFTTGGGGSGGGGSGGGGSRLDAPSQIEVKD VDTTALI
[1922] TWSDEFGHYDGCELTGIGKDVPGDRTTIDLWWHSAWYSIGNLKPDTEYEVSLICYTDQEA
[1923] GNPaketFTTGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYL QQSPFEDHV
[1924] KLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNE
[1925] CFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYA PELLFFAKR
[1926] YKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA FKAWAVARLS
[1927] QRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSIS SKLKECCE
[1928] KPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFL YEYARRHPD
[1929] YSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFELGGE
[1930] YKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQL
[1931] CVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHAD ICTLSEKE
[1932] RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGKKLVAASQ
[1933] AALGL

[1934] SEQ ID NO:208

[1935] 342-3GS-342二价构建体

[1936] SQIEVKDVTDTTALITWSDDFGEYVWCELTGIGKDVPGDRTTIDLWYHHAH YSIGNLKPD
[1937] TEYEVSLICRSGDMSSNPaketFTTGGGGSGGGGSGGGGSRLDAPSQIEVKD VDTTALI
[1938] TWSDDFGEYVWCELTGIGKDVPGDRTTIDLWYHHAHYSIGNLKPDTEYEVSLICRSGDMS
[1939] SNPAKETFTT

[1940] SEQ ID NO:209

[1941] 示出了Gly-Ser接头模块, $(G_4X)_n$ 其中X=G、S、A、L、I、或V并且n=1-7; $(G_4X)_n$ 模块, 其中n=1

[1942] GGGGX

[1943] SEQ ID NO:210

- [1944] OppA信号肽突变体L25/M
- [1945] MTNITKRSLVAAGVLAALMAGNVAMA 。

[0001]	序列表															
[0002]	<110> 米迪缪尼有限公司															
[0003]	<120> CD40L-特异性TN3-衍生的支架及其使用方法															
[0004]	<130> CD40L-101W01															
[0005]	<160> 210															
[0006]	<170> PatentIn版本3.5															
[0007]	<210> 1															
[0008]	<211> 261															
[0009]	<212> PRT															
[0010]	<213> 智人															
[0011]	<400> 1															
[0012]	Met	Ile	Glu	Thr	Tyr	Asn	Gln	Thr	Ser	Pro	Arg	Ser	Ala	Ala	Thr	Gly
[0013]	1				5					10					15	
[0014]	Leu	Pro	Ile	Ser	Met	Lys	Ile	Phe	Met	Tyr	Leu	Leu	Thr	Val	Phe	Leu
[0015]					20					25					30	
[0016]	Ile	Thr	Gln	Met	Ile	Gly	Ser	Ala	Leu	Phe	Ala	Val	Tyr	Leu	His	Arg
[0017]					35					40					45	
[0018]	Arg	Leu	Asp	Lys	Ile	Glu	Asp	Glu	Arg	Asn	Leu	His	Glu	Asp	Phe	Val
[0019]					50					55					60	
[0020]	Phe	Met	Lys	Thr	Ile	Gln	Arg	Cys	Asn	Thr	Gly	Glu	Arg	Ser	Leu	Ser
[0021]	65					70					75				80	
[0022]	Leu	Leu	Asn	Cys	Glu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gln	Phe	Glu	Gly	Phe	Val	Lys
[0023]						85					90				95	
[0024]	Asp	Ile	Met	Leu	Asn	Lys	Glu	Glu	Thr	Lys	Lys	Glu	Asn	Ser	Phe	Glu
[0025]					100					105					110	
[0026]	Met	Gln	Lys	Gly	Asp	Gln	Asn	Pro	Gln	Ile	Ala	Ala	His	Val	Ile	Ser
[0027]					115					120					125	
[0028]	Glu	Ala	Ser	Ser	Lys	Thr	Thr	Ser	Val	Leu	Gln	Trp	Ala	Glu	Lys	Gly
[0029]					130					135					140	
[0030]	Tyr	Tyr	Thr	Met	Ser	Asn	Asn	Leu	Val	Thr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Gln
[0031]	145					150					155				160	
[0032]	Leu	Thr	Val	Lys	Arg	Gln	Gly	Leu	Tyr	Tyr	Ile	Tyr	Ala	Gln	Val	Thr
[0033]					165						170				175	
[0034]	Phe	Cys	Ser	Asn	Arg	Glu	Ala	Ser	Ser	Gln	Ala	Pro	Phe	Ile	Ala	Ser
[0035]					180						185				190	
[0036]	Leu	Cys	Leu	Lys	Ser	Pro	Gly	Arg	Phe	Glu	Arg	Ile	Leu	Leu	Arg	Ala
[0037]					195						200				205	
[0038]	Ala	Asn	Thr	His	Ser	Ser	Ala	Lys	Pro	Cys	Gly	Gln	Gln	Ser	Ile	His

[0039]	210	215	220
[0040]	Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Pro Gly Ala Ser Val Phe Val Asn		
[0041]	225	230	235 240
[0042]	Val Thr Asp Pro Ser Gln Val Ser His Gly Thr Gly Phe Thr Ser Phe		
[0043]	245	250	255
[0044]	Gly Leu Leu Lys Leu		
[0045]	260		
[0046]	<210> 2		
[0047]	<211> 149		
[0048]	<212> PRT		
[0049]	<213> 智人		
[0050]	<400> 2		
[0051]	Met Gln Lys Gly Asp Gln Asn Pro Gln Ile Ala Ala His Val Ile Ser		
[0052]	1 5 10 15		
[0053]	Glu Ala Ser Ser Lys Thr Thr Ser Val Leu Gln Trp Ala Glu Lys Gly		
[0054]	20 25 30		
[0055]	Tyr Tyr Thr Met Ser Asn Asn Leu Val Thr Leu Glu Asn Gly Lys Gln		
[0056]	35 40 45		
[0057]	Leu Thr Val Lys Arg Gln Gly Leu Tyr Tyr Ile Tyr Ala Gln Val Thr		
[0058]	50 55 60		
[0059]	Phe Cys Ser Asn Arg Glu Ala Ser Ser Gln Ala Pro Phe Ile Ala Ser		
[0060]	65 70 75 80		
[0061]	Leu Cys Leu Lys Ser Pro Gly Arg Phe Glu Arg Ile Leu Leu Arg Ala		
[0062]	85 90 95		
[0063]	Ala Asn Thr His Ser Ser Ala Lys Pro Cys Gly Gln Gln Ser Ile His		
[0064]	100 105 110		
[0065]	Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Pro Gly Ala Ser Val Phe Val Asn		
[0066]	115 120 125		
[0067]	Val Thr Asp Pro Ser Gln Val Ser His Gly Thr Gly Phe Thr Ser Phe		
[0068]	130 135 140		
[0069]	Gly Leu Leu Lys Leu		
[0070]	145		
[0071]	<210> 3		
[0072]	<211> 83		
[0073]	<212> PRT		
[0074]	<213> 人工序列		
[0075]	<220>		
[0076]	<223> 合成构建体		
[0077]	<400> 3		

[0078]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Phe
[0079]	1 5 10 15
[0080]	Lys Pro Leu Ala Glu Ile Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[0081]	20 25 30
[0082]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Thr Glu Asp Glu Asn
[0083]	35 40 45
[0084]	Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[0085]	50 55 60
[0086]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr
[0087]	65 70 75 80
[0088]	Phe Thr Thr
[0089]	<210> 4
[0090]	<211> 7
[0091]	<212> PRT
[0092]	<213> 人工序列
[0093]	<220>
[0094]	<223> 合成构建体
[0095]	<400> 4
[0096]	Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr
[0097]	1 5
[0098]	<210> 5
[0099]	<211> 9
[0100]	<212> PRT
[0101]	<213> 人工序列
[0102]	<220>
[0103]	<223> 合成构建体
[0104]	<400> 5
[0105]	Phe Lys Pro Leu Ala Glu Ile Asp Gly
[0106]	1 5
[0107]	<210> 6
[0108]	<211> 7
[0109]	<212> PRT
[0110]	<213> 人工序列
[0111]	<220>
[0112]	<223> 合成构建体
[0113]	<400> 6
[0114]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg
[0115]	1 5
[0116]	<210> 7

[0117]	<211> 6		
[0118]	<212> PRT		
[0119]	<213> 人工序列		
[0120]	<220>		
[0121]	<223> 合成构建体		
[0122]	<400> 7		
[0123]	Thr Glu Asp Glu Asn Gln		
[0124]	1	5	
[0125]	<210> 8		
[0126]	<211> 8		
[0127]	<212> PRT		
[0128]	<213> 人工序列		
[0129]	<220>		
[0130]	<223> 合成构建体		
[0131]	<400> 8		
[0132]	Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu		
[0133]	1	5	
[0134]	<210> 9		
[0135]	<211> 10		
[0136]	<212> PRT		
[0137]	<213> 人工序列		
[0138]	<220>		
[0139]	<223> 合成构建体		
[0140]	<400> 9		
[0141]	Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala		
[0142]	1	5	10
[0143]	<210> 10		
[0144]	<211> 10		
[0145]	<212> PRT		
[0146]	<213> 人工序列		
[0147]	<220>		
[0148]	<223> 合成构建体		
[0149]	<400> 10		
[0150]	Arg Leu Asp Ala Pro Ser Gln Ile Glu Val		
[0151]	1	5	10
[0152]	<210> 11		
[0153]	<211> 3		
[0154]	<212> PRT		
[0155]	<213> 人工序列		

[0156] <220>
[0157] <223> 合成构建体
[0158] <400> 11
[0159] Ile Glu Val
[0160] 1
[0161] <210> 12
[0162] <211> 5
[0163] <212> PRT
[0164] <213> 人工序列
[0165] <220>
[0166] <223> 合成构建体
[0167] <400> 12
[0168] Ala Leu Ile Thr Trp
[0169] 1 5
[0170] <210> 13
[0171] <211> 7
[0172] <212> PRT
[0173] <213> 人工序列
[0174] <220>
[0175] <223> 合成构建体
[0176] <400> 13
[0177] Cys Glu Leu Ala Tyr Gly Ile
[0178] 1 5
[0179] <210> 14
[0180] <211> 7
[0181] <212> PRT
[0182] <213> 人工序列
[0183] <220>
[0184] <223> 合成构建体
[0185] <400> 14
[0186] Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile
[0187] 1 5
[0188] <210> 15
[0189] <211> 5
[0190] <212> PRT
[0191] <213> 人工序列
[0192] <220>
[0193] <223> 合成构建体
[0194] <400> 15

[0195]	Thr Thr Ile Asp Leu
[0196]	1 5
[0197]	<210> 16
[0198]	<211> 3
[0199]	<212> PRT
[0200]	<213> 人工序列
[0201]	<220>
[0202]	<223> 合成构建体
[0203]	<400> 16
[0204]	Tyr Ser Ile
[0205]	1
[0206]	<210> 17
[0207]	<211> 7
[0208]	<212> PRT
[0209]	<213> 人工序列
[0210]	<220>
[0211]	<223> 合成构建体
[0212]	<400> 17
[0213]	Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys
[0214]	1 5
[0215]	<210> 18
[0216]	<211> 6
[0217]	<212> PRT
[0218]	<213> 人工序列
[0219]	<220>
[0220]	<223> 合成构建体
[0221]	<400> 18
[0222]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[0223]	1 5
[0224]	<210> 19
[0225]	<211> 98
[0226]	<212> PRT
[0227]	<213> 人工序列
[0228]	<220>
[0229]	<223> 合成构建体
[0230]	<400> 19
[0231]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[0232]	1 5 10 15
[0233]	Ser Asp Glu Phe Gly His Tyr Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile

[0234]	20	25	30
[0235]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser		
[0236]	35	40	45
[0237]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val		
[0238]	50	55	60
[0239]	Ser Leu Ile Cys Tyr Thr Asp Gln Glu Ala Gly Asn Pro Ala Lys Glu		
[0240]	65	70	75
[0241]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His		
[0242]	85	90	95
[0243]	His His		
[0244]	<210> 20		
[0245]	<211> 83		
[0246]	<212> PRT		
[0247]	<213> 人工序列		
[0248]	<220>		
[0249]	<223> 合成构建体		
[0250]	<400> 20		
[0251]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser		
[0252]	1	5	10
[0253]	Asp Glu Phe Gly His Tyr Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys		
[0254]	20	25	30
[0255]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser Ala		
[0256]	35	40	45
[0257]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser		
[0258]	50	55	60
[0259]	Leu Ile Cys Tyr Thr Asp Gln Glu Ala Gly Asn Pro Ala Lys Glu Thr		
[0260]	65	70	75
[0261]	Phe Thr Thr		
[0262]	<210> 21		
[0263]	<211> 98		
[0264]	<212> PRT		
[0265]	<213> 人工序列		
[0266]	<220>		
[0267]	<223> 合成构建体		
[0268]	<400> 21		
[0269]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp		
[0270]	1	5	10
[0271]	Ser Asp Glu Phe Gly His Tyr Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile		
[0272]	20	25	30

[0273]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser
[0274]	35 40 45
[0275]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val
[0276]	50 55 60
[0277]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu
[0278]	65 70 75 80
[0279]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His
[0280]	85 90 95
[0281]	His His
[0282]	<210> 22
[0283]	<211> 83
[0284]	<212> PRT
[0285]	<213> 人工序列
[0286]	<220>
[0287]	<223> 合成构建体
[0288]	<400> 22
[0289]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser
[0290]	1 5 10 15
[0291]	Asp Glu Phe Gly His Tyr Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[0292]	20 25 30
[0293]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser Ala
[0294]	35 40 45
[0295]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[0296]	50 55 60
[0297]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr
[0298]	65 70 75 80
[0299]	Phe Thr Thr
[0300]	<210> 23
[0301]	<211> 98
[0302]	<212> PRT
[0303]	<213> 人工序列
[0304]	<220>
[0305]	<223> 合成构建体
[0306]	<400> 23
[0307]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[0308]	1 5 10 15
[0309]	Ser Asp Asp Phe Asp Asn Tyr Glu Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile
[0310]	20 25 30
[0311]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His Met

[0312]	35	40	45
[0313]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val		
[0314]	50	55	60
[0315]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu		
[0316]	65	70	75
[0317]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His		
[0318]	85	90	95
[0319]	His His		
[0320]	<210> 24		
[0321]	<211> 83		
[0322]	<212> PRT		
[0323]	<213> 人工序列		
[0324]	<220>		
[0325]	<223> 合成构建体		
[0326]	<400> 24		
[0327]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser		
[0328]	1	5	10
[0329]	Asp Asp Phe Asp Asn Tyr Glu Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys		
[0330]	20	25	30
[0331]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His Met Ala		
[0332]	35	40	45
[0333]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser		
[0334]	50	55	60
[0335]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr		
[0336]	65	70	75
[0337]	Phe Thr Thr		
[0338]	<210> 25		
[0339]	<211> 98		
[0340]	<212> PRT		
[0341]	<213> 人工序列		
[0342]	<220>		
[0343]	<223> 合成构建体		
[0344]	<400> 25		
[0345]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp		
[0346]	1	5	10
[0347]	Ser Asp Asp Phe Ala Asp Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile		
[0348]	20	25	30
[0349]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser		
[0350]	35	40	45

[0351]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val
[0352]	50 55 60
[0353]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu
[0354]	65 70 75 80
[0355]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His
[0356]	85 90 95
[0357]	His His
[0358]	<210> 26
[0359]	<211> 83
[0360]	<212> PRT
[0361]	<213> 人工序列
[0362]	<220>
[0363]	<223> 合成构建体
[0364]	<400> 26
[0365]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser
[0366]	1 5 10 15
[0367]	Asp Asp Phe Ala Asp Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[0368]	20 25 30
[0369]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser Ala
[0370]	35 40 45
[0371]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[0372]	50 55 60
[0373]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr
[0374]	65 70 75 80
[0375]	Phe Thr Thr
[0376]	<210> 27
[0377]	<211> 98
[0378]	<212> PRT
[0379]	<213> 人工序列
[0380]	<220>
[0381]	<223> 合成构建体
[0382]	<400> 27
[0383]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[0384]	1 5 10 15
[0385]	Ser Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile
[0386]	20 25 30
[0387]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His His
[0388]	35 40 45
[0389]	Ala His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val

[0390]	50	55	60
[0391]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu		
[0392]	65	70	75
[0393]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His		
[0394]	85	90	95
[0395]	His His		
[0396]	<210> 28		
[0397]	<211> 83		
[0398]	<212> PRT		
[0399]	<213> 人工序列		
[0400]	<220>		
[0401]	<223> 合成构建体		
[0402]	<400> 28		
[0403]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser		
[0404]	1	5	10
[0405]	Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys		
[0406]	20	25	30
[0407]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His His Ala		
[0408]	35	40	45
[0409]	His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser		
[0410]	50	55	60
[0411]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr		
[0412]	65	70	75
[0413]	Phe Thr Thr		
[0414]	<210> 29		
[0415]	<211> 98		
[0416]	<212> PRT		
[0417]	<213> 人工序列		
[0418]	<220>		
[0419]	<223> 合成构建体		
[0420]	<400> 29		
[0421]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp		
[0422]	1	5	10
[0423]	Leu Asp Asp Trp Gly Ser Tyr His Val Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile		
[0424]	20	25	30
[0425]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His Gln		
[0426]	35	40	45
[0427]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val		
[0428]	50	55	60

[0429]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu
[0430]	65 70 75 80
[0431]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His
[0432]	85 90 95
[0433]	His His
[0434]	<210> 30
[0435]	<211> 83
[0436]	<212> PRT
[0437]	<213> 人工序列
[0438]	<220>
[0439]	<223> 合成构建体
[0440]	<400> 30
[0441]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Leu
[0442]	1 5 10 15
[0443]	Asp Asp Trp Gly Ser Tyr His Val Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[0444]	20 25 30
[0445]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His Gln Ala
[0446]	35 40 45
[0447]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[0448]	50 55 60
[0449]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr
[0450]	65 70 75 80
[0451]	Phe Thr Thr
[0452]	<210> 31
[0453]	<211> 98
[0454]	<212> PRT
[0455]	<213> 人工序列
[0456]	<220>
[0457]	<223> 合成构建体
[0458]	<400> 31
[0459]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[0460]	1 5 10 15
[0461]	Ser Asp Glu Val Gly Asp Tyr Val Val Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile
[0462]	20 25 30
[0463]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His Met
[0464]	35 40 45
[0465]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val
[0466]	50 55 60
[0467]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu

[0468]	65	70	75	80
[0469]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His			
[0470]	85	90	95	
[0471]	His His			
[0472]	<210> 32			
[0473]	<211> 83			
[0474]	<212> PRT			
[0475]	<213> 人工序列			
[0476]	<220>			
[0477]	<223> 合成构建体			
[0478]	<400> 32			
[0479]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser			
[0480]	1	5	10	15
[0481]	Asp Glu Val Gly Asp Tyr Val Val Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys			
[0482]	20	25	30	
[0483]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His Met Ala			
[0484]	35	40	45	
[0485]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser			
[0486]	50	55	60	
[0487]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr			
[0488]	65	70	75	80
[0489]	Phe Thr Thr			
[0490]	<210> 33			
[0491]	<211> 98			
[0492]	<212> PRT			
[0493]	<213> 人工序列			
[0494]	<220>			
[0495]	<223> 合成构建体			
[0496]	<400> 33			
[0497]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp			
[0498]	1	5	10	15
[0499]	Ser Asp Asp Phe Ala Glu Tyr Val Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile			
[0500]	20	25	30	
[0501]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser			
[0502]	35	40	45	
[0503]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val			
[0504]	50	55	60	
[0505]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu			
[0506]	65	70	75	80

[0507]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His		
[0508]		85	90
[0509]	His His		95
[0510]	<210> 34		
[0511]	<211> 83		
[0512]	<212> PRT		
[0513]	<213> 人工序列		
[0514]	<220>		
[0515]	<223> 合成构建体		
[0516]	<400> 34		
[0517]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser		
[0518]	1	5	10
[0519]	Asp Asp Phe Ala Glu Tyr Val Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys		
[0520]		20	25
[0521]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser Ala		
[0522]		35	40
[0523]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser		
[0524]		50	55
[0525]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr		
[0526]	65	70	75
[0527]	Phe Thr Thr		80
[0528]	<210> 35		
[0529]	<211> 98		
[0530]	<212> PRT		
[0531]	<213> 人工序列		
[0532]	<220>		
[0533]	<223> 合成构建体		
[0534]	<400> 35		
[0535]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp		
[0536]	1	5	10
[0537]	Ser Asp Asp Phe Glu Glu Tyr Val Val Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile		
[0538]		20	25
[0539]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser		
[0540]		35	40
[0541]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val		
[0542]		50	55
[0543]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu		
[0544]	65	70	75
[0545]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His		80

[0546]		85	90	95
[0547]	His His			
[0548]	<210> 36			
[0549]	<211> 83			
[0550]	<212> PRT			
[0551]	<213> 人工序列			
[0552]	<220>			
[0553]	<223> 合成构建体			
[0554]	<400> 36			
[0555]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser			
[0556]	1 5 10 15			
[0557]	Asp Asp Phe Glu Glu Tyr Val Val Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys			
[0558]	20 25 30			
[0559]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser Ala			
[0560]	35 40 45			
[0561]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser			
[0562]	50 55 60			
[0563]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr			
[0564]	65 70 75 80			
[0565]	Phe Thr Thr			
[0566]	<210> 37			
[0567]	<211> 98			
[0568]	<212> PRT			
[0569]	<213> 人工序列			
[0570]	<220>			
[0571]	<223> 合成构建体			
[0572]	<400> 37			
[0573]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp			
[0574]	1 5 10 15			
[0575]	Ser Asp Glu Val Gly Gln Tyr Val Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile			
[0576]	20 25 30			
[0577]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His Met			
[0578]	35 40 45			
[0579]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val			
[0580]	50 55 60			
[0581]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu			
[0582]	65 70 75 80			
[0583]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His			
[0584]	85 90 95			

[0585]	His His
[0586]	<210> 38
[0587]	<211> 83
[0588]	<212> PRT
[0589]	<213> 人工序列
[0590]	<220>
[0591]	<223> 合成构建体
[0592]	<400> 38
[0593]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser
[0594]	1 5 10 15
[0595]	Asp Glu Val Gly Gln Tyr Val Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[0596]	20 25 30
[0597]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His Met Ala
[0598]	35 40 45
[0599]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[0600]	50 55 60
[0601]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr
[0602]	65 70 75 80
[0603]	Phe Thr Thr
[0604]	<210> 39
[0605]	<211> 98
[0606]	<212> PRT
[0607]	<213> 人工序列
[0608]	<220>
[0609]	<223> 合成构建体
[0610]	<400> 39
[0611]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[0612]	1 5 10 15
[0613]	Ser Asp Asp Ile Gly Leu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile
[0614]	20 25 30
[0615]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Phe His Gln
[0616]	35 40 45
[0617]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val
[0618]	50 55 60
[0619]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu
[0620]	65 70 75 80
[0621]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His
[0622]	85 90 95
[0623]	His His

[0624]	<210>	40
[0625]	<211>	83
[0626]	<212>	PRT
[0627]	<213>	人工序列
[0628]	<220>	
[0629]	<223>	合成构建体
[0630]	<400>	40
[0631]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser	
[0632]	1 5 10 15	
[0633]	Asp Asp Ile Gly Leu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys	
[0634]	20 25 30	
[0635]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Phe His Gln Ala	
[0636]	35 40 45	
[0637]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser	
[0638]	50 55 60	
[0639]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr	
[0640]	65 70 75 80	
[0641]	Phe Thr Thr	
[0642]	<210>	41
[0643]	<211>	98
[0644]	<212>	PRT
[0645]	<213>	人工序列
[0646]	<220>	
[0647]	<223>	合成构建体
[0648]	<400>	41
[0649]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp	
[0650]	1 5 10 15	
[0651]	Ser Asp Glu His Ala Glu Phe Ile Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile	
[0652]	20 25 30	
[0653]	Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser	
[0654]	35 40 45	
[0655]	Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val	
[0656]	50 55 60	
[0657]	Ser Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu	
[0658]	65 70 75 80	
[0659]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His His His His	
[0660]	85 90 95	
[0661]	His His	
[0662]	<210>	42

[0663]	<211>	83
[0664]	<212>	PRT
[0665]	<213>	人工序列
[0666]	<220>	
[0667]	<223>	合成构建体
[0668]	<400>	42
[0669]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser	
[0670]	1 5 10 15	
[0671]	Asp Glu His Ala Glu Phe Ile Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys	
[0672]	20 25 30	
[0673]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser Ala	
[0674]	35 40 45	
[0675]	Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser	
[0676]	50 55 60	
[0677]	Leu Ile Cys Arg Arg Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr	
[0678]	65 70 75 80	
[0679]	Phe Thr Thr	
[0680]	<210>	43
[0681]	<211>	101
[0682]	<212>	PRT
[0683]	<213>	人工序列
[0684]	<220>	
[0685]	<223>	合成构建体
[0686]	<400>	43
[0687]	Ala Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp	
[0688]	1 5 10 15	
[0689]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Tyr Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr	
[0690]	20 25 30	
[0691]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ser	
[0692]	35 40 45	
[0693]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr	
[0694]	50 55 60	
[0695]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro	
[0696]	65 70 75 80	
[0697]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His	
[0698]	85 90 95	
[0699]	His His His His His	
[0700]	100	
[0701]	<210>	44

[0702]	<211>	86
[0703]	<212>	PRT
[0704]	<213>	人工序列
[0705]	<220>	
[0706]	<223>	合成构建体
[0707]	<400>	44
[0708]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr	
[0709]	1 5 10 15	
[0710]	Asn Arg Ser Ser Tyr Tyr Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly	
[0711]	20 25 30	
[0712]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ser Pro	
[0713]	35 40 45	
[0714]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu	
[0715]	50 55 60	
[0716]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala	
[0717]	65 70 75 80	
[0718]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr	
[0719]	85	
[0720]	<210>	45
[0721]	<211>	101
[0722]	<212>	PRT
[0723]	<213>	人工序列
[0724]	<220>	
[0725]	<223>	合成构建体
[0726]	<400>	45
[0727]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp	
[0728]	1 5 10 15	
[0729]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Tyr Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr	
[0730]	20 25 30	
[0731]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ser	
[0732]	35 40 45	
[0733]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr	
[0734]	50 55 60	
[0735]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro	
[0736]	65 70 75 80	
[0737]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His	
[0738]	85 90 95	
[0739]	His His His His His	
[0740]	100	

[0741]	<210>	46
[0742]	<211>	86
[0743]	<212>	PRT
[0744]	<213>	人工序列
[0745]	<220>	
[0746]	<223>	合成构建体
[0747]	<400>	46
[0748]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr	
[0749]	1 5 10 15	
[0750]	Asn Arg Ser Ser Tyr Tyr Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly	
[0751]	20 25 30	
[0752]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ser Pro	
[0753]	35 40 45	
[0754]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu	
[0755]	50 55 60	
[0756]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala	
[0757]	65 70 75 80	
[0758]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr	
[0759]	85	
[0760]	<210>	47
[0761]	<211>	101
[0762]	<212>	PRT
[0763]	<213>	人工序列
[0764]	<220>	
[0765]	<223>	合成构建体
[0766]	<400>	47
[0767]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp	
[0768]	1 5 10 15	
[0769]	Ile Asn Arg Ser Tyr Tyr Ala Asp Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr	
[0770]	20 25 30	
[0771]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asp Gln	
[0772]	35 40 45	
[0773]	Ile Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Lys Tyr	
[0774]	50 55 60	
[0775]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro	
[0776]	65 70 75 80	
[0777]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His	
[0778]	85 90 95	
[0779]	His His His His His	

[0780]	100	
[0781]	<210>	48
[0782]	<211>	86
[0783]	<212>	PRT
[0784]	<213>	人工序列
[0785]	<220>	
[0786]	<223>	合成构建体
[0787]	<400>	48
[0788]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ile	
[0789]	1 5 10 15	
[0790]	Asn Arg Ser Tyr Tyr Ala Asp Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly	
[0791]	20 25 30	
[0792]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asp Gln Ile	
[0793]	35 40 45	
[0794]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Lys Tyr Glu	
[0795]	50 55 60	
[0796]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala	
[0797]	65 70 75 80	
[0798]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr	
[0799]	85	
[0800]	<210>	49
[0801]	<211>	102
[0802]	<212>	PRT
[0803]	<213>	人工序列
[0804]	<220>	
[0805]	<223>	合成构建体
[0806]	<400>	49
[0807]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp	
[0808]	1 5 10 15	
[0809]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser His Leu Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr	
[0810]	20 25 30	
[0811]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ala	
[0812]	35 40 45	
[0813]	Ala Ile Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu	
[0814]	50 55 60	
[0815]	Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn	
[0816]	65 70 75 80	
[0817]	Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His	
[0818]	85 90 95	

[0819]	His His His His His His
[0820]	100
[0821]	<210> 50
[0822]	<211> 87
[0823]	<212> PRT
[0824]	<213> 人工序列
[0825]	<220>
[0826]	<223> 合成构建体
[0827]	<400> 50
[0828]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr
[0829]	1 5 10 15
[0830]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ser His Leu Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly
[0831]	20 25 30
[0832]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ala Ala
[0833]	35 40 45
[0834]	Ile Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr
[0835]	50 55 60
[0836]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro
[0837]	65 70 75 80
[0838]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[0839]	85
[0840]	<210> 51
[0841]	<211> 101
[0842]	<212> PRT
[0843]	<213> 人工序列
[0844]	<220>
[0845]	<223> 合成构建体
[0846]	<400> 51
[0847]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[0848]	1 5 10 15
[0849]	Ile Asn Arg Ser Ser Tyr His Asn Phe Pro His Cys Glu Leu Ala Tyr
[0850]	20 25 30
[0851]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Ser
[0852]	35 40 45
[0853]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr
[0854]	50 55 60
[0855]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro
[0856]	65 70 75 80
[0857]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His

[0858]		85		90		95
[0859]	His His His His His					
[0860]		100				
[0861]	<210> 52					
[0862]	<211> 86					
[0863]	<212> PRT					
[0864]	<213> 人工序列					
[0865]	<220>					
[0866]	<223> 合成构建体					
[0867]	<400> 52					
[0868]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ile					
[0869]	1	5		10		15
[0870]	Asn Arg Ser Ser Tyr His Asn Phe Pro His Cys Glu Leu Ala Tyr Gly					
[0871]		20		25		30
[0872]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Ser Pro					
[0873]		35		40		45
[0874]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu					
[0875]		50		55		60
[0876]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala					
[0877]	65		70		75	80
[0878]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr					
[0879]		85				
[0880]	<210> 53					
[0881]	<211> 101					
[0882]	<212> PRT					
[0883]	<213> 人工序列					
[0884]	<220>					
[0885]	<223> 合成构建体					
[0886]	<400> 53					
[0887]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp					
[0888]	1	5		10		15
[0889]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn His Leu Gly Cys Glu Leu Ala Tyr					
[0890]		20		25		30
[0891]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Asn					
[0892]		35		40		45
[0893]	Ile Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr					
[0894]		50		55		60
[0895]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro					
[0896]	65		70		75	80

[0897]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His
[0898]	85 90 95
[0899]	His His His His His
[0900]	100
[0901]	<210> 54
[0902]	<211> 86
[0903]	<212> PRT
[0904]	<213> 人工序列
[0905]	<220>
[0906]	<223> 合成构建体
[0907]	<400> 54
[0908]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr
[0909]	1 5 10 15
[0910]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn His Leu Gly Cys Glu Leu Ala Tyr Gly
[0911]	20 25 30
[0912]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Asn Ile
[0913]	35 40 45
[0914]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu
[0915]	50 55 60
[0916]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala
[0917]	65 70 75 80
[0918]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[0919]	85
[0920]	<210> 55
[0921]	<211> 101
[0922]	<212> PRT
[0923]	<213> 人工序列
[0924]	<220>
[0925]	<223> 合成构建体
[0926]	<400> 55
[0927]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[0928]	1 5 10 15
[0929]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Phe His Gly Cys Glu Leu Ala Tyr
[0930]	20 25 30
[0931]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Ser
[0932]	35 40 45
[0933]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr
[0934]	50 55 60
[0935]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro

[0936]	65	70	75	80
[0937]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His			
[0938]	85	90	95	
[0939]	His His His His His			
[0940]	100			
[0941]	<210> 56			
[0942]	<211> 86			
[0943]	<212> PRT			
[0944]	<213> 人工序列			
[0945]	<220>			
[0946]	<223> 合成构建体			
[0947]	<400> 56			
[0948]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr			
[0949]	1 5 10 15			
[0950]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Phe His Gly Cys Glu Leu Ala Tyr Gly			
[0951]	20 25 30			
[0952]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Ser Pro			
[0953]	35 40 45			
[0954]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu			
[0955]	50 55 60			
[0956]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala			
[0957]	65 70 75 80			
[0958]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr			
[0959]	85			
[0960]	<210> 57			
[0961]	<211> 101			
[0962]	<212> PRT			
[0963]	<213> 人工序列			
[0964]	<220>			
[0965]	<223> 合成构建体			
[0966]	<400> 57			
[0967]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp			
[0968]	1 5 10 15			
[0969]	Thr Asn Arg Ser Phe Tyr Ser Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr			
[0970]	20 25 30			
[0971]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln			
[0972]	35 40 45			
[0973]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr			
[0974]	50 55 60			

[0975]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro
[0976]	65 70 75 80
[0977]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His
[0978]	85 90 95
[0979]	His His His His His
[0980]	100
[0981]	<210> 58
[0982]	<211> 86
[0983]	<212> PRT
[0984]	<213> 人工序列
[0985]	<220>
[0986]	<223> 合成构建体
[0987]	<400> 58
[0988]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr
[0989]	1 5 10 15
[0990]	Asn Arg Ser Phe Tyr Ser Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly
[0991]	20 25 30
[0992]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln Pro
[0993]	35 40 45
[0994]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu
[0995]	50 55 60
[0996]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala
[0997]	65 70 75 80
[0998]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[0999]	85
[1000]	<210> 59
[1001]	<211> 101
[1002]	<212> PRT
[1003]	<213> 人工序列
[1004]	<220>
[1005]	<223> 合成构建体
[1006]	<400> 59
[1007]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[1008]	1 5 10 15
[1009]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Tyr Leu His Gly Cys Glu Leu Ala Tyr
[1010]	20 25 30
[1011]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln
[1012]	35 40 45
[1013]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr

[1014]	50	55	60
[1015]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro		
[1016]	65	70	75
[1017]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His		
[1018]	85	90	95
[1019]	His His His His His		
[1020]	100		
[1021]	<210> 60		
[1022]	<211> 86		
[1023]	<212> PRT		
[1024]	<213> 人工序列		
[1025]	<220>		
[1026]	<223> 合成构建体		
[1027]	<400> 60		
[1028]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr		
[1029]	1	5	10
[1030]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Tyr Leu His Gly Cys Glu Leu Ala Tyr Gly		
[1031]	20	25	30
[1032]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln Pro		
[1033]	35	40	45
[1034]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[1035]	50	55	60
[1036]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala		
[1037]	65	70	75
[1038]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr		
[1039]	85		
[1040]	<210> 61		
[1041]	<211> 101		
[1042]	<212> PRT		
[1043]	<213> 人工序列		
[1044]	<220>		
[1045]	<223> 合成构建体		
[1046]	<400> 61		
[1047]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp		
[1048]	1	5	10
[1049]	Ile Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr		
[1050]	20	25	30
[1051]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ser		
[1052]	35	40	45

[1053]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr
[1054]	50 55 60
[1055]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro
[1056]	65 70 75 80
[1057]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His
[1058]	85 90 95
[1059]	His His His His His
[1060]	100
[1061]	<210> 62
[1062]	<211> 86
[1063]	<212> PRT
[1064]	<213> 人工序列
[1065]	<220>
[1066]	<223> 合成构建体
[1067]	<400> 62
[1068]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ile
[1069]	1 5 10 15
[1070]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly
[1071]	20 25 30
[1072]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ser Pro
[1073]	35 40 45
[1074]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu
[1075]	50 55 60
[1076]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala
[1077]	65 70 75 80
[1078]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[1079]	85
[1080]	<210> 63
[1081]	<211> 101
[1082]	<212> PRT
[1083]	<213> 人工序列
[1084]	<220>
[1085]	<223> 合成构建体
[1086]	<400> 63
[1087]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[1088]	1 5 10 15
[1089]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Tyr His Gly Cys Glu Leu Ala Tyr
[1090]	20 25 30
[1091]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln

[1092]	35	40	45
[1093]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr		
[1094]	50	55	60
[1095]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro		
[1096]	65	70	75
[1097]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His		
[1098]	85	90	95
[1099]	His His His His His		
[1100]	100		
[1101]	<210> 64		
[1102]	<211> 86		
[1103]	<212> PRT		
[1104]	<213> 人工序列		
[1105]	<220>		
[1106]	<223> 合成构建体		
[1107]	<400> 64		
[1108]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr		
[1109]	1	5	10
[1110]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Tyr His Gly Cys Glu Leu Ala Tyr Gly		
[1111]	20	25	30
[1112]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln Pro		
[1113]	35	40	45
[1114]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[1115]	50	55	60
[1116]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala		
[1117]	65	70	75
[1118]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr		
[1119]	85		
[1120]	<210> 65		
[1121]	<211> 101		
[1122]	<212> PRT		
[1123]	<213> 人工序列		
[1124]	<220>		
[1125]	<223> 合成构建体		
[1126]	<400> 65		
[1127]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp		
[1128]	1	5	10
[1129]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Leu Pro Gly Cys Glu Leu Thr Tyr		
[1130]	20	25	30

[1131]	Gly	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Asn	Ser
[1132]			35					40					45			
[1133]	Pro	Tyr	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr
[1134]			50					55					60			
[1135]	Glu	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro
[1136]	65					70					75					80
[1137]	Ala	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Leu	Gly	His	His	His
[1138]					85				90						95	
[1139]	His	His	His	His	His											
[1140]					100											
[1141]	<210> 66															
[1142]	<211> 86															
[1143]	<212> PRT															
[1144]	<213> 人工序列															
[1145]	<220>															
[1146]	<223> 合成构建体															
[1147]	<400> 66															
[1148]	Ile	Glu	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp	Thr
[1149]	1				5					10					15	
[1150]	Asn	Arg	Ser	Ser	Tyr	Ala	Asn	Leu	Pro	Gly	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly
[1151]				20					25					30		
[1152]	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Asn	Ser	Pro
[1153]			35					40					45			
[1154]	Tyr	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu
[1155]		50					55					60				
[1156]	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro	Ala
[1157]	65					70					75					80
[1158]	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr										
[1159]					85											
[1160]	<210> 67															
[1161]	<211> 101															
[1162]	<212> PRT															
[1163]	<213> 人工序列															
[1164]	<220>															
[1165]	<223> 合成构建体															
[1166]	<400> 67															
[1167]	Ala	Ile	Glu	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp
[1168]	1				5					10					15	
[1169]	Thr	Asn	Arg	Ser	Ser	Tyr	Ser	Asn	Leu	His	Gly	Cys	Glu	Leu	Ala	Tyr

[1170]	20	25	30
[1171]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln		
[1172]	35	40	45
[1173]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr		
[1174]	50	55	60
[1175]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Asn Asn Pro		
[1176]	65	70	75
[1177]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His		
[1178]	85	90	95
[1179]	His His His His His		
[1180]	100		
[1181]	<210> 68		
[1182]	<211> 86		
[1183]	<212> PRT		
[1184]	<213> 人工序列		
[1185]	<220>		
[1186]	<223> 合成构建体		
[1187]	<400> 68		
[1188]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr		
[1189]	1	5	10
[1190]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Ala Tyr Gly		
[1191]	20	25	30
[1192]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln Pro		
[1193]	35	40	45
[1194]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[1195]	50	55	60
[1196]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Asn Asn Pro Ala		
[1197]	65	70	75
[1198]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr		
[1199]	85		
[1200]	<210> 69		
[1201]	<211> 101		
[1202]	<212> PRT		
[1203]	<213> 人工序列		
[1204]	<220>		
[1205]	<223> 合成构建体		
[1206]	<400> 69		
[1207]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp		
[1208]	1	5	10

[1209]	Ile Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr
[1210]	20 25 30
[1211]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Ser
[1212]	35 40 45
[1213]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr
[1214]	50 55 60
[1215]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro
[1216]	65 70 75 80
[1217]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His
[1218]	85 90 95
[1219]	His His His His His
[1220]	100
[1221]	<210> 70
[1222]	<211> 86
[1223]	<212> PRT
[1224]	<213> 人工序列
[1225]	<220>
[1226]	<223> 合成构建体
[1227]	<400> 70
[1228]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ile
[1229]	1 5 10 15
[1230]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly
[1231]	20 25 30
[1232]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Ser Pro
[1233]	35 40 45
[1234]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu
[1235]	50 55 60
[1236]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala
[1237]	65 70 75 80
[1238]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[1239]	85
[1240]	<210> 71
[1241]	<211> 101
[1242]	<212> PRT
[1243]	<213> 人工序列
[1244]	<220>
[1245]	<223> 合成构建体
[1246]	<400> 71
[1247]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp

[1248]	1						5						10						15					
[1249]	Thr	Ala	Arg	Ser	Ala	Tyr	Ser	His	His	His	Tyr	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr								
[1250]					20							25							30					
[1251]	Gly	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Arg	Gln								
[1252]					35							40							45					
[1253]	Pro	Tyr	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr								
[1254]					50							55							60					
[1255]	Glu	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro								
[1256]	65								70							75							80	
[1257]	Ala	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Leu	Gly	His	His	His								
[1258]					85							90							95					
[1259]	His	His	His	His	His																			
[1260]					100																			
[1261]	<210>	72																						
[1262]	<211>	86																						
[1263]	<212>	PRT																						
[1264]	<213>	人工序列																						
[1265]	<220>																							
[1266]	<223>	合成构建体																						
[1267]	<400>	72																						
[1268]	Ile	Glu	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp	Thr								
[1269]	1					5								10							15			
[1270]	Ala	Arg	Ser	Ala	Tyr	Ser	His	His	His	Tyr	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly								
[1271]					20							25							30					
[1272]	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Arg	Gln	Pro								
[1273]					35							40							45					
[1274]	Tyr	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu								
[1275]					50							55							60					
[1276]	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro	Ala								
[1277]	65								70							75							80	
[1278]	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr																		
[1279]					85																			
[1280]	<210>	73																						
[1281]	<211>	100																						
[1282]	<212>	PRT																						
[1283]	<213>	人工序列																						
[1284]	<220>																							
[1285]	<223>	合成构建体																						
[1286]	<400>	73																						

[1287]	Ala	Ile	Glu	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp
[1288]	1				5					10					15	
[1289]	Thr	Asn	Arg	Ser	Ser	Tyr	Ala	Asn	Tyr	His	His	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr
[1290]					20					25					30	
[1291]	Gly	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Glu	Leu
[1292]					35					40					45	
[1293]	Tyr	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu
[1294]					50					55					60	
[1295]	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro	Ala
[1296]	65					70						75				80
[1297]	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Leu	Gly	His	His	His	His
[1298]						85				90					95	
[1299]	His	His	His	His												
[1300]																100
[1301]	<210> 74															
[1302]	<211> 85															
[1303]	<212> PRT															
[1304]	<213> 人工序列															
[1305]	<220>															
[1306]	<223> 合成构建体															
[1307]	<400> 74															
[1308]	Ile	Glu	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp	Thr
[1309]	1					5					10				15	
[1310]	Asn	Arg	Ser	Ser	Tyr	Ala	Asn	Tyr	His	His	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly
[1311]						20					25				30	
[1312]	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Glu	Leu	Tyr
[1313]						35					40				45	
[1314]	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu	Val
[1315]						50					55				60	
[1316]	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro	Ala	Lys
[1317]	65						70					75				80
[1318]	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr											
[1319]							85									
[1320]	<210> 75															
[1321]	<211> 101															
[1322]	<212> PRT															
[1323]	<213> 人工序列															
[1324]	<220>															
[1325]	<223> 合成构建体															

[1326]	<400> 75
[1327]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[1328]	1 5 10 15
[1329]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asp Leu Pro Gly Cys Glu Leu Thr Tyr
[1330]	20 25 30
[1331]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ser
[1332]	35 40 45
[1333]	Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr
[1334]	50 55 60
[1335]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro
[1336]	65 70 75 80
[1337]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His
[1338]	85 90 95
[1339]	His His His His His
[1340]	100
[1341]	<210> 76
[1342]	<211> 86
[1343]	<212> PRT
[1344]	<213> 人工序列
[1345]	<220>
[1346]	<223> 合成构建体
[1347]	<400> 76
[1348]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr
[1349]	1 5 10 15
[1350]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asp Leu Pro Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly
[1351]	20 25 30
[1352]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Ser Ser Pro
[1353]	35 40 45
[1354]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu
[1355]	50 55 60
[1356]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala
[1357]	65 70 75 80
[1358]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[1359]	85
[1360]	<210> 77
[1361]	<211> 101
[1362]	<212> PRT
[1363]	<213> 人工序列
[1364]	<220>

[1365]	<223> 合成构建体															
[1366]	<400> 77															
[1367]	Ala	Ile	Glu	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp
[1368]	1				5					10				15		
[1369]	Thr	His	Arg	Ser	Ala	Tyr	Ser	Asn	His	Ser	Phe	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr
[1370]					20				25					30		
[1371]	Gly	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Asn	Thr
[1372]					35				40					45		
[1373]	Pro	Tyr	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr
[1374]		50						55				60				
[1375]	Glu	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro
[1376]	65					70					75				80	
[1377]	Ala	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Leu	Gly	His	His	His
[1378]					85				90					95		
[1379]	His	His	His	His	His											
[1380]					100											
[1381]	<210> 78															
[1382]	<211> 86															
[1383]	<212> PRT															
[1384]	<213> 人工序列															
[1385]	<220>															
[1386]	<223> 合成构建体															
[1387]	<400> 78															
[1388]	Ile	Glu	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp	Thr
[1389]	1				5					10				15		
[1390]	His	Arg	Ser	Ala	Tyr	Ser	Asn	His	Ser	Phe	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly
[1391]					20				25					30		
[1392]	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Asn	Thr	Pro
[1393]					35				40					45		
[1394]	Tyr	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu
[1395]		50						55				60				
[1396]	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ser	Asn	Pro	Ala
[1397]	65					70					75				80	
[1398]	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr										
[1399]					85											
[1400]	<210> 79															
[1401]	<211> 101															
[1402]	<212> PRT															
[1403]	<213> 人工序列															

[1404]	<220>
[1405]	<223> 合成构建体
[1406]	<400> 79
[1407]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp
[1408]	1 5 10 15
[1409]	Thr Asn Arg Ser Leu Tyr Ala Asn Phe His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr
[1410]	20 25 30
[1411]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Glu Gln
[1412]	35 40 45
[1413]	Val Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr
[1414]	50 55 60
[1415]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro
[1416]	65 70 75 80
[1417]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His
[1418]	85 90 95
[1419]	His His His His His
[1420]	100
[1421]	<210> 80
[1422]	<211> 86
[1423]	<212> PRT
[1424]	<213> 人工序列
[1425]	<220>
[1426]	<223> 合成构建体
[1427]	<400> 80
[1428]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr
[1429]	1 5 10 15
[1430]	Asn Arg Ser Leu Tyr Ala Asn Phe His Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly
[1431]	20 25 30
[1432]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Glu Gln Val
[1433]	35 40 45
[1434]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu
[1435]	50 55 60
[1436]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala
[1437]	65 70 75 80
[1438]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[1439]	85
[1440]	<210> 81
[1441]	<211> 101
[1442]	<212> PRT

[1443]	<213>	人工序列
[1444]	<220>	
[1445]	<223>	合成构建体
[1446]	<400>	81
[1447]	Ala Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp	
[1448]	1 5 10 15	
[1449]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Leu Pro Gly Cys Glu Leu Thr Tyr	
[1450]	20 25 30	
[1451]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln	
[1452]	35 40 45	
[1453]	Val Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr	
[1454]	50 55 60	
[1455]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro	
[1456]	65 70 75 80	
[1457]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Thr Leu Gly His His His	
[1458]	85 90 95	
[1459]	His His His His His	
[1460]	100	
[1461]	<210>	82
[1462]	<211>	86
[1463]	<212>	PRT
[1464]	<213>	人工序列
[1465]	<220>	
[1466]	<223>	合成构建体
[1467]	<400>	82
[1468]	Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr	
[1469]	1 5 10 15	
[1470]	Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Leu Pro Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly	
[1471]	20 25 30	
[1472]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln Val	
[1473]	35 40 45	
[1474]	Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu	
[1475]	50 55 60	
[1476]	Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala	
[1477]	65 70 75 80	
[1478]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr	
[1479]	85	
[1480]	<210>	83
[1481]	<211>	9

[1482] <212> PRT
[1483] <213> 人工序列
[1484] <220>
[1485] <223> 合成构建体
[1486] <400> 83
[1487] Ser Asp Glu Phe Gly His Tyr Asp Gly
[1488] 1 5
[1489] <210> 84
[1490] <211> 9
[1491] <212> PRT
[1492] <213> 人工序列
[1493] <220>
[1494] <223> 合成构建体
[1495] <400> 84
[1496] Ser Asp Asp Phe Asp Asn Tyr Glu Trp
[1497] 1 5
[1498] <210> 85
[1499] <211> 9
[1500] <212> PRT
[1501] <213> 人工序列
[1502] <220>
[1503] <223> 合成构建体
[1504] <400> 85
[1505] Ser Asp Asp Phe Ala Asp Tyr Val Trp
[1506] 1 5
[1507] <210> 86
[1508] <211> 9
[1509] <212> PRT
[1510] <213> 人工序列
[1511] <220>
[1512] <223> 合成构建体
[1513] <400> 86
[1514] Ser Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp
[1515] 1 5
[1516] <210> 87
[1517] <211> 9
[1518] <212> PRT
[1519] <213> 人工序列
[1520] <220>

[1521] <223> 合成构建体
[1522] <400> 87
[1523] Leu Asp Asp Trp Gly Ser Tyr His Val
[1524] 1 5
[1525] <210> 88
[1526] <211> 9
[1527] <212> PRT
[1528] <213> 人工序列
[1529] <220>
[1530] <223> 合成构建体
[1531] <400> 88
[1532] Ser Asp Glu Val Gly Asp Tyr Val Val
[1533] 1 5
[1534] <210> 89
[1535] <211> 9
[1536] <212> PRT
[1537] <213> 人工序列
[1538] <220>
[1539] <223> 合成构建体
[1540] <400> 89
[1541] Ser Asp Asp Phe Ala Glu Tyr Val Gly
[1542] 1 5
[1543] <210> 90
[1544] <211> 9
[1545] <212> PRT
[1546] <213> 人工序列
[1547] <220>
[1548] <223> 合成构建体
[1549] <400> 90
[1550] Ser Asp Asp Phe Glu Glu Tyr Val Val
[1551] 1 5
[1552] <210> 91
[1553] <211> 9
[1554] <212> PRT
[1555] <213> 人工序列
[1556] <220>
[1557] <223> 合成构建体
[1558] <400> 91
[1559] Ser Asp Glu Val Gly Gln Tyr Val Gly

[1560]	1	5
[1561]	<210>	92
[1562]	<211>	9
[1563]	<212>	PRT
[1564]	<213>	人工序列
[1565]	<220>	
[1566]	<223>	合成构建体
[1567]	<400>	92
[1568]	Ser Asp Asp Ile Gly Leu Tyr Val Trp	
[1569]	1	5
[1570]	<210>	93
[1571]	<211>	9
[1572]	<212>	PRT
[1573]	<213>	人工序列
[1574]	<220>	
[1575]	<223>	合成构建体
[1576]	<400>	93
[1577]	Ser Asp Glu His Ala Glu Phe Ile Gly	
[1578]	1	5
[1579]	<210>	94
[1580]	<211>	6
[1581]	<212>	PRT
[1582]	<213>	人工序列
[1583]	<220>	
[1584]	<223>	合成构建体
[1585]	<400>	94
[1586]	Trp Trp His Ser Ala Trp	
[1587]	1	5
[1588]	<210>	95
[1589]	<211>	6
[1590]	<212>	PRT
[1591]	<213>	人工序列
[1592]	<220>	
[1593]	<223>	合成构建体
[1594]	<400>	95
[1595]	Trp Tyr His Met Ala Trp	
[1596]	1	5
[1597]	<210>	96
[1598]	<211>	6

[1599] <212> PRT
[1600] <213> 人工序列
[1601] <220>
[1602] <223> 合成构建体
[1603] <400> 96
[1604] Trp Tyr His His Ala His
[1605] 1 5
[1606] <210> 97
[1607] <211> 6
[1608] <212> PRT
[1609] <213> 人工序列
[1610] <220>
[1611] <223> 合成构建体
[1612] <400> 97
[1613] Trp Tyr His Gln Ala Trp
[1614] 1 5
[1615] <210> 98
[1616] <211> 6
[1617] <212> PRT
[1618] <213> 人工序列
[1619] <220>
[1620] <223> 合成构建体
[1621] <400> 98
[1622] Trp Phe His Gln Ala Trp
[1623] 1 5
[1624] <210> 99
[1625] <211> 10
[1626] <212> PRT
[1627] <213> 人工序列
[1628] <220>
[1629] <223> 合成构建体
[1630] <400> 99
[1631] Tyr Thr Asp Gln Glu Ala Gly Asn Pro Ala
[1632] 1 5 10
[1633] <210> 100
[1634] <211> 11
[1635] <212> PRT
[1636] <213> 人工序列
[1637] <220>

[1638]	<223>	合成构建体
[1639]	<400>	100
[1640]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Tyr Asn Leu His Gly	
[1641]	1	5 10
[1642]	<210>	101
[1643]	<211>	11
[1644]	<212>	PRT
[1645]	<213>	人工序列
[1646]	<220>	
[1647]	<223>	合成构建体
[1648]	<400>	101
[1649]	Ile Asn Arg Ser Tyr Tyr Ala Asp Leu His Gly	
[1650]	1	5 10
[1651]	<210>	102
[1652]	<211>	11
[1653]	<212>	PRT
[1654]	<213>	人工序列
[1655]	<220>	
[1656]	<223>	合成构建体
[1657]	<400>	102
[1658]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser His Leu Asp Gly	
[1659]	1	5 10
[1660]	<210>	103
[1661]	<211>	11
[1662]	<212>	PRT
[1663]	<213>	人工序列
[1664]	<220>	
[1665]	<223>	合成构建体
[1666]	<400>	103
[1667]	Ile Asn Arg Ser Ser Tyr His Asn Phe Pro His	
[1668]	1	5 10
[1669]	<210>	104
[1670]	<211>	11
[1671]	<212>	PRT
[1672]	<213>	人工序列
[1673]	<220>	
[1674]	<223>	合成构建体
[1675]	<400>	104
[1676]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn His Leu Gly	

[1677]	1	5	10
[1678]	<210> 105		
[1679]	<211> 11		
[1680]	<212> PRT		
[1681]	<213> 人工序列		
[1682]	<220>		
[1683]	<223> 合成构建体		
[1684]	<400> 105		
[1685]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Phe His Gly		
[1686]	1	5	10
[1687]	<210> 106		
[1688]	<211> 11		
[1689]	<212> PRT		
[1690]	<213> 人工序列		
[1691]	<220>		
[1692]	<223> 合成构建体		
[1693]	<400> 106		
[1694]	Thr Asn Arg Ser Phe Tyr Ser Asn Leu His Gly		
[1695]	1	5	10
[1696]	<210> 107		
[1697]	<211> 11		
[1698]	<212> PRT		
[1699]	<213> 人工序列		
[1700]	<220>		
[1701]	<223> 合成构建体		
[1702]	<400> 107		
[1703]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Tyr Leu His Gly		
[1704]	1	5	10
[1705]	<210> 108		
[1706]	<211> 11		
[1707]	<212> PRT		
[1708]	<213> 人工序列		
[1709]	<220>		
[1710]	<223> 合成构建体		
[1711]	<400> 108		
[1712]	Ile Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Leu His Gly		
[1713]	1	5	10
[1714]	<210> 109		
[1715]	<211> 11		

[1716]	<212>	PRT
[1717]	<213>	人工序列
[1718]	<220>	
[1719]	<223>	合成构建体
[1720]	<400>	109
[1721]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Tyr His Gly	
[1722]	1	5 10
[1723]	<210>	110
[1724]	<211>	11
[1725]	<212>	PRT
[1726]	<213>	人工序列
[1727]	<220>	
[1728]	<223>	合成构建体
[1729]	<400>	110
[1730]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Leu Pro Gly	
[1731]	1	5 10
[1732]	<210>	111
[1733]	<211>	11
[1734]	<212>	PRT
[1735]	<213>	人工序列
[1736]	<220>	
[1737]	<223>	合成构建体
[1738]	<400>	111
[1739]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Leu His Gly	
[1740]	1	5 10
[1741]	<210>	112
[1742]	<211>	11
[1743]	<212>	PRT
[1744]	<213>	人工序列
[1745]	<220>	
[1746]	<223>	合成构建体
[1747]	<400>	112
[1748]	Thr Ala Arg Ser Ala Tyr Ser His His His Tyr	
[1749]	1	5 10
[1750]	<210>	113
[1751]	<211>	11
[1752]	<212>	PRT
[1753]	<213>	人工序列
[1754]	<220>	

[1755]	<223>	合成构建体
[1756]	<400>	113
[1757]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ala Asn Tyr His His	
[1758]	1	5 10
[1759]	<210>	114
[1760]	<211>	11
[1761]	<212>	PRT
[1762]	<213>	人工序列
[1763]	<220>	
[1764]	<223>	合成构建体
[1765]	<400>	114
[1766]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asp Leu Pro Gly	
[1767]	1	5 10
[1768]	<210>	115
[1769]	<211>	11
[1770]	<212>	PRT
[1771]	<213>	人工序列
[1772]	<220>	
[1773]	<223>	合成构建体
[1774]	<400>	115
[1775]	Thr His Arg Ser Ala Tyr Ser Asn His Ser Phe	
[1776]	1	5 10
[1777]	<210>	116
[1778]	<211>	11
[1779]	<212>	PRT
[1780]	<213>	人工序列
[1781]	<220>	
[1782]	<223>	合成构建体
[1783]	<400>	116
[1784]	Thr Asn Arg Ser Leu Tyr Ala Asn Phe His Gly	
[1785]	1	5 10
[1786]	<210>	117
[1787]	<211>	11
[1788]	<212>	PRT
[1789]	<213>	人工序列
[1790]	<220>	
[1791]	<223>	合成构建体
[1792]	<400>	117
[1793]	Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Leu Pro Gly	

[1794]	1	5	10
[1795]	<210>	118	
[1796]	<211>	6	
[1797]	<212>	PRT	
[1798]	<213>	人工序列	
[1799]	<220>		
[1800]	<223>	合成构建体	
[1801]	<400>	118	
[1802]	Ser Ser Pro Tyr Val His		
[1803]	1	5	
[1804]	<210>	119	
[1805]	<211>	6	
[1806]	<212>	PRT	
[1807]	<213>	人工序列	
[1808]	<220>		
[1809]	<223>	合成构建体	
[1810]	<400>	119	
[1811]	Asp Gln Ile Tyr Val His		
[1812]	1	5	
[1813]	<210>	120	
[1814]	<211>	7	
[1815]	<212>	PRT	
[1816]	<213>	人工序列	
[1817]	<220>		
[1818]	<223>	合成构建体	
[1819]	<400>	120	
[1820]	Ser Ala Ala Ile Tyr Val His		
[1821]	1	5	
[1822]	<210>	121	
[1823]	<211>	6	
[1824]	<212>	PRT	
[1825]	<213>	人工序列	
[1826]	<220>		
[1827]	<223>	合成构建体	
[1828]	<400>	121	
[1829]	Asn Ser Pro Tyr Val His		
[1830]	1	5	
[1831]	<210>	122	
[1832]	<211>	6	

[1833] <212> PRT
[1834] <213> 人工序列
[1835] <220>
[1836] <223> 合成构建体
[1837] <400> 122
[1838] Asn Asn Ile Tyr Val His
[1839] 1 5
[1840] <210> 123
[1841] <211> 6
[1842] <212> PRT
[1843] <213> 人工序列
[1844] <220>
[1845] <223> 合成构建体
[1846] <400> 123
[1847] Asn Gln Pro Tyr Val His
[1848] 1 5
[1849] <210> 124
[1850] <211> 6
[1851] <212> PRT
[1852] <213> 人工序列
[1853] <220>
[1854] <223> 合成构建体
[1855] <400> 124
[1856] Arg Gln Pro Tyr Val His
[1857] 1 5
[1858] <210> 125
[1859] <211> 5
[1860] <212> PRT
[1861] <213> 人工序列
[1862] <220>
[1863] <223> 合成构建体
[1864] <400> 125
[1865] Glu Leu Tyr Val His
[1866] 1 5
[1867] <210> 126
[1868] <211> 6
[1869] <212> PRT
[1870] <213> 人工序列
[1871] <220>

[1872]	<223>	合成构建体
[1873]	<400>	126
[1874]	Asn Thr Pro Tyr Val His	
[1875]	1	5
[1876]	<210>	127
[1877]	<211>	6
[1878]	<212>	PRT
[1879]	<213>	人工序列
[1880]	<220>	
[1881]	<223>	合成构建体
[1882]	<400>	127
[1883]	Glu Gln Val Tyr Val His	
[1884]	1	5
[1885]	<210>	128
[1886]	<211>	6
[1887]	<212>	PRT
[1888]	<213>	人工序列
[1889]	<220>	
[1890]	<223>	合成构建体
[1891]	<400>	128
[1892]	Asn Gln Val Tyr Val His	
[1893]	1	5
[1894]	<210>	129
[1895]	<211>	11
[1896]	<212>	PRT
[1897]	<213>	人工序列
[1898]	<220>	
[1899]	<223>	合成构建体
[1900]	<400>	129
[1901]	Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Ser Asn Pro Ala	
[1902]	1	5 10
[1903]	<210>	130
[1904]	<211>	11
[1905]	<212>	PRT
[1906]	<213>	人工序列
[1907]	<220>	
[1908]	<223>	合成构建体
[1909]	<400>	130
[1910]	Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Asn Asn Pro Ala	

[1911]	1	5	10
[1912]	<210> 131		
[1913]	<211> 10		
[1914]	<212> PRT		
[1915]	<213> 人工序列		
[1916]	<220>		
[1917]	<223> 合成构建体		
[1918]	<400> 131		
[1919]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[1920]	1	5	10
[1921]	<210> 132		
[1922]	<211> 15		
[1923]	<212> PRT		
[1924]	<213> 人工序列		
[1925]	<220>		
[1926]	<223> 合成构建体		
[1927]	<400> 132		
[1928]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[1929]	1	5	10 15
[1930]	<210> 133		
[1931]	<211> 585		
[1932]	<212> PRT		
[1933]	<213> 人工序列		
[1934]	<220>		
[1935]	<223> 合成构建体		
[1936]	<400> 133		
[1937]	Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu		
[1938]	1	5	10 15
[1939]	Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln		
[1940]	20 25 30		
[1941]	Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu		
[1942]	35 40 45		
[1943]	Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys		
[1944]	50 55 60		
[1945]	Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu		
[1946]	65 70 75 80		
[1947]	Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro		
[1948]	85 90 95		
[1949]	Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu		

[1950]	100	105	110
[1951]	Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His		
[1952]	115	120	125
[1953]	Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg		
[1954]	130	135	140
[1955]	Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg		
[1956]	145	150	155
[1957]	Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala		
[1958]	165	170	175
[1959]	Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser		
[1960]	180	185	190
[1961]	Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu		
[1962]	195	200	205
[1963]	Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro		
[1964]	210	215	220
[1965]	Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys		
[1966]	225	230	235
[1967]	Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp		
[1968]	245	250	255
[1969]	Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser		
[1970]	260	265	270
[1971]	Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His		
[1972]	275	280	285
[1973]	Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser		
[1974]	290	295	300
[1975]	Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala		
[1976]	305	310	315
[1977]	Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg		
[1978]	325	330	335
[1979]	Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr		
[1980]	340	345	350
[1981]	Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu		
[1982]	355	360	365
[1983]	Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro		
[1984]	370	375	380
[1985]	Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu		
[1986]	385	390	395
[1987]	Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro		
[1988]	405	410	415

[1989]	Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[1990]	420 425 430
[1991]	Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[1992]	435 440 445
[1993]	Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[1994]	450 455 460
[1995]	Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[1996]	465 470 475 480
[1997]	Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[1998]	485 490 495
[1999]	Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[2000]	500 505 510
[2001]	Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[2002]	515 520 525
[2003]	Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[2004]	530 535 540
[2005]	Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[2006]	545 550 555 560
[2007]	Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[2008]	565 570 575
[2009]	Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
[2010]	580 585
[2011]	<210> 134
[2012]	<211> 680
[2013]	<212> PRT
[2014]	<213> 人工序列
[2015]	<220>
[2016]	<223> 合成构建体
[2017]	<400> 134
[2018]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr
[2019]	1 5 10 15
[2020]	Trp Ser Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly
[2021]	20 25 30
[2022]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His
[2023]	35 40 45
[2024]	His Ala His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu
[2025]	50 55 60
[2026]	Val Ser Leu Ile Cys Arg Ser Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys
[2027]	65 70 75 80

[2028]	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp
[2029]						85				90					95	
[2030]	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	Glu
[2031]						100				105					110	
[2032]	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln	Gln
[2033]						115				120					125	
[2034]	Ser	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe
[2035]						130				135					140	
[2036]	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser
[2037]	145						150				155					160
[2038]	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg
[2039]							165				170					175
[2040]	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu
[2041]							180				185					190
[2042]	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro
[2043]							195				200					205
[2044]	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp
[2045]							210				215					220
[2046]	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg
[2047]	225						230				235					240
[2048]	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr
[2049]							245				250					255
[2050]	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys
[2051]							260				265					270
[2052]	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser
[2053]							275				280					285
[2054]	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg
[2055]							290				295					300
[2056]	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys
[2057]	305						310				315					320
[2058]	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val
[2059]							325				330					335
[2060]	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg
[2061]							340				345					350
[2062]	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser
[2063]							355				360					365
[2064]	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys
[2065]							370				375					380
[2066]	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu

[2067]	385	390	395	400
[2068]	Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu			
[2069]		405	410	415
[2070]	Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg			
[2071]		420	425	430
[2072]	His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr			
[2073]		435	440	445
[2074]	Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys			
[2075]		450	455	460
[2076]	Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln			
[2077]	465	470	475	480
[2078]	Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr			
[2079]		485	490	495
[2080]	Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln			
[2081]		500	505	510
[2082]	Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val			
[2083]		515	520	525
[2084]	Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala			
[2085]		530	535	540
[2086]	Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu			
[2087]	545	550	555	560
[2088]	Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu			
[2089]		565	570	575
[2090]	Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr			
[2091]		580	585	590
[2092]	Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile			
[2093]		595	600	605
[2094]	Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu			
[2095]		610	615	620
[2096]	Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys			
[2097]	625	630	635	640
[2098]	Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala			
[2099]		645	650	655
[2100]	Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala			
[2101]		660	665	670
[2102]	Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu			
[2103]		675	680	
[2104]	<210> 135			
[2105]	<211> 785			

[2106]	<212>	PRT
[2107]	<213>	人工序列
[2108]	<220>	
[2109]	<223>	合成构建体
[2110]	<400>	135
[2111]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr	
[2112]	1 5 10 15	
[2113]	Trp Ser Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly	
[2114]	20 25 30	
[2115]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His	
[2116]	35 40 45	
[2117]	His Ala His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu	
[2118]	50 55 60	
[2119]	Val Ser Leu Ile Cys Arg Ser Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys	
[2120]	65 70 75 80	
[2121]	Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
[2122]	85 90 95	
[2123]	Gly Gly Gly Ser Arg Leu Asp Ala Pro Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp	
[2124]	100 105 110	
[2125]	Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser Asp Asp Phe Gly Glu	
[2126]	115 120 125	
[2127]	Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp	
[2128]	130 135 140	
[2129]	Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His His Ala His Tyr Ser Ile Gly	
[2130]	145 150 155 160	
[2131]	Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Arg Ser	
[2132]	165 170 175	
[2133]	Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly	
[2134]	180 185 190	
[2135]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala	
[2136]	195 200 205	
[2137]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu	
[2138]	210 215 220	
[2139]	Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val	
[2140]	225 230 235 240	
[2141]	Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp	
[2142]	245 250 255	
[2143]	Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp	
[2144]	260 265 270	

[2145]	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala
[2146]			275					280					285			
[2147]	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln
[2148]			290					295					300			
[2149]	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val
[2150]	305						310				315				320	
[2151]	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys
[2152]					325					330					335	
[2153]	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro
[2154]					340				345					350		
[2155]	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys
[2156]					355				360					365		
[2157]	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu
[2158]					370				375					380		
[2159]	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys
[2160]	385					390					395				400	
[2161]	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val
[2162]					405						410				415	
[2163]	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser
[2164]					420					425				430		
[2165]	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly
[2166]					435				440					445		
[2167]	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile
[2168]					450				455					460		
[2169]	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu
[2170]	465					470					475				480	
[2171]	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp
[2172]					485					490					495	
[2173]	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser
[2174]					500					505				510		
[2175]	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
[2176]					515					520				525		
[2177]	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val
[2178]					530					535				540		
[2179]	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys
[2180]	545					550					555				560	
[2181]	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu
[2182]					565					570					575	
[2183]	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys

[2184]	580	585	590
[2185]	Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu		
[2186]	595	600	605
[2187]	Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val		
[2188]	610	615	620
[2189]	Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His		
[2190]	625	630	635
[2191]	Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val		
[2192]	645	650	655
[2193]	Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg		
[2194]	660	665	670
[2195]	Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe		
[2196]	675	680	685
[2197]	Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala		
[2198]	690	695	700
[2199]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu		
[2200]	705	710	715
[2201]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys		
[2202]	725	730	735
[2203]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala		
[2204]	740	745	750
[2205]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe		
[2206]	755	760	765
[2207]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly		
[2208]	770	775	780
[2209]	Leu		
[2210]	785		
[2211]	<210> 136		
[2212]	<211> 7		
[2213]	<212> PRT		
[2214]	<213> 人工序列		
[2215]	<220>		
[2216]	<223> 合成构建体		
[2217]	<400> 136		
[2218]	Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr		
[2219]	1	5	
[2220]	<210> 137		
[2221]	<211> 8		
[2222]	<212> PRT		

[2223]	<213>	人工序列
[2224]	<220>	
[2225]	<223>	合成构建体
[2226]	<400>	137
[2227]	Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Lys	
[2228]	1	5
[2229]	<210>	138
[2230]	<211>	585
[2231]	<212>	PRT
[2232]	<213>	智人
[2233]	<400>	138
[2234]	Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu	
[2235]	1	5 10 15
[2236]	Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln	
[2237]	20	25 30
[2238]	Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu	
[2239]	35	40 45
[2240]	Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys	
[2241]	50	55 60
[2242]	Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu	
[2243]	65	70 75 80
[2244]	Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro	
[2245]	85	90 95
[2246]	Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu	
[2247]	100	105 110
[2248]	Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His	
[2249]	115	120 125
[2250]	Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg	
[2251]	130	135 140
[2252]	Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg	
[2253]	145	150 155 160
[2254]	Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala	
[2255]	165	170 175
[2256]	Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser	
[2257]	180	185 190
[2258]	Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu	
[2259]	195	200 205
[2260]	Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro	
[2261]	210	215 220

[2262]	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
[2263]	225					230				235						240
[2264]	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp
[2265]					245					250						255
[2266]	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
[2267]				260						265						270
[2268]	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His
[2269]				275						280						285
[2270]	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser
[2271]		290						295					300			
[2272]	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala
[2273]	305					310					315					320
[2274]	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg
[2275]					325					330						335
[2276]	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
[2277]				340						345						350
[2278]	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
[2279]				355						360						365
[2280]	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
[2281]		370						375					380			
[2282]	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu
[2283]	385					390						395				400
[2284]	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro
[2285]					405					410						415
[2286]	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys
[2287]				420						425						430
[2288]	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys
[2289]				435						440				445		
[2290]	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His
[2291]		450						455					460			
[2292]	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser
[2293]	465						470					475				480
[2294]	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr
[2295]					485					490						495
[2296]	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp
[2297]				500						505						510
[2298]	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala
[2299]				515						520						525
[2300]	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu

[2301]	530	535	540
[2302]	Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys		
[2303]	545	550	555 560
[2304]	Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val		
[2305]	565	570	575
[2306]	Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu		
[2307]	580	585	
[2308]	<210> 139		
[2309]	<211> 10		
[2310]	<212> PRT		
[2311]	<213> 人工序列		
[2312]	<220>		
[2313]	<223> 合成构建体		
[2314]	<400> 139		
[2315]	Arg Ser Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala		
[2316]	1 5 10		
[2317]	<210> 140		
[2318]	<211> 10		
[2319]	<212> PRT		
[2320]	<213> 人工序列		
[2321]	<220>		
[2322]	<223> 合成构建体		
[2323]	<220>		
[2324]	<221> 尚未归类的特征		
[2325]	<222> (5) .. (5)		
[2326]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ala, Gly, Leu, Ile和Val		
[2327]	<220>		
[2328]	<221> 尚未归类的特征		
[2329]	<222> (10) .. (10)		
[2330]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ala, Gly, Leu, Ile和Val		
[2331]	<400> 140		
[2332]	Gly Gly Gly Gly Xaa Gly Gly Gly Gly Xaa		
[2333]	1 5 10		
[2334]	<210> 141		
[2335]	<211> 15		
[2336]	<212> PRT		
[2337]	<213> 人工序列		
[2338]	<220>		
[2339]	<223> 合成构建体		

[2340]	<220>
[2341]	<221> 尚未归类的特征
[2342]	<222> (5) .. (5)
[2343]	<223> Xaa是以下项中的任一个: Ala, Gly, Leu, Ile和Val
[2344]	<220>
[2345]	<221> 尚未归类的特征
[2346]	<222> (10) .. (10)
[2347]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ala, Gly, Leu, Ile和Val
[2348]	<220>
[2349]	<221> 尚未归类的特征
[2350]	<222> (15) .. (15)
[2351]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ala, Gly, Leu, Ile和Val
[2352]	<400> 141
[2353]	Gly Gly Gly Gly Xaa Gly Gly Gly Gly Xaa Gly Gly Gly Gly Xaa
[2354]	1 5 10 15
[2355]	<210> 142
[2356]	<211> 10
[2357]	<212> PRT
[2358]	<213> 人工序列
[2359]	<220>
[2360]	<223> 合成构建体
[2361]	<400> 142
[2362]	Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
[2363]	1 5 10
[2364]	<210> 143
[2365]	<211> 15
[2366]	<212> PRT
[2367]	<213> 人工序列
[2368]	<220>
[2369]	<223> 合成构建体
[2370]	<400> 143
[2371]	Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
[2372]	1 5 10 15
[2373]	<210> 144
[2374]	<211> 680
[2375]	<212> PRT
[2376]	<213> 人工序列
[2377]	<220>
[2378]	<223> 合成构建体

[2379]	<400> 144																
[2380]	Ser	Gln	Ile	Glu	Val	Lys	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	
[2381]	1			5			10			15							
[2382]	Trp	Ser	Asp	Asp	Phe	Gly	Glu	Tyr	Val	Trp	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly	
[2383]				20			25			30							
[2384]	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Trp	Tyr	His	
[2385]				35			40			45							
[2386]	His	Ala	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu	
[2387]	50						55			60							
[2388]	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Arg	Ser	Gly	Asp	Met	Ser	Ser	Asn	Pro	Ala	Lys	
[2389]	65			70			75			80							
[2390]	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	
[2391]				85			90			95							
[2392]	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	Glu	
[2393]				100			105			110							
[2394]	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln	Gln	
[2395]	115						120			125							
[2396]	Ser	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe	
[2397]	130						135			140							
[2398]	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	
[2399]	145			150			155			160							
[2400]	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	
[2401]				165			170			175							
[2402]	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	
[2403]				180			185			190							
[2404]	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	
[2405]	195						200			205							
[2406]	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	
[2407]	210						215			220							
[2408]	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	
[2409]	225			230			235			240							
[2410]	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	
[2411]				245			250			255							
[2412]	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	
[2413]				260			265			270							
[2414]	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	
[2415]	275						280			285							
[2416]	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	
[2417]	290						295			300							

[2418]	Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys
[2419]	305 310 315 320
[2420]	Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val
[2421]	325 330 335
[2422]	His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg
[2423]	340 345 350
[2424]	Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser
[2425]	355 360 365
[2426]	Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys
[2427]	370 375 380
[2428]	Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu
[2429]	385 390 395 400
[2430]	Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu
[2431]	405 410 415
[2432]	Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg
[2433]	420 425 430
[2434]	His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr
[2435]	435 440 445
[2436]	Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys
[2437]	450 455 460
[2438]	Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln
[2439]	465 470 475 480
[2440]	Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr
[2441]	485 490 495
[2442]	Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln
[2443]	500 505 510
[2444]	Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val
[2445]	515 520 525
[2446]	Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala
[2447]	530 535 540
[2448]	Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu
[2449]	545 550 555 560
[2450]	Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu
[2451]	565 570 575
[2452]	Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr
[2453]	580 585 590
[2454]	Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile
[2455]	595 600 605
[2456]	Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu

[2457]	610	615	620
[2458]	Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys		
[2459]	625	630	635
[2460]	Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala		
[2461]	645	650	655
[2462]	Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala		
[2463]	660	665	670
[2464]	Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu		
[2465]	675	680	
[2466]	<210> 145		
[2467]	<211> 785		
[2468]	<212> PRT		
[2469]	<213> 人工序列		
[2470]	<220>		
[2471]	<223> 合成构建体		
[2472]	<400> 145		
[2473]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr		
[2474]	1	5	10
[2475]	Trp Ser Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly		
[2476]	20	25	30
[2477]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His		
[2478]	35	40	45
[2479]	His Ala His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[2480]	50	55	60
[2481]	Val Ser Leu Ile Cys Arg Ser Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys		
[2482]	65	70	75
[2483]	Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly		
[2484]	85	90	95
[2485]	Gly Gly Gly Gly Arg Leu Asp Ala Pro Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp		
[2486]	100	105	110
[2487]	Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser Asp Asp Phe Gly Glu		
[2488]	115	120	125
[2489]	Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp		
[2490]	130	135	140
[2491]	Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His His Ala His Tyr Ser Ile Gly		
[2492]	145	150	155
[2493]	Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Arg Ser		
[2494]	165	170	175
[2495]	Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly		

[2496]		180		185		190
[2497]	Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala					
[2498]		195		200		205
[2499]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu					
[2500]		210		215		220
[2501]	Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val					
[2502]	225		230		235	240
[2503]	Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp					
[2504]		245		250		255
[2505]	Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp					
[2506]		260		265		270
[2507]	Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala					
[2508]		275		280		285
[2509]	Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln					
[2510]		290		295		300
[2511]	His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val					
[2512]	305		310		315	320
[2513]	Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys					
[2514]		325		330		335
[2515]	Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro					
[2516]		340		345		350
[2517]	Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys					
[2518]		355		360		365
[2519]	Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu					
[2520]		370		375		380
[2521]	Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys					
[2522]	385		390		395	400
[2523]	Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val					
[2524]		405		410		415
[2525]	Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser					
[2526]		420		425		430
[2527]	Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly					
[2528]		435		440		445
[2529]	Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile					
[2530]		450		455		460
[2531]	Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu					
[2532]	465		470		475	480
[2533]	Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp					
[2534]		485		490		495

[2535]	Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
[2536]	500 505 510
[2537]	Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
[2538]	515 520 525
[2539]	Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
[2540]	530 535 540
[2541]	Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
[2542]	545 550 555 560
[2543]	Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
[2544]	565 570 575
[2545]	Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
[2546]	580 585 590
[2547]	Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
[2548]	595 600 605
[2549]	Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
[2550]	610 615 620
[2551]	Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
[2552]	625 630 635 640
[2553]	Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
[2554]	645 650 655
[2555]	Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
[2556]	660 665 670
[2557]	Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
[2558]	675 680 685
[2559]	Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
[2560]	690 695 700
[2561]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
[2562]	705 710 715 720
[2563]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
[2564]	725 730 735
[2565]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
[2566]	740 745 750
[2567]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
[2568]	755 760 765
[2569]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
[2570]	770 775 780
[2571]	Leu
[2572]	785
[2573]	<210> 146

[2574]	<211> 83
[2575]	<212> PRT
[2576]	<213> 人工序列
[2577]	<220>
[2578]	<223> 合成构建体
[2579]	<400> 146
[2580]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser
[2581]	1 5 10 15
[2582]	Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[2583]	20 25 30
[2584]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His His Ala
[2585]	35 40 45
[2586]	His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[2587]	50 55 60
[2588]	Leu Ile Cys Arg Ser Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr
[2589]	65 70 75 80
[2590]	Phe Thr Thr
[2591]	<210> 147
[2592]	<211> 5
[2593]	<212> PRT
[2594]	<213> 人工序列
[2595]	<220>
[2596]	<223> 合成构建体
[2597]	<220>
[2598]	<221> 尚未归类的特征
[2599]	<222> (5) .. (5)
[2600]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ser, Ala, Gly, Leu, Ile, 和Val
[2601]	<400> 147
[2602]	Gly Gly Gly Gly Xaa
[2603]	1 5
[2604]	<210> 148
[2605]	<211> 5
[2606]	<212> PRT
[2607]	<213> 人工序列
[2608]	<220>
[2609]	<223> 合成构建体
[2610]	<400> 148
[2611]	Gly Gly Gly Gly Ser
[2612]	1 5

[2613]	<210>	149	
[2614]	<211>	5	
[2615]	<212>	PRT	
[2616]	<213>	人工序列	
[2617]	<220>		
[2618]	<223>	合成构建体	
[2619]	<400>	149	
[2620]	Gly Gly Gly Gly Gly		
[2621]	1	5	
[2622]	<210>	150	
[2623]	<211>	5	
[2624]	<212>	PRT	
[2625]	<213>	人工序列	
[2626]	<220>		
[2627]	<223>	合成构建体	
[2628]	<400>	150	
[2629]	Gly Gly Gly Gly Ala		
[2630]	1	5	
[2631]	<210>	151	
[2632]	<211>	8	
[2633]	<212>	PRT	
[2634]	<213>	人工序列	
[2635]	<220>		
[2636]	<223>	合成构建体	
[2637]	<400>	151	
[2638]	His His His His His His His His		
[2639]	1	5	
[2640]	<210>	152	
[2641]	<211>	13	
[2642]	<212>	PRT	
[2643]	<213>	人工序列	
[2644]	<220>		
[2645]	<223>	合成构建体	
[2646]	<400>	152	
[2647]	Gly Gly Gly Gly Ser His His His His His His His His		
[2648]	1	5	10
[2649]	<210>	153	
[2650]	<211>	584	
[2651]	<212>	PRT	

[2652]	<213> mus muscus															
[2653]	<400> 153															
[2654]	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	Ala	His	Arg	Tyr	Asn	Asp	Leu	Gly	Glu
[2655]	1				5					10					15	
[2656]	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ser	Gln	Tyr	Leu	Gln
[2657]				20					25				30			
[2658]	Lys	Cys	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala	Lys	Leu	Val	Gln	Glu	Val	Thr	Asp
[2659]			35					40					45			
[2660]	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp	Lys
[2661]		50					55					60				
[2662]	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn	Leu
[2663]	65					70					75				80	
[2664]	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala	Asp	Cys	Cys	Thr	Lys	Gln	Glu	Pro
[2665]				85					90					95		
[2666]	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Ser	Leu
[2667]				100					105					110		
[2668]	Pro	Pro	Phe	Glu	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Ala	Met	Cys	Thr	Ser	Phe	Lys
[2669]			115					120					125			
[2670]	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly	His	Tyr	Leu	His	Glu	Val	Ala	Arg
[2671]		130					135					140				
[2672]	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Gln
[2673]	145					150				155					160	
[2674]	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	Cys	Cys	Ala	Glu	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser
[2675]				165					170					175		
[2676]	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	Gly	Val	Lys	Glu	Lys	Ala	Leu	Val	Ser
[2677]			180					185						190		
[2678]	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met	Lys	Cys	Ser	Ser	Met	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu
[2679]			195				200						205			
[2680]	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro
[2681]		210					215					220				
[2682]	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
[2683]	225					230					235				240	
[2684]	Val	Asn	Lys	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp
[2685]				245					250					255		
[2686]	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr	Met	Cys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser
[2687]			260					265						270		
[2688]	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys	Cys	Asp	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His
[2689]			275					280					285			
[2690]	Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala

[2691]	290	295	300
[2692]	Ile Ala Ala Asp Phe Val Glu Asp Gln Glu Val Cys Lys Asn Tyr Ala		
[2693]	305	310	315
[2694]	Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Thr Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg		
[2695]	325	330	335
[2696]	Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Lys		
[2697]	340	345	350
[2698]	Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Glu Ala Asn Pro Pro Ala		
[2699]	355	360	365
[2700]	Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu Phe Gln Pro Leu Val Glu Glu Pro		
[2701]	370	375	380
[2702]	Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys Asp Leu Tyr Glu Lys Leu Gly Glu		
[2703]	385	390	395
[2704]	Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile Leu Val Arg Tyr Thr Gln Lys Ala Pro		
[2705]	405	410	415
[2706]	Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Ala Ala Arg Asn Leu Gly Arg		
[2707]	420	425	430
[2708]	Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr Leu Pro Glu Asp Gln Arg Leu Pro Cys		
[2709]	435	440	445
[2710]	Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala Ile Leu Asn Arg Val Cys Leu Leu His		
[2711]	450	455	460
[2712]	Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu His Val Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser		
[2713]	465	470	475
[2714]	Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Thr Val Asp Glu Thr		
[2715]	485	490	495
[2716]	Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ser Asp		
[2717]	500	505	510
[2718]	Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys Glu Lys Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala		
[2719]	515	520	525
[2720]	Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Ala Glu Gln Leu		
[2721]	530	535	540
[2722]	Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala Gln Phe Leu Asp Thr Cys Cys Lys		
[2723]	545	550	555
[2724]	Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys Phe Ser Thr Glu Gly Pro Asn Leu Val		
[2725]	565	570	575
[2726]	Thr Arg Cys Lys Asp Ala Leu Ala		
[2727]	580		
[2728]	<210> 154		
[2729]	<211> 584		

[2730]	<212>	PRT
[2731]	<213>	人工序列
[2732]	<220>	
[2733]	<223>	合成构建体
[2734]	<400>	154
[2735]	Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu	
[2736]	1 5 10 15	
[2737]	Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln	
[2738]	20 25 30	
[2739]	Lys Ser Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu Val Gln Glu Val Thr Asp	
[2740]	35 40 45	
[2741]	Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Ala Asn Cys Asp Lys	
[2742]	50 55 60	
[2743]	Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Ala Ile Pro Asn Leu	
[2744]	65 70 75 80	
[2745]	Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys Thr Lys Gln Glu Pro	
[2746]	85 90 95	
[2747]	Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Ser Leu	
[2748]	100 105 110	
[2749]	Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala Met Cys Thr Ser Phe Lys	
[2750]	115 120 125	
[2751]	Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly His Tyr Leu His Glu Val Ala Arg	
[2752]	130 135 140	
[2753]	Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala Glu Gln	
[2754]	145 150 155 160	
[2755]	Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln Cys Cys Ala Glu Ala Asp Lys Glu Ser	
[2756]	165 170 175	
[2757]	Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Gly Val Lys Glu Lys Ala Leu Val Ser	
[2758]	180 185 190	
[2759]	Ser Val Arg Gln Arg Met Lys Cys Ser Ser Met Gln Lys Phe Gly Glu	
[2760]	195 200 205	
[2761]	Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Thr Phe Pro	
[2762]	210 215 220	
[2763]	Asn Ala Asp Phe Ala Glu Ile Thr Lys Leu Ala Thr Asp Leu Thr Lys	
[2764]	225 230 235 240	
[2765]	Val Asn Lys Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp	
[2766]	245 250 255	
[2767]	Arg Ala Glu Leu Ala Lys Tyr Met Cys Glu Asn Gln Ala Thr Ile Ser	
[2768]	260 265 270	

[2769]	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys	Cys	Asp	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His
[2770]			275					280					285			
[2771]	Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala
[2772]			290					295					300			
[2773]	Ile	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Asp	Gln	Glu	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala
[2774]	305						310					315				320
[2775]	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Thr	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg
[2776]					325					330					335	
[2777]	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Lys
[2778]				340					345					350		
[2779]	Tyr	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Glu	Ala	Asn	Pro	Pro	Ala
[2780]			355					360					365			
[2781]	Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Glu	Phe	Gln	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
[2782]			370					375				380				
[2783]	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Cys	Asp	Leu	Tyr	Glu	Lys	Leu	Gly	Glu
[2784]	385					390					395					400
[2785]	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ala	Pro
[2786]				405						410					415	
[2787]	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Ala	Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Arg
[2788]				420						425				430		
[2789]	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Asp	Gln	Arg	Leu	Pro	Cys
[2790]			435					440					445			
[2791]	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ile	Leu	Asn	Arg	Val	Cys	Leu	Leu	His
[2792]		450					455					460				
[2793]	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	His	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser
[2794]	465					470					475					480
[2795]	Leu	Val	Glu	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr
[2796]				485						490					495	
[2797]	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Lys	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp
[2798]				500					505					510		
[2799]	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Lys	Glu	Lys	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala
[2800]			515					520						525		
[2801]	Leu	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu
[2802]		530					535						540			
[2803]	Lys	Thr	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Gln	Phe	Leu	Asp	Thr	Cys	Cys	Lys
[2804]	545					550					555					560
[2805]	Ala	Ala	Asp	Lys	Asp	Thr	Cys	Phe	Ser	Thr	Glu	Gly	Pro	Asn	Leu	Val
[2806]					565					570					575	
[2807]	Thr	Arg	Ser	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala								

[2808]	580
[2809]	<210> 155
[2810]	<211> 84
[2811]	<212> PRT
[2812]	<213> 人工序列
[2813]	<220>
[2814]	<223> 合成构建体
[2815]	<400> 155
[2816]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp His
[2817]	1 5 10 15
[2818]	Asp Ala Phe Gly Tyr Asp Phe Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[2819]	20 25 30
[2820]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His Phe His
[2821]	35 40 45
[2822]	Asn Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[2823]	50 55 60
[2824]	Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Asn Pro Ala Lys Glu
[2825]	65 70 75 80
[2826]	Thr Phe Thr Thr
[2827]	<210> 156
[2828]	<211> 84
[2829]	<212> PRT
[2830]	<213> 人工序列
[2831]	<220>
[2832]	<223> 合成构建体
[2833]	<400> 156
[2834]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp His
[2835]	1 5 10 15
[2836]	Asp Ala Phe Gly Tyr Asp Phe Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[2837]	20 25 30
[2838]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His Phe His
[2839]	35 40 45
[2840]	Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[2841]	50 55 60
[2842]	Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Asn Pro Ala Lys Glu
[2843]	65 70 75 80
[2844]	Thr Phe Thr Thr
[2845]	<210> 157
[2846]	<211> 183

[2847]	<212>	PRT
[2848]	<213>	人工序列
[2849]	<220>	
[2850]	<223>	合成构建体
[2851]	<400>	157
[2852]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr	
[2853]	1 5 10 15	
[2854]	Trp His Asp Ala Phe Gly Tyr Asp Phe Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly	
[2855]	20 25 30	
[2856]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His	
[2857]	35 40 45	
[2858]	Phe His Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu	
[2859]	50 55 60	
[2860]	Val Ser Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Asn Pro Ala	
[2861]	65 70 75 80	
[2862]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Arg Leu Asp Ala	
[2863]	85 90 95	
[2864]	Pro Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile	
[2865]	100 105 110	
[2866]	Thr Trp His Asp Ala Phe Gly Tyr Asp Phe Gly Cys Glu Leu Thr Tyr	
[2867]	115 120 125	
[2868]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp	
[2869]	130 135 140	
[2870]	His Phe His Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr	
[2871]	145 150 155 160	
[2872]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Asn Pro	
[2873]	165 170 175	
[2874]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr	
[2875]	180	
[2876]	<210>	158
[2877]	<211>	685
[2878]	<212>	PRT
[2879]	<213>	人工序列
[2880]	<220>	
[2881]	<223>	合成构建体
[2882]	<400>	158
[2883]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr	
[2884]	1 5 10 15	
[2885]	Trp His Asp Ala Phe Gly Tyr Asp Phe Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly	

[2886]	20	25	30
[2887]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His		
[2888]	35	40	45
[2889]	Phe His Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[2890]	50	55	60
[2891]	Val Ser Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Asn Pro Ala		
[2892]	65	70	75
[2893]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[2894]	85	90	95
[2895]	Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg Tyr		
[2896]	100	105	110
[2897]	Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala Phe		
[2898]	115	120	125
[2899]	Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Ser Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu Val		
[2900]	130	135	140
[2901]	Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala		
[2902]	145	150	155
[2903]	Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys		
[2904]	165	170	175
[2905]	Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys Cys		
[2906]	180	185	190
[2907]	Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp		
[2908]	195	200	205
[2909]	Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala Met		
[2910]	210	215	220
[2911]	Cys Thr Ser Phe Lys Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly His Tyr Leu		
[2912]	225	230	235
[2913]	His Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu		
[2914]	245	250	255
[2915]	Tyr Tyr Ala Glu Gln Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln Cys Cys Ala Glu		
[2916]	260	265	270
[2917]	Ala Asp Lys Glu Ser Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Gly Val Lys Glu		
[2918]	275	280	285
[2919]	Lys Ala Leu Val Ser Ser Val Arg Gln Arg Met Lys Cys Ser Ser Met		
[2920]	290	295	300
[2921]	Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu		
[2922]	305	310	315
[2923]	Ser Gln Thr Phe Pro Asn Ala Asp Phe Ala Glu Ile Thr Lys Leu Ala		
[2924]	325	330	335

[2925]	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu
[2926]				340					345					350		
[2927]	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr	Met	Cys	Glu	Asn
[2928]			355					360					365			
[2929]	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys	Cys	Asp	Lys	Pro	Leu
[2930]		370					375					380				
[2931]	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro
[2932]	385					390					395					400
[2933]	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Asp	Gln	Glu	Val
[2934]				405					410					415		
[2935]	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Thr	Phe	Leu
[2936]			420					425					430			
[2937]	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser	Leu	Leu	Leu
[2938]			435				440						445			
[2939]	Arg	Leu	Ala	Lys	Lys	Tyr	Glu	Ala	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Glu
[2940]		450					455				460					
[2941]	Ala	Asn	Pro	Pro	Ala	Cys	Tyr	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Glu	Phe	Gln	Pro
[2942]	465					470				475						480
[2943]	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Cys	Asp	Leu	Tyr
[2944]				485					490					495		
[2945]	Glu	Lys	Leu	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu	Val	Arg	Tyr
[2946]			500					505					510			
[2947]	Thr	Gln	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Ala	Ala
[2948]			515				520						525			
[2949]	Arg	Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Asp
[2950]		530					535					540				
[2951]	Gln	Arg	Leu	Pro	Cys	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ile	Leu	Asn	Arg
[2952]	545					550				555						560
[2953]	Val	Cys	Leu	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	His	Val	Thr	Lys
[2954]				565				570					575			
[2955]	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu
[2956]			580					585					590			
[2957]	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Lys	Ala	Glu	Thr	Phe
[2958]			595					600					605			
[2959]	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Lys	Glu	Lys	Gln	Ile
[2960]		610					615					620				
[2961]	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala
[2962]	625					630					635					640
[2963]	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Gln	Phe	Leu

[2964]		645		650		655
[2965]	Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys Phe Ser Thr Glu					
[2966]		660		665		670
[2967]	Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg Ser Lys Asp Ala Leu Ala					
[2968]		675		680		685
[2969]	<210> 159					
[2970]	<211> 782					
[2971]	<212> PRT					
[2972]	<213> 人工序列					
[2973]	<220>					
[2974]	<223> 合成构建体					
[2975]	<400> 159					
[2976]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr					
[2977]	1	5		10		15
[2978]	Trp His Asp Ala Phe Gly Tyr Asp Phe Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly					
[2979]		20		25		30
[2980]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His					
[2981]		35		40		45
[2982]	Phe His Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu					
[2983]		50		55		60
[2984]	Val Ser Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Asn Pro Ala					
[2985]	65	70		75		80
[2986]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Arg Leu Asp Ala					
[2987]		85		90		95
[2988]	Pro Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile					
[2989]		100		105		110
[2990]	Thr Trp His Asp Ala Phe Gly Tyr Asp Phe Gly Cys Glu Leu Thr Tyr					
[2991]		115		120		125
[2992]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp					
[2993]		130		135		140
[2994]	His Phe His Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr					
[2995]	145	150		155		160
[2996]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Asn Pro					
[2997]		165		170		175
[2998]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly					
[2999]		180		185		190
[3000]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala His Arg					
[3001]		195		200		205
[3002]	Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu Ile Ala					

[3003]	210	215	220
[3004]	Phe Ser Gln Tyr Leu Gln Lys Ser Ser Tyr Asp Glu His Ala Lys Leu		
[3005]	225	230	235 240
[3006]	Val Gln Glu Val Thr Asp Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser		
[3007]	245	250	255
[3008]	Ala Ala Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu		
[3009]	260	265	270
[3010]	Cys Ala Ile Pro Asn Leu Arg Glu Asn Tyr Gly Glu Leu Ala Asp Cys		
[3011]	275	280	285
[3012]	Cys Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys		
[3013]	290	295	300
[3014]	Asp Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala		
[3015]	305	310	315 320
[3016]	Met Cys Thr Ser Phe Lys Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly His Tyr		
[3017]	325	330	335
[3018]	Leu His Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu		
[3019]	340	345	350
[3020]	Leu Tyr Tyr Ala Glu Gln Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln Cys Cys Ala		
[3021]	355	360	365
[3022]	Glu Ala Asp Lys Glu Ser Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Gly Val Lys		
[3023]	370	375	380
[3024]	Glu Lys Ala Leu Val Ser Ser Val Arg Gln Arg Met Lys Cys Ser Ser		
[3025]	385	390	395 400
[3026]	Met Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg		
[3027]	405	410	415
[3028]	Leu Ser Gln Thr Phe Pro Asn Ala Asp Phe Ala Glu Ile Thr Lys Leu		
[3029]	420	425	430
[3030]	Ala Thr Asp Leu Thr Lys Val Asn Lys Glu Cys Cys His Gly Asp Leu		
[3031]	435	440	445
[3032]	Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Glu Leu Ala Lys Tyr Met Cys Glu		
[3033]	450	455	460
[3034]	Asn Gln Ala Thr Ile Ser Ser Lys Leu Gln Thr Cys Cys Asp Lys Pro		
[3035]	465	470	475 480
[3036]	Leu Leu Lys Lys Ala His Cys Leu Ser Glu Val Glu His Asp Thr Met		
[3037]	485	490	495
[3038]	Pro Ala Asp Leu Pro Ala Ile Ala Ala Asp Phe Val Glu Asp Gln Glu		
[3039]	500	505	510
[3040]	Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Thr Phe		
[3041]	515	520	525

[3042]	Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser Leu Leu
[3043]	530 535 540
[3044]	Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala
[3045]	545 550 555 560
[3046]	Glu Ala Asn Pro Pro Ala Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu Phe Gln
[3047]	565 570 575
[3048]	Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys Asp Leu
[3049]	580 585 590
[3050]	Tyr Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile Leu Val Arg
[3051]	595 600 605
[3052]	Tyr Thr Gln Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Ala
[3053]	610 615 620
[3054]	Ala Arg Asn Leu Gly Arg Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr Leu Pro Glu
[3055]	625 630 635 640
[3056]	Asp Gln Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala Ile Leu Asn
[3057]	645 650 655
[3058]	Arg Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu His Val Thr
[3059]	660 665 670
[3060]	Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
[3061]	675 680 685
[3062]	Leu Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala Glu Thr
[3063]	690 695 700
[3064]	Phe Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys Glu Lys Gln
[3065]	705 710 715 720
[3066]	Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
[3067]	725 730 735
[3068]	Ala Thr Ala Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala Gln Phe
[3069]	740 745 750
[3070]	Leu Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys Phe Ser Thr
[3071]	755 760 765
[3072]	Glu Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg Ser Lys Asp Ala Leu Ala
[3073]	770 775 780
[3074]	<210> 160
[3075]	<211> 84
[3076]	<212> PRT
[3077]	<213> 人工序列
[3078]	<220>
[3079]	<223> 合成构建体
[3080]	<400> 160

[3081]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp His
[3082]	1 5 10 15
[3083]	Asp Pro Ser Gly Tyr Asp Phe Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[3084]	20 25 30
[3085]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His Phe His
[3086]	35 40 45
[3087]	Asn Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[3088]	50 55 60
[3089]	Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Tyr Pro Ala Lys Glu
[3090]	65 70 75 80
[3091]	Thr Phe Thr Thr
[3092]	<210> 161
[3093]	<211> 84
[3094]	<212> PRT
[3095]	<213> 人工序列
[3096]	<220>
[3097]	<223> 合成构建体
[3098]	<400> 161
[3099]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp His
[3100]	1 5 10 15
[3101]	Asp Pro Ser Gly Tyr Asp Phe Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
[3102]	20 25 30
[3103]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His Phe His
[3104]	35 40 45
[3105]	Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[3106]	50 55 60
[3107]	Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Tyr Pro Ala Lys Glu
[3108]	65 70 75 80
[3109]	Thr Phe Thr Thr
[3110]	<210> 162
[3111]	<211> 183
[3112]	<212> PRT
[3113]	<213> 人工序列
[3114]	<220>
[3115]	<223> 合成构建体
[3116]	<400> 162
[3117]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr
[3118]	1 5 10 15
[3119]	Trp His Asp Pro Ser Gly Tyr Asp Phe Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly

[3120]	20	25	30
[3121]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His		
[3122]	35	40	45
[3123]	Phe His Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[3124]	50	55	60
[3125]	Val Ser Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Tyr Pro Ala		
[3126]	65	70	75
[3127]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Arg Leu Asp Ala		
[3128]	85	90	95
[3129]	Pro Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile		
[3130]	100	105	110
[3131]	Thr Trp His Asp Pro Ser Gly Tyr Asp Phe Trp Cys Glu Leu Thr Tyr		
[3132]	115	120	125
[3133]	Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp		
[3134]	130	135	140
[3135]	His Phe His Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr		
[3136]	145	150	155
[3137]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Tyr Pro		
[3138]	165	170	175
[3139]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr		
[3140]	180		
[3141]	<210> 163		
[3142]	<211> 685		
[3143]	<212> PRT		
[3144]	<213> 人工序列		
[3145]	<220>		
[3146]	<223> 合成构建体		
[3147]	<400> 163		
[3148]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr		
[3149]	1	5	10
[3150]	Trp His Asp Pro Ser Gly Tyr Asp Phe Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly		
[3151]	20	25	30
[3152]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Pro Asp His		
[3153]	35	40	45
[3154]	Phe His Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[3155]	50	55	60
[3156]	Val Ser Leu Ile Cys Ala Asn Asp His Gly Phe Asp Ser Tyr Pro Ala		
[3157]	65	70	75
[3158]	Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		

[3159]					85					90					95				
[3160]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	Ala	His	Arg	Tyr			
[3161]					100					105					110				
[3162]	Asn	Asp	Leu	Gly	Glu	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe			
[3163]				115					120					125					
[3164]	Ser	Gln	Tyr	Leu	Gln	Lys	Ser	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala	Lys	Leu	Val			
[3165]		130					135					140							
[3166]	Gln	Glu	Val	Thr	Asp	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala			
[3167]	145					150				155				160					
[3168]	Ala	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys			
[3169]				165					170				175						
[3170]	Ala	Ile	Pro	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala	Asp	Cys	Cys			
[3171]				180					185				190						
[3172]	Thr	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp			
[3173]			195					200				205							
[3174]	Asp	Asn	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Phe	Glu	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Ala	Met			
[3175]		210					215				220								
[3176]	Cys	Thr	Ser	Phe	Lys	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly	His	Tyr	Leu			
[3177]	225					230				235			240						
[3178]	His	Glu	Val	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu			
[3179]				245					250			255							
[3180]	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Gln	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	Cys	Cys	Ala	Glu			
[3181]			260					265			270								
[3182]	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	Gly	Val	Lys	Glu			
[3183]		275						280			285								
[3184]	Lys	Ala	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met	Lys	Cys	Ser	Ser	Met			
[3185]		290					295				300								
[3186]	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu			
[3187]	305					310				315			320						
[3188]	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Ala			
[3189]				325					330			335							
[3190]	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu			
[3191]			340					345			350								
[3192]	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr	Met	Cys	Glu	Asn			
[3193]			355					360			365								
[3194]	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys	Cys	Asp	Lys	Pro	Leu			
[3195]		370					375				380								
[3196]	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Glu	His	Asp	Thr	Met	Pro			
[3197]	385					390				395			400						

[3198]	Ala Asp Leu Pro Ala Ile Ala Ala Asp Phe Val Glu Asp Gln Glu Val
[3199]	405 410 415
[3200]	Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Thr Phe Leu
[3201]	420 425 430
[3202]	Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser Leu Leu Leu
[3203]	435 440 445
[3204]	Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Glu
[3205]	450 455 460
[3206]	Ala Asn Pro Pro Ala Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu Phe Gln Pro
[3207]	465 470 475 480
[3208]	Leu Val Glu Glu Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys Asp Leu Tyr
[3209]	485 490 495
[3210]	Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile Leu Val Arg Tyr
[3211]	500 505 510
[3212]	Thr Gln Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Ala Ala
[3213]	515 520 525
[3214]	Arg Asn Leu Gly Arg Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr Leu Pro Glu Asp
[3215]	530 535 540
[3216]	Gln Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala Ile Leu Asn Arg
[3217]	545 550 555 560
[3218]	Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu His Val Thr Lys
[3219]	565 570 575
[3220]	Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu
[3221]	580 585 590
[3222]	Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala Glu Thr Phe
[3223]	595 600 605
[3224]	Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys Glu Lys Gln Ile
[3225]	610 615 620
[3226]	Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala
[3227]	625 630 635 640
[3228]	Thr Ala Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala Gln Phe Leu
[3229]	645 650 655
[3230]	Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys Phe Ser Thr Glu
[3231]	660 665 670
[3232]	Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg Ser Lys Asp Ala Leu Ala
[3233]	675 680 685
[3234]	<210> 164
[3235]	<211> 782
[3236]	<212> PRT

[3237]	<213> 人工序列															
[3238]	<220>															
[3239]	<223> 合成构建体															
[3240]	<400> 164															
[3241]	Ser	Gln	Ile	Glu	Val	Lys	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr
[3242]	1				5					10					15	
[3243]	Trp	His	Asp	Pro	Ser	Gly	Tyr	Asp	Phe	Trp	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly
[3244]					20				25					30		
[3245]	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Pro	Asp	His
[3246]				35				40					45			
[3247]	Phe	His	Gln	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu
[3248]		50					55				60					
[3249]	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Ala	Asn	Asp	His	Gly	Phe	Asp	Ser	Tyr	Pro	Ala
[3250]	65					70				75					80	
[3251]	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Leu	Asp	Ala
[3252]					85				90					95		
[3253]	Pro	Ser	Gln	Ile	Glu	Val	Lys	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile
[3254]				100				105						110		
[3255]	Thr	Trp	His	Asp	Pro	Ser	Gly	Tyr	Asp	Phe	Trp	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr
[3256]			115				120					125				
[3257]	Gly	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Pro	Asp
[3258]		130					135					140				
[3259]	His	Phe	His	Gln	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr
[3260]	145					150				155					160	
[3261]	Glu	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Ala	Asn	Asp	His	Gly	Phe	Asp	Ser	Tyr	Pro
[3262]				165				170						175		
[3263]	Ala	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
[3264]			180					185					190			
[3265]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Ile	Ala	His	Arg
[3266]			195				200					205				
[3267]	Tyr	Asn	Asp	Leu	Gly	Glu	Gln	His	Phe	Lys	Gly	Leu	Val	Leu	Ile	Ala
[3268]		210					215					220				
[3269]	Phe	Ser	Gln	Tyr	Leu	Gln	Lys	Ser	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala	Lys	Leu
[3270]	225					230				235					240	
[3271]	Val	Gln	Glu	Val	Thr	Asp	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser
[3272]				245				250						255		
[3273]	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu
[3274]				260				265					270			
[3275]	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala	Asp	Cys

[3276]	275	280	285
[3277]	Cys Thr Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys		
[3278]	290	295	300
[3279]	Asp Asp Asn Pro Ser Leu Pro Pro Phe Glu Arg Pro Glu Ala Glu Ala		
[3280]	305	310	315
[3281]	Met Cys Thr Ser Phe Lys Glu Asn Pro Thr Thr Phe Met Gly His Tyr		
[3282]	325	330	335
[3283]	Leu His Glu Val Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu		
[3284]	340	345	350
[3285]	Leu Tyr Tyr Ala Glu Gln Tyr Asn Glu Ile Leu Thr Gln Cys Cys Ala		
[3286]	355	360	365
[3287]	Glu Ala Asp Lys Glu Ser Cys Leu Thr Pro Lys Leu Asp Gly Val Lys		
[3288]	370	375	380
[3289]	Glu Lys Ala Leu Val Ser Ser Val Arg Gln Arg Met Lys Cys Ser Ser		
[3290]	385	390	395
[3291]	Met Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg		
[3292]	405	410	415
[3293]	Leu Ser Gln Thr Phe Pro Asn Ala Asp Phe Ala Glu Ile Thr Lys Leu		
[3294]	420	425	430
[3295]	Ala Thr Asp Leu Thr Lys Val Asn Lys Glu Cys Cys His Gly Asp Leu		
[3296]	435	440	445
[3297]	Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Glu Leu Ala Lys Tyr Met Cys Glu		
[3298]	450	455	460
[3299]	Asn Gln Ala Thr Ile Ser Ser Lys Leu Gln Thr Cys Cys Asp Lys Pro		
[3300]	465	470	475
[3301]	Leu Leu Lys Lys Ala His Cys Leu Ser Glu Val Glu His Asp Thr Met		
[3302]	485	490	495
[3303]	Pro Ala Asp Leu Pro Ala Ile Ala Ala Asp Phe Val Glu Asp Gln Glu		
[3304]	500	505	510
[3305]	Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Thr Phe		
[3306]	515	520	525
[3307]	Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Ser Leu Leu		
[3308]	530	535	540
[3309]	Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala		
[3310]	545	550	555
[3311]	Glu Ala Asn Pro Pro Ala Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu Phe Gln		
[3312]	565	570	575
[3313]	Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys Asp Leu		
[3314]	580	585	590

[3315]	Tyr	Glu	Lys	Leu	Gly	Glu	Tyr	Gly	Phe	Gln	Asn	Ala	Ile	Leu	Val	Arg
[3316]				595					600					605		
[3317]	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Ala
[3318]			610					615					620			
[3319]	Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu
[3320]	625					630					635					640
[3321]	Asp	Gln	Arg	Leu	Pro	Cys	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ile	Leu	Asn
[3322]					645					650					655	
[3323]	Arg	Val	Cys	Leu	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	His	Val	Thr
[3324]				660						665					670	
[3325]	Lys	Cys	Cys	Ser	Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala
[3326]			675						680					685		
[3327]	Leu	Thr	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Lys	Ala	Glu	Thr
[3328]		690						695				700				
[3329]	Phe	Thr	Phe	His	Ser	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Pro	Glu	Lys	Glu	Lys	Gln
[3330]	705					710					715					720
[3331]	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys
[3332]					725					730					735	
[3333]	Ala	Thr	Ala	Glu	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Gln	Phe
[3334]				740						745				750		
[3335]	Leu	Asp	Thr	Cys	Cys	Lys	Ala	Ala	Asp	Lys	Asp	Thr	Cys	Phe	Ser	Thr
[3336]			755						760					765		
[3337]	Glu	Gly	Pro	Asn	Leu	Val	Thr	Arg	Ser	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala		
[3338]		770						775					780			
[3339]	<210> 165															
[3340]	<211> 86															
[3341]	<212> PRT															
[3342]	<213> 人工序列															
[3343]	<220>															
[3344]	<223> 合成构建体															
[3345]	<400> 165															
[3346]	Ile	Glu	Val	Lys	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp	Ser
[3347]	1				5					10					15	
[3348]	Pro	Gly	Glu	Arg	Ile	Trp	Met	Phe	Thr	Gly	Cys	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly
[3349]				20						25				30		
[3350]	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Thr	Glu	Asp
[3351]			35					40					45			
[3352]	Glu	Asn	Gln	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu
[3353]		50						55					60			

[3354]	Val Ser Leu Ile Cys Pro Asn Tyr Glu Arg Ile Ser Asn Pro Ala Lys
[3355]	65 70 75 80
[3356]	Glu Thr Phe Thr Thr Thr
[3357]	85
[3358]	<210> 166
[3359]	<211> 784
[3360]	<212> PRT
[3361]	<213> 人工序列
[3362]	<220>
[3363]	<223> 合成构建体
[3364]	<400> 166
[3365]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr
[3366]	1 5 10 15
[3367]	Trp Ser Pro Gly Glu Arg Ile Trp Met Phe Thr Gly Cys Glu Leu Thr
[3368]	20 25 30
[3369]	Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Thr
[3370]	35 40 45
[3371]	Glu Asp Glu Asn Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu
[3372]	50 55 60
[3373]	Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Pro Asn Tyr Glu Arg Ile Ser Asn Pro
[3374]	65 70 75 80
[3375]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Arg Leu Asp
[3376]	85 90 95
[3377]	Ala Pro Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu
[3378]	100 105 110
[3379]	Ile Thr Trp Ser Pro Gly Glu Arg Ile Trp Met Phe Thr Gly Cys Glu
[3380]	115 120 125
[3381]	Leu Thr Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp
[3382]	130 135 140
[3383]	Leu Thr Glu Asp Glu Asn Gln Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp
[3384]	145 150 155 160
[3385]	Thr Glu Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Pro Asn Tyr Glu Arg Ile Ser
[3386]	165 170 175
[3387]	Asn Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[3388]	180 185 190
[3389]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ala His Lys Ser Glu Ile Ala
[3390]	195 200 205
[3391]	His Arg Tyr Asn Asp Leu Gly Glu Gln His Phe Lys Gly Leu Val Leu
[3392]	210 215 220

[3393]	Ile	Ala	Phe	Ser	Gln	Tyr	Leu	Gln	Lys	Ser	Ser	Tyr	Asp	Glu	His	Ala
[3394]	225						230				235					240
[3395]	Lys	Leu	Val	Gln	Glu	Val	Thr	Asp	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp
[3396]					245					250					255	
[3397]	Glu	Ser	Ala	Ala	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp
[3398]				260					265					270		
[3399]	Lys	Leu	Cys	Ala	Ile	Pro	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Gly	Glu	Leu	Ala
[3400]		275						280					285			
[3401]	Asp	Cys	Cys	Thr	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln
[3402]		290					295					300				
[3403]	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Phe	Glu	Arg	Pro	Glu	Ala
[3404]	305					310					315					320
[3405]	Glu	Ala	Met	Cys	Thr	Ser	Phe	Lys	Glu	Asn	Pro	Thr	Thr	Phe	Met	Gly
[3406]					325					330					335	
[3407]	His	Tyr	Leu	His	Glu	Val	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro
[3408]				340					345					350		
[3409]	Glu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Gln	Tyr	Asn	Glu	Ile	Leu	Thr	Gln	Cys
[3410]		355						360					365			
[3411]	Cys	Ala	Glu	Ala	Asp	Lys	Glu	Ser	Cys	Leu	Thr	Pro	Lys	Leu	Asp	Gly
[3412]		370					375					380				
[3413]	Val	Lys	Glu	Lys	Ala	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Met	Lys	Cys
[3414]	385					390					395					400
[3415]	Ser	Ser	Met	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val
[3416]				405					410					415		
[3417]	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Thr	Phe	Pro	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Ile	Thr
[3418]			420						425					430		
[3419]	Lys	Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	Asn	Lys	Glu	Cys	Cys	His	Gly
[3420]		435					440					445				
[3421]	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Tyr	Met
[3422]		450					455					460				
[3423]	Cys	Glu	Asn	Gln	Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Gln	Thr	Cys	Cys	Asp
[3424]	465					470					475					480
[3425]	Lys	Pro	Leu	Leu	Lys	Lys	Ala	His	Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Glu	His	Asp
[3426]				485					490					495		
[3427]	Thr	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Asp
[3428]			500						505					510		
[3429]	Gln	Glu	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
[3430]		515					520					525				
[3431]	Thr	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Ser

[3432]	530	535	540
[3433]	Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys		
[3434]	545	550	555 560
[3435]	Cys Ala Glu Ala Asn Pro Pro Ala Cys Tyr Gly Thr Val Leu Ala Glu		
[3436]	565	570	575
[3437]	Phe Gln Pro Leu Val Glu Glu Pro Lys Asn Leu Val Lys Thr Asn Cys		
[3438]	580	585	590
[3439]	Asp Leu Tyr Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Ile Leu		
[3440]	595	600	605
[3441]	Val Arg Tyr Thr Gln Lys Ala Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val		
[3442]	610	615	620
[3443]	Glu Ala Ala Arg Asn Leu Gly Arg Val Gly Thr Lys Cys Cys Thr Leu		
[3444]	625	630	635 640
[3445]	Pro Glu Asp Gln Arg Leu Pro Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ser Ala Ile		
[3446]	645	650	655
[3447]	Leu Asn Arg Val Cys Leu Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Glu His		
[3448]	660	665	670
[3449]	Val Thr Lys Cys Cys Ser Gly Ser Leu Val Glu Arg Arg Pro Cys Phe		
[3450]	675	680	685
[3451]	Ser Ala Leu Thr Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Lys Ala		
[3452]	690	695	700
[3453]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ser Asp Ile Cys Thr Leu Pro Glu Lys Glu		
[3454]	705	710	715 720
[3455]	Lys Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys		
[3456]	725	730	735
[3457]	Pro Lys Ala Thr Ala Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala		
[3458]	740	745	750
[3459]	Gln Phe Leu Asp Thr Cys Cys Lys Ala Ala Asp Lys Asp Thr Cys Phe		
[3460]	755	760	765
[3461]	Ser Thr Glu Gly Pro Asn Leu Val Thr Arg Ser Lys Asp Ala Leu Ala		
[3462]	770	775	780
[3463]	<210> 167		
[3464]	<211> 83		
[3465]	<212> PRT		
[3466]	<213> 人工序列		
[3467]	<220>		
[3468]	<223> 合成构建体		
[3469]	<400> 167		
[3470]	Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser		

[3471]	1	5	10	15
[3472]	Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys			
[3473]	20	25	30	
[3474]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His His Ala			
[3475]	35	40	45	
[3476]	His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser			
[3477]	50	55	60	
[3478]	Leu Ile Cys Arg Ser Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr			
[3479]	65	70	75	80
[3480]	Phe Thr Thr			
[3481]	<210> 168			
[3482]	<211> 83			
[3483]	<212> PRT			
[3484]	<213> 人工序列			
[3485]	<220>			
[3486]	<223> 合成构建体			
[3487]	<220>			
[3488]	<221> 尚未归类的特征			
[3489]	<222> (16) .. (16)			
[3490]	<223> Xaa是Ser或Leu			
[3491]	<220>			
[3492]	<221> 尚未归类的特征			
[3493]	<222> (18) .. (18)			
[3494]	<223> Xaa是Asp或 Glu			
[3495]	<220>			
[3496]	<221> 尚未归类的特征			
[3497]	<222> (19) .. (19)			
[3498]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: His, Ile, Val, Phe或Trp			
[3499]	<220>			
[3500]	<221> 尚未归类的特征			
[3501]	<222> (20) .. (20)			
[3502]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ala, Gly, Glu或Asp			
[3503]	<220>			
[3504]	<221> 尚未归类的特征			
[3505]	<222> (21) .. (21)			
[3506]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Glu, Leu, Gln, Ser, Asp或Asn			
[3507]	<220>			
[3508]	<221> 尚未归类的特征			
[3509]	<222> (22) .. (22)			

- [3510] <223> Xaa 是以下项中的任一个：Phe或Tyr
- [3511] <220>
- [3512] <221> 尚未归类的特征
- [3513] <222> (23) .. (23)
- [3514] <223> Xaa 是以下项中的任一个：Ile, Val, His, Glu或Asp
- [3515] <220>
- [3516] <221> 尚未归类的特征
- [3517] <222> (24) .. (24)
- [3518] <223> Xaa 是以下项中的任一个：Gly, Trp或Val
- [3519] <220>
- [3520] <221> 尚未归类的特征
- [3521] <222> (45) .. (45)
- [3522] <223> Xaa 是以下项中的任一个：Trp, Phe或Tyr
- [3523] <220>
- [3524] <221> 尚未归类的特征
- [3525] <222> (47) .. (47)
- [3526] <223> Xaa 是以下项中的任一个：Ser, Gln, Met或His
- [3527] <220>
- [3528] <221> 尚未归类的特征
- [3529] <222> (49) .. (49)
- [3530] <223> Xaa是any Trp或His
- [3531] <220>
- [3532] <221> 尚未归类的特征
- [3533] <222> (69) .. (69)
- [3534] <223> Xaa 是以下项中的任一个：Arg或Ser
- [3535] <400> 168
- [3536] Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Xaa
- [3537] 1 5 10 15
- [3538] Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys
- [3539] 20 25 30
- [3540] Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Xaa His Xaa Ala
- [3541] 35 40 45
- [3542] Xaa Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
- [3543] 50 55 60
- [3544] Leu Ile Cys Arg Xaa Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr
- [3545] 65 70 75 80
- [3546] Phe Thr Thr
- [3547] <210> 169
- [3548] <211> 9

- [3549] <212> PRT
[3550] <213> 人工序列
[3551] <220>
[3552] <223> 合成构建体
[3553] <220>
[3554] <221> 尚未归类的特征
[3555] <222> (1) .. (1)
[3556] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Ser或Leu
[3557] <220>
[3558] <221> 尚未归类的特征
[3559] <222> (3) .. (3)
[3560] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Asp或Glu
[3561] <220>
[3562] <221> 尚未归类的特征
[3563] <222> (4) .. (4)
[3564] <223> Xaa 是以下项中的任一个: His, Ile, Val, Phe或Trp
[3565] <220>
[3566] <221> 尚未归类的特征
[3567] <222> (5) .. (5)
[3568] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Ala, Gly, Glu或Asp
[3569] <220>
[3570] <221> 尚未归类的特征
[3571] <222> (6) .. (6)
[3572] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Glu, Leu, Gln, Ser, Asp或Asn
[3573] <220>
[3574] <221> 尚未归类的特征
[3575] <222> (7) .. (7)
[3576] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Phe或Tyr
[3577] <220>
[3578] <221> 尚未归类的特征
[3579] <222> (8) .. (8)
[3580] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Ile, Val, His, Glu或Asp
[3581] <220>
[3582] <221> 尚未归类的特征
[3583] <222> (9) .. (9)
[3584] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Gly, Trp或Val
[3585] <400> 169
[3586] Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3587] 1 5

[3588]	<210> 170
[3589]	<211> 6
[3590]	<212> PRT
[3591]	<213> 人工序列
[3592]	<220>
[3593]	<223> 合成构建体
[3594]	<220>
[3595]	<221> 尚未归类的特征
[3596]	<222> (2) .. (2)
[3597]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Trp, Phe或Tyr
[3598]	<220>
[3599]	<221> 尚未归类的特征
[3600]	<222> (4) .. (4)
[3601]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ser, Gln, Met或His
[3602]	<220>
[3603]	<221> 尚未归类的特征
[3604]	<222> (6) .. (6)
[3605]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Trp或His
[3606]	<400> 170
[3607]	Trp Xaa His Xaa Ala Xaa
[3608]	1 5
[3609]	<210> 171
[3610]	<211> 10
[3611]	<212> PRT
[3612]	<213> 人工序列
[3613]	<220>
[3614]	<223> 合成构建体
[3615]	<220>
[3616]	<221> 尚未归类的特征
[3617]	<222> (2) .. (2)
[3618]	<223> Xaa是Arg或Ser
[3619]	<400> 171
[3620]	Arg Xaa Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala
[3621]	1 5 10
[3622]	<210> 172
[3623]	<211> 87
[3624]	<212> PRT
[3625]	<213> 人工序列
[3626]	<220>

- [3627] <223> 合成构建体
- [3628] <220>
- [3629] <221> 尚未归类的特征
- [3630] <222> (4) .. (4)
- [3631] <223> Xaa是Lys或Glu
- [3632] <220>
- [3633] <221> 尚未归类的特征
- [3634] <222> (16) .. (16)
- [3635] <223> Xaa是Thr或Ile
- [3636] <220>
- [3637] <221> 尚未归类的特征
- [3638] <222> (17) .. (17)
- [3639] <223> Xaa是Asn或Ala
- [3640] <220>
- [3641] <221> 尚未归类的特征
- [3642] <222> (20) .. (20)
- [3643] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Ser, Leu, Ala, Phe和Tyr
- [3644] <220>
- [3645] <221> 尚未归类的特征
- [3646] <222> (21) .. (21)
- [3647] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Tyr, Ala, Gly, Val, Ile和Ser
- [3648] <220>
- [3649] <221> 尚未归类的特征
- [3650] <222> (22) .. (22)
- [3651] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Tyr, Ser, Ala和His
- [3652] <220>
- [3653] <221> 尚未归类的特征
- [3654] <222> (23) .. (23)
- [3655] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Asn, Asp, His和Tyr
- [3656] <220>
- [3657] <221> 尚未归类的特征
- [3658] <222> (24) .. (24)
- [3659] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Leu, Phe, His和Tyr
- [3660] <220>
- [3661] <221> 尚未归类的特征
- [3662] <222> (25) .. (25)
- [3663] <223> Xaa 是以下项中的任一个: His, Pro, Ser, Leu和Asp
- [3664] <220>
- [3665] <221> 尚未归类的特征

[3666]	<222>	(26) .. (26)
[3667]	<223>	Xaa 是以下项中的任一个: Gly, Phe, His和Tyr
[3668]	<220>	
[3669]	<221>	尚未归类的特征
[3670]	<222>	(30) .. (30)
[3671]	<223>	Xaa是Ala或Thr
[3672]	<220>	
[3673]	<221>	尚未归类的特征
[3674]	<222>	(46) .. (46)
[3675]	<223>	Xaa 是以下项中的任一个: Ser, Asn, Glu, Arg和Asp
[3676]	<220>	
[3677]	<221>	尚未归类的特征
[3678]	<222>	(47) .. (47)
[3679]	<223>	Xaa 是以下项中的任一个: Ser, Gln, Thr, Asn和Ala
[3680]	<220>	
[3681]	<221>	尚未归类的特征
[3682]	<222>	(48) .. (48)
[3683]	<223>	Xaa是absent或是以下项中的任一个: Pro, Val, Ile和Ala
[3684]	<220>	
[3685]	<221>	尚未归类的特征
[3686]	<222>	(49) .. (49)
[3687]	<223>	Xaa是不存在或是Ile
[3688]	<220>	
[3689]	<221>	尚未归类的特征
[3690]	<222>	(63) .. (63)
[3691]	<223>	Xaa是Glu或Lys
[3692]	<220>	
[3693]	<221>	尚未归类的特征
[3694]	<222>	(78) .. (78)
[3695]	<223>	Xaa 是以下项中的任一个:
[3696]	<400>	172
[3697]	Ile Glu Val Xaa Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Xaa	
[3698]	1	5 10 15
[3699]	Xaa Arg Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Glu Leu Xaa Tyr Gly	
[3700]	20	25 30
[3701]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Xaa Xaa Xaa	
[3702]	35	40 45
[3703]	Xaa Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Xaa Tyr	
[3704]	50	55 60

[3705]	Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Xaa Asn Pro
[3706]	65 70 75 80
[3707]	Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[3708]	85
[3709]	<210> 173
[3710]	<211> 7
[3711]	<212> PRT
[3712]	<213> 人工序列
[3713]	<220>
[3714]	<223> 合成构建体
[3715]	<220>
[3716]	<221> 尚未归类的特征
[3717]	<222> (4) .. (4)
[3718]	<223> Xaa是Ala或Thr
[3719]	<400> 173
[3720]	Cys Glu Leu Xaa Tyr Gly Ile
[3721]	1 5
[3722]	<210> 174
[3723]	<211> 7
[3724]	<212> PRT
[3725]	<213> 人工序列
[3726]	<220>
[3727]	<223> 合成构建体
[3728]	<220>
[3729]	<221> 尚未归类的特征
[3730]	<222> (1) .. (1)
[3731]	<223> Xaa是Lys或Glu
[3732]	<400> 174
[3733]	Xaa Asp Val Thr Asp Thr Thr
[3734]	1 5
[3735]	<210> 175
[3736]	<211> 11
[3737]	<212> PRT
[3738]	<213> 人工序列
[3739]	<220>
[3740]	<223> 合成构建体
[3741]	<220>
[3742]	<221> 尚未归类的特征
[3743]	<222> (1) .. (1)

- [3744] <223> Xaa是Thr或Ile
[3745] <220>
[3746] <221> 尚未归类的特征
[3747] <222> (2) .. (2)
[3748] <223> Xaa是Asn或Ala
[3749] <220>
[3750] <221> 尚未归类的特征
[3751] <222> (5) .. (5)
[3752] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Ser, Leu, Ala, Phe和Tyr
[3753] <220>
[3754] <221> 尚未归类的特征
[3755] <222> (6) .. (6)
[3756] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Tyr, Ala, Gly, Val, Ile和Ser
[3757] <220>
[3758] <221> 尚未归类的特征
[3759] <222> (7) .. (7)
[3760] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Tyr, Ser, Ala和His
[3761] <220>
[3762] <221> 尚未归类的特征
[3763] <222> (8) .. (8)
[3764] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Asn, Asp, His和Tyr
[3765] <220>
[3766] <221> 尚未归类的特征
[3767] <222> (9) .. (9)
[3768] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Leu, Phe, His和Tyr
[3769] <220>
[3770] <221> 尚未归类的特征
[3771] <222> (10) .. (10)
[3772] <223> Xaa 是以下项中的任一个: His, Pro, Ser, Leu和Asp
[3773] <220>
[3774] <221> 尚未归类的特征
[3775] <222> (11) .. (11)
[3776] <223> Xaa 是以下项中的任一个: Gly, Phe, His和Tyr
[3777] <400> 175
[3778] Xaa Xaa Arg Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[3779] 1 5 10
[3780] <210> 176
[3781] <211> 7
[3782] <212> PRT

[3783]	<213> 人工序列
[3784]	<220>
[3785]	<223> 合成构建体
[3786]	<220>
[3787]	<221> 尚未归类的特征
[3788]	<222> (1) .. (1)
[3789]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ser, Asn, Glu, Arg和Asp
[3790]	<220>
[3791]	<221> 尚未归类的特征
[3792]	<222> (2) .. (2)
[3793]	<223> Xaa 是以下项中的任一个: Ser, Gln, Thr, Asn和Ala
[3794]	<220>
[3795]	<221> 尚未归类的特征
[3796]	<222> (3) .. (3)
[3797]	<223> Xaa是not present或是以下项中的任一个: Pro, Val, Ile和Ala
[3798]	<220>
[3799]	<221> 尚未归类的特征
[3800]	<222> (4) .. (4)
[3801]	<223> Xaa是not present or是Ile
[3802]	<400> 176
[3803]	Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Val His
[3804]	1 5
[3805]	<210> 177
[3806]	<211> 8
[3807]	<212> PRT
[3808]	<213> 人工序列
[3809]	<220>
[3810]	<223> 合成构建体
[3811]	<220>
[3812]	<221> 尚未归类的特征
[3813]	<222> (8) .. ()
[3814]	<223> Xaa是Glu或Lys
[3815]	<220>
[3816]	<221> 尚未归类的特征
[3817]	<222> (8) .. (8)
[3818]	<223> Xaa可以是任何天然发生的氨基酸
[3819]	<400> 177
[3820]	Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Xaa
[3821]	1 5

- [3822] <210> 178
[3823] <211> 11
[3824] <212> PRT
[3825] <213> 人工序列
[3826] <220>
[3827] <223> 合成构建体
[3828] <220>
[3829] <221> 尚未归类的特征
[3830] <222> (8) .. (8)
[3831] <223> Xaa是Ser或Asn
[3832] <400> 178
[3833] Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Xaa Asn Pro Ala
[3834] 1 5 10
[3835] <210> 179
[3836] <211> 69
[3837] <212> DNA
[3838] <213> 人工序列
[3839] <220>
[3840] <223> 合成构建体
[3841] <220>
[3842] <221> 尚未归类的特征
[3843] <222> (19) .. (19)
[3844] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T,和C
[3845] <220>
[3846] <221> 尚未归类的特征
[3847] <222> (22) .. (22)
[3848] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T,和C
[3849] <220>
[3850] <221> 尚未归类的特征
[3851] <222> (28) .. (28)
[3852] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T,和C
[3853] <220>
[3854] <221> 尚未归类的特征
[3855] <222> (34) .. (34)
[3856] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T,和C
[3857] <220>
[3858] <221> 尚未归类的特征
[3859] <222> (37) .. (37)
[3860] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T,和C

- [3861] <220>
[3862] <221> 尚未归类的特征
[3863] <222> (40) .. (40)
[3864] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T,和C
[3865] <400> 179
[3866] accgcgctga ttacctggnh tnhtscgnht gsnhtnhtn htggctgtga actgacctat 60
[3867] ggcattaaa 69
[3868] <210> 180
[3869] <211> 75
[3870] <212> DNA
[3871] <213> 人工序列
[3872] <220>
[3873] <223> 合成构建体
[3874] <220>
[3875] <221> 尚未归类的特征
[3876] <222> (19) .. (19)
[3877] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
[3878] <220>
[3879] <221> 尚未归类的特征
[3880] <222> (22) .. (22)
[3881] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
[3882] <220>
[3883] <221> 尚未归类的特征
[3884] <222> (28) .. (28)
[3885] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
[3886] <220>
[3887] <221> 尚未归类的特征
[3888] <222> (31) .. (31)
[3889] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
[3890] <220>
[3891] <221> 尚未归类的特征
[3892] <222> (34) .. (34)
[3893] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
[3894] <220>
[3895] <221> 尚未归类的特征
[3896] <222> (37) .. (37)
[3897] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
[3898] <220>
[3899] <221> 尚未归类的特征

- [3900] <222> (40) .. (40)
- [3901] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [3902] <220>
- [3903] <221> 尚未归类的特征
- [3904] <222> (43) .. (43)
- [3905] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [3906] <220>
- [3907] <221> 尚未归类的特征
- [3908] <222> (46) .. (46)
- [3909] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [3910] <400> 180
- [3911] accgcgctga ttacctggnh tnhtbstnht nhtnhtnhtn htnhtnhtgg ctgtgaactg 60
- [3912] acctatggca ttaaa 75
- [3913] <210> 181
- [3914] <211> 78
- [3915] <212> DNA
- [3916] <213> 人工序列
- [3917] <220>
- [3918] <223> 合成构建体
- [3919] <220>
- [3920] <221> 尚未归类的特征
- [3921] <222> (19) .. (19)
- [3922] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
- [3923] <220>
- [3924] <221> 尚未归类的特征
- [3925] <222> (28) .. (28)
- [3926] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
- [3927] <220>
- [3928] <221> 尚未归类的特征
- [3929] <222> (31) .. (31)
- [3930] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
- [3931] <220>
- [3932] <221> 尚未归类的特征
- [3933] <222> (34) .. (34)
- [3934] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
- [3935] <220>
- [3936] <221> 尚未归类的特征
- [3937] <222> (43) .. (43)
- [3938] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C

- [3939] <220>
[3940] <221> 尚未归类的特征
[3941] <222> (49) .. (49)
[3942] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[3943] <400> 181
[3944] accgcgctga ttacctggnh tvmaccgght nhtnhtrrcr gcnhtvttnh tggctgtgaa 60
[3945] ctgacctatg gcattaaa 78
[3946] <210> 182
[3947] <211> 64
[3948] <212> DNA
[3949] <213> 人工序列
[3950] <220>
[3951] <223> 合成构建体
[3952] <220>
[3953] <221> 尚未归类的特征
[3954] <222> (23) .. (23)
[3955] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[3956] <220>
[3957] <221> 尚未归类的特征
[3958] <222> (26) .. (26)
[3959] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[3960] <220>
[3961] <221> 尚未归类的特征
[3962] <222> (29) .. (29)
[3963] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[3964] <220>
[3965] <221> 尚未归类的特征
[3966] <222> (32) .. (32)
[3967] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[3968] <220>
[3969] <221> 尚未归类的特征
[3970] <222> (35) .. (35)
[3971] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[3972] <220>
[3973] <221> 尚未归类的特征
[3974] <222> (38) .. (38)
[3975] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[3976] <400> 182
[3977] cgatcgcacc accatagatc tgnhtnhtnh tnhtnhtnht tatagcattg gtaacctgaa 60

- [3978] accg 64
[3979] <210> 183
[3980] <211> 73
[3981] <212> DNA
[3982] <213> 人工序列
[3983] <220>
[3984] <223> 合成构建体
[3985] <220>
[3986] <221> 尚未归类的特征
[3987] <222> (25) .. (25)
[3988] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
[3989] <220>
[3990] <221> 尚未归类的特征
[3991] <222> (31) .. (31)
[3992] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
[3993] <220>
[3994] <221> 尚未归类的特征
[3995] <222> (34) .. (34)
[3996] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
[3997] <220>
[3998] <221> 尚未归类的特征
[3999] <222> (40) .. (40)
[4000] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
[4001] <220>
[4002] <221> 尚未归类的特征
[4003] <222> (43) .. (43)
[4004] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
[4005] <220>
[4006] <221> 尚未归类的特征
[4007] <222> (46) .. (46)
[4008] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
[4009] <400> 183
[4010] gaatatgaag tgagcctgat ttgcnhtams nhtnhtggtn htnhtnhtkc gaaagaaacc 60
[4011] tttaccaccg gtg 73
[4012] <210> 184
[4013] <211> 76
[4014] <212> DNA
[4015] <213> 人工序列
[4016] <220>

- [4017] <223> 合成构建体
- [4018] <220>
- [4019] <221> 尚未归类的特征
- [4020] <222> (25) .. (25)
- [4021] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
- [4022] <220>
- [4023] <221> 尚未归类的特征
- [4024] <222> (31) .. (31)
- [4025] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
- [4026] <220>
- [4027] <221> 尚未归类的特征
- [4028] <222> (34) .. (34)
- [4029] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
- [4030] <220>
- [4031] <221> 尚未归类的特征
- [4032] <222> (37) .. (37)
- [4033] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
- [4034] <220>
- [4035] <221> 尚未归类的特征
- [4036] <222> (40) .. (40)
- [4037] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
- [4038] <220>
- [4039] <221> 尚未归类的特征
- [4040] <222> (46) .. (46)
- [4041] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
- [4042] <400> 184
- [4043] gaatatgaag tgagcctgat ttgcnhtams nhtnhtnhtn htrgcnhtcc ggcgaaagaa 60
- [4044] acctttacca ccggtg 76
- [4045] <210> 185
- [4046] <211> 79
- [4047] <212> DNA
- [4048] <213> 人工序列
- [4049] <220>
- [4050] <223> 合成构建体
- [4051] <220>
- [4052] <221> 尚未归类的特征
- [4053] <222> (25) .. (25)
- [4054] <223> N 是以下项中的任一个：A, G, T和C
- [4055] <220>

- [4056] <221> 尚未归类的特征
[4057] <222> (31) .. (31)
[4058] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[4059] <220>
[4060] <221> 尚未归类的特征
[4061] <222> (34) .. (34)
[4062] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[4063] <220>
[4064] <221> 尚未归类的特征
[4065] <222> (40) .. (40)
[4066] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[4067] <220>
[4068] <221> 尚未归类的特征
[4069] <222> (43) .. (43)
[4070] <223> N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[4071] <400> 185
[4072] gaatatgaag tgagcctgat ttgcnhtams nhtnhtggtn htnhtagcaa cccggcgaaa 60
[4073] gaaaccttta ccaccggtg 79
[4074] <210> 186
[4075] <211> 57
[4076] <212> DNA
[4077] <213> 人工序列
[4078] <220>
[4079] <223> 合成构建体
[4080] <400> 186
[4081] cagatctatg gtggtgcgat cgcccggcac atctttaatg ccatagggtca gttcaca 57
[4082] <210> 187
[4083] <211> 53
[4084] <212> DNA
[4085] <213> 人工序列
[4086] <220>
[4087] <223> 合成构建体
[4088] <400> 187
[4089] gcaaatacagg ctcaattcat attcggtatc cggtttcagg ttaccaatgc tat 53
[4090] <210> 188
[4091] <211> 42
[4092] <212> DNA
[4093] <213> 人工序列
[4094] <220>

- [4095] <223> 合成构建体
[4096] <400> 188
[4097] cgggtcggtt ggggtaccgc caccggtggt aaaggtttct tt 42
[4098] <210> 189
[4099] <211> 16
[4100] <212> DNA
[4101] <213> 人工序列
[4102] <220>
[4103] <223> 合成构建体
[4104] <400> 189
[4105] cgggtcggtt ggggta 16
[4106] <210> 190
[4107] <211> 67
[4108] <212> DNA
[4109] <213> 人工序列
[4110] <220>
[4111] <223> 合成构建体
[4112] <400> 190
[4113] ggcccagccg gccatggccg ccattgaagt gaaagatgtg accgatacca ccgcgctgat 60
[4114] tacctgg 67
[4115] <210> 191
[4116] <211> 73
[4117] <212> DNA
[4118] <213> 人工序列
[4119] <220>
[4120] <223> 合成构建体
[4121] <220>
[4122] <221> 尚未归类的特征
[4123] <222> (22) .. (24)
[4124] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4125] <220>
[4126] <221> 尚未归类的特征
[4127] <222> (25) .. (27)
[4128] <223> NNN编码Ala或Pro
[4129] <220>
[4130] <221> 尚未归类的特征
[4131] <222> (28) .. (30)
[4132] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4133] <220>

- [4134] <221> 尚未归类的特征
[4135] <222> (31) .. (33)
[4136] <223> NNN编码Ala或Gly
[4137] <220>
[4138] <221> 尚未归类的特征
[4139] <222> (34) .. (36)
[4140] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4141] <220>
[4142] <221> 尚未归类的特征
[4143] <222> (37) .. (39)
[4144] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4145] <220>
[4146] <221> 尚未归类的特征
[4147] <222> (40) .. (42)
[4148] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4149] <400> 191
[4150] accgcgctga ttacctggctc tnnnnnnnnnn nnnnnnnnnnn nnggctgtga actgacctat 60
[4151] ggcattaaag atg 73
[4152] <210> 192
[4153] <211> 69
[4154] <212> DNA
[4155] <213> 人工序列
[4156] <220>
[4157] <223> 合成构建体
[4158] <220>
[4159] <221> 尚未归类的特征
[4160] <222> (19) .. (20)
[4161] <223> each N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[4162] <220>
[4163] <221> 尚未归类的特征
[4164] <222> (22) .. (23)
[4165] <223> each N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[4166] <220>
[4167] <221> 尚未归类的特征
[4168] <222> (28) .. (29)
[4169] <223> each N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
[4170] <220>
[4171] <221> 尚未归类的特征
[4172] <222> (34) .. (35)

- [4173] <223> each N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
- [4174] <220>
- [4175] <221> 尚未归类的特征
- [4176] <222> (37) .. (38)
- [4177] <223> each N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
- [4178] <220>
- [4179] <221> 尚未归类的特征
- [4180] <222> (40) .. (41)
- [4181] <223> each N 是以下项中的任一个：A，G，T和C
- [4182] <400> 192
- [4183] accgcgctga ttacctggnn knnksmgnnk gstnnknnkn nkggctgtga actgacctat 60
- [4184] ggcattaaa 69
- [4185] <210> 193
- [4186] <211> 69
- [4187] <212> DNA
- [4188] <213> 人工序列
- [4189] <220>
- [4190] <223> 合成构建体
- [4191] <220>
- [4192] <221> 尚未归类的特征
- [4193] <222> (19) .. (20)
- [4194] <223> each N 是以下项中的任一个：A，T，C或T
- [4195] <220>
- [4196] <221> 尚未归类的特征
- [4197] <222> (22) .. (23)
- [4198] <223> each N 是以下项中的任一个：G，A，C和T
- [4199] <220>
- [4200] <221> 尚未归类的特征
- [4201] <222> (25) .. (26)
- [4202] <223> each N 是以下项中的任一个：G，A，C和T
- [4203] <220>
- [4204] <221> 尚未归类的特征
- [4205] <222> (28) .. (29)
- [4206] <223> each N 是以下项中的任一个：G，A，C和T
- [4207] <220>
- [4208] <221> 尚未归类的特征
- [4209] <222> (31) .. (32)
- [4210] <223> each N 是以下项中的任一个：G，A，C和T
- [4211] <220>

- [4212] <221> 尚未归类的特征
[4213] <222> (34) .. (35)
[4214] <223> each N 是以下项中的任一个：G, A, C和T
[4215] <220>
[4216] <221> 尚未归类的特征
[4217] <222> (37) .. (37)
[4218] <223> N 是以下项中的任一个：G, A, C和T
[4219] <220>
[4220] <221> 尚未归类的特征
[4221] <222> (40) .. (41)
[4222] <223> each N 是以下项中的任一个：G, A, C和T
[4223] <220>
[4224] <221> 尚未归类的特征
[4225] <222> (43) .. (44)
[4226] <223> each N 是以下项中的任一个：G, A, C和T
[4227] <400> 193
[4228] accgcgctga ttacctggnn knnknnknnk nnknnknhtn nknnktgtga actgacctat 60
[4229] ggcattaaa 69
[4230] <210> 194
[4231] <211> 76
[4232] <212> DNA
[4233] <213> 人工序列
[4234] <220>
[4235] <223> 合成构建体
[4236] <220>
[4237] <221> 尚未归类的特征
[4238] <222> (34) .. (36)
[4239] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4240] <220>
[4241] <221> 尚未归类的特征
[4242] <222> (37) .. (39)
[4243] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4244] <220>
[4245] <221> 尚未归类的特征
[4246] <222> (40) .. (42)
[4247] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4248] <220>
[4249] <221> 尚未归类的特征
[4250] <222> (43) .. (45)

- [4251] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4252] <220>
[4253] <221> 尚未归类的特征
[4254] <222> (46) .. (49)
[4255] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4256] <220>
[4257] <221> 尚未归类的特征
[4258] <222> (50) .. (51)
[4259] <223> NNN编码所有氨基酸除了Cys
[4260] <400> 194
[4261] gatgtgccgg gcgatcgcac caccatagat ctgnnnnnnn nnnnnnnnn ntatagcatt 60
[4262] ggtaacctga aaccgg 76
[4263] <210> 195
[4264] <211> 23
[4265] <212> DNA
[4266] <213> 人工序列
[4267] <220>
[4268] <223> 合成构建体
[4269] <400> 195
[4270] ccaggtaatc agcgcggtgg tat 23
[4271] <210> 196
[4272] <211> 23
[4273] <212> DNA
[4274] <213> 人工序列
[4275] <220>
[4276] <223> 合成构建体
[4277] <400> 196
[4278] cagatctatg gtggtgcgat cgc 23
[4279] <210> 197
[4280] <211> 29
[4281] <212> DNA
[4282] <213> 人工序列
[4283] <220>
[4284] <223> 合成构建体
[4285] <400> 197
[4286] tgtgaactga cctatggcat taaagatgt 29
[4287] <210> 198
[4288] <211> 75
[4289] <212> DNA

- [4290] <213> 人工序列
- [4291] <220>
- [4292] <223> 合成构建体
- [4293] <220>
- [4294] <221> 尚未归类的特征
- [4295] <222> (19) .. (19)
- [4296] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4297] <220>
- [4298] <221> 尚未归类的特征
- [4299] <222> (22) .. (22)
- [4300] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4301] <220>
- [4302] <221> 尚未归类的特征
- [4303] <222> (26) .. (26)
- [4304] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4305] <220>
- [4306] <221> 尚未归类的特征
- [4307] <222> (28) .. (28)
- [4308] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4309] <220>
- [4310] <221> 尚未归类的特征
- [4311] <222> (31) .. (31)
- [4312] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4313] <220>
- [4314] <221> 尚未归类的特征
- [4315] <222> (34) .. (34)
- [4316] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4317] <220>
- [4318] <221> 尚未归类的特征
- [4319] <222> (37) .. (37)
- [4320] <223> n是a，c，g,或t
- [4321] <220>
- [4322] <221> 尚未归类的特征
- [4323] <222> (38) .. (38)
- [4324] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4325] <220>
- [4326] <221> 尚未归类的特征
- [4327] <222> (40) .. (40)
- [4328] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C

- [4329] <220>
- [4330] <221> 尚未归类的特征
- [4331] <222> (43) .. (43)
- [4332] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T和C
- [4333] <220>
- [4334] <221> 尚未归类的特征
- [4335] <222> (46) .. (46)
- [4336] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T和C
- [4337] <400> 198
- [4338] accgcgctga ttacctggnh tnhtvntnht nhtnhtnhtn htnhtnhtgg ctgtgaactg 60
- [4339] acctatggca ttaaa 75
- [4340] <210> 199
- [4341] <211> 75
- [4342] <212> DNA
- [4343] <213> 人工序列
- [4344] <220>
- [4345] <223> 合成构建体
- [4346] <220>
- [4347] <221> 尚未归类的特征
- [4348] <222> (19) .. (19)
- [4349] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T和C
- [4350] <220>
- [4351] <221> 尚未归类的特征
- [4352] <222> (22) .. (22)
- [4353] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T和C
- [4354] <220>
- [4355] <221> 尚未归类的特征
- [4356] <222> (26) .. (26)
- [4357] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T和C
- [4358] <220>
- [4359] <221> 尚未归类的特征
- [4360] <222> (28) .. (28)
- [4361] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T和C
- [4362] <220>
- [4363] <221> 尚未归类的特征
- [4364] <222> (31) .. (31)
- [4365] <223> N 是以下项中的任一个: G, A, T和C
- [4366] <220>
- [4367] <221> 尚未归类的特征

- [4368] <222> (34) .. (34)
- [4369] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4370] <220>
- [4371] <221> 尚未归类的特征
- [4372] <222> (37) .. (37)
- [4373] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4374] <220>
- [4375] <221> 尚未归类的特征
- [4376] <222> (40) .. (40)
- [4377] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4378] <220>
- [4379] <221> 尚未归类的特征
- [4380] <222> (43) .. (43)
- [4381] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4382] <220>
- [4383] <221> 尚未归类的特征
- [4384] <222> (46) .. (46)
- [4385] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4386] <220>
- [4387] <221> 尚未归类的特征
- [4388] <222> (49) .. (49)
- [4389] <223> N 是以下项中的任一个：G，A，T和C
- [4390] <400> 199
- [4391] accgcgctga ttacctggnh tnhtvntnht nhtnhtnhtn htnhtnhtnh ttgtgaactg 60
- [4392] acctatggca ttaaa 75
- [4393] <210> 200
- [4394] <211> 67
- [4395] <212> DNA
- [4396] <213> 人工序列
- [4397] <220>
- [4398] <223> 合成构建体
- [4399] <400> 200
- [4400] ggcccagccg gccatggccg ccattgaagt ggaagatgtg accgatacca ccgcgctgat 60
- [4401] tacctgg 67
- [4402] <210> 201
- [4403] <211> 585
- [4404] <212> PRT
- [4405] <213> 人工序列
- [4406] <220>

[4407]	<223> 合成构建体															
[4408]	<400> 201															
[4409]	Asp	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu
[4410]	1				5					10					15	
[4411]	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln
[4412]					20					25					30	
[4413]	Gln	Ser	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu
[4414]					35					40					45	
[4415]	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys
[4416]			50						55				60			
[4417]	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu
[4418]	65						70					75				80
[4419]	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro
[4420]						85					90					95
[4421]	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu
[4422]						100					105				110	
[4423]	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His
[4424]						115					120				125	
[4425]	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg
[4426]			130						135				140			
[4427]	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg
[4428]	145						150					155				160
[4429]	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala
[4430]						165					170				175	
[4431]	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser
[4432]					180					185					190	
[4433]	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu
[4434]			195						200					205		
[4435]	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro
[4436]			210						215					220		
[4437]	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
[4438]	225						230					235				240
[4439]	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp
[4440]					245					250					255	
[4441]	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
[4442]					260					265					270	
[4443]	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His
[4444]					275					280					285	
[4445]	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser

[4446]	290	295	300
[4447]	Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala		
[4448]	305	310	315
[4449]	Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg		
[4450]	325	330	335
[4451]	Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr		
[4452]	340	345	350
[4453]	Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu		
[4454]	355	360	365
[4455]	Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro		
[4456]	370	375	380
[4457]	Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu		
[4458]	385	390	395
[4459]	Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro		
[4460]	405	410	415
[4461]	Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys		
[4462]	420	425	430
[4463]	Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys		
[4464]	435	440	445
[4465]	Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Asn His		
[4466]	450	455	460
[4467]	Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser		
[4468]	465	470	475
[4469]	Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr		
[4470]	485	490	495
[4471]	Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp		
[4472]	500	505	510
[4473]	Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Leu Lys Gln Thr Ala		
[4474]	515	520	525
[4475]	Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu		
[4476]	530	535	540
[4477]	Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys		
[4478]	545	550	555
[4479]	Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val		
[4480]	565	570	575
[4481]	Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu		
[4482]	580	585	
[4483]	<210> 202		
[4484]	<211> 683		

[4485]	<212>	PRT
[4486]	<213>	人工序列
[4487]	<220>	
[4488]	<223>	合成构建体
[4489]	<400>	202
[4490]	Ser Gln Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr	
[4491]	1 5 10 15	
[4492]	Trp Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Ala	
[4493]	20 25 30	
[4494]	Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn	
[4495]	35 40 45	
[4496]	Gln Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu	
[4497]	50 55 60	
[4498]	Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Asn Asn	
[4499]	65 70 75 80	
[4500]	Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
[4501]	85 90 95	
[4502]	Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu	
[4503]	100 105 110	
[4504]	Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr	
[4505]	115 120 125	
[4506]	Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val	
[4507]	130 135 140	
[4508]	Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys	
[4509]	145 150 155 160	
[4510]	Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala	
[4511]	165 170 175	
[4512]	Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln	
[4513]	180 185 190	
[4514]	Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro	
[4515]	195 200 205	
[4516]	Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala	
[4517]	210 215 220	
[4518]	Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile	
[4519]	225 230 235 240	
[4520]	Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala	
[4521]	245 250 255	
[4522]	Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys	
[4523]	260 265 270	

[4524]	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys
[4525]			275					280						285		
[4526]	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe
[4527]			290					295						300		
[4528]	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg
[4529]	305						310					315				320
[4530]	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu
[4531]					325					330					335	
[4532]	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala
[4533]				340					345					350		
[4534]	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser
[4535]			355					360					365			
[4536]	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys
[4537]		370					375					380				
[4538]	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu
[4539]	385					390					395					400
[4540]	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn
[4541]				405					410					415		
[4542]	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr
[4543]				420					425					430		
[4544]	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala
[4545]			435					440					445			
[4546]	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro
[4547]		450					455					460				
[4548]	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu
[4549]	465					470					475					480
[4550]	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu
[4551]				485					490					495		
[4552]	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys
[4553]				500					505					510		
[4554]	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu
[4555]			515						520				525			
[4556]	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met
[4557]		530					535					540				
[4558]	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val
[4559]	545					550					555					560
[4560]	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr
[4561]					565				570					575		
[4562]	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp

[4563]		580		585		590											
[4564]	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	
[4565]				595						600					605		
[4566]	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	
[4567]			610							615					620		
[4568]	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	
[4569]		625					630					635				640	
[4570]	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	
[4571]						645					650					655	
[4572]	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	
[4573]				660						665						670	
[4574]	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu						
[4575]			675							680							
[4576]	<210>	203															
[4577]	<211>	683															
[4578]	<212>	PRT															
[4579]	<213>	人工序列															
[4580]	<220>																
[4581]	<223>	合成构建体															
[4582]	<400>	203															
[4583]	Ser	Gln	Ile	Glu	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	
[4584]	1				5					10					15		
[4585]	Trp	Thr	Asn	Arg	Ser	Ser	Tyr	Ser	Asn	Leu	His	Gly	Cys	Glu	Leu	Thr	
[4586]				20						25					30		
[4587]	Tyr	Gly	Ile	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Asn	
[4588]			35						40					45			
[4589]	Gln	Pro	Tyr	Val	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	
[4590]		50						55					60				
[4591]	Tyr	Glu	Val	Ser	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Asn	Asn	
[4592]		65					70				75					80	
[4593]	Pro	Ala	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	
[4594]					85					90						95	
[4595]	Gly	Gly	Asp	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	
[4596]				100						105					110		
[4597]	Gly	Glu	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	
[4598]				115						120					125		
[4599]	Leu	Gln	Gln	Ser	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	
[4600]			130							135					140		
[4601]	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	

[4602]	145	150	155	160
[4603]	Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala			
[4604]		165	170	175
[4605]	Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln			
[4606]		180	185	190
[4607]	Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro			
[4608]		195	200	205
[4609]	Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala			
[4610]		210	215	220
[4611]	Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile			
[4612]	225	230	235	240
[4613]	Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala			
[4614]		245	250	255
[4615]	Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys			
[4616]		260	265	270
[4617]	Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys			
[4618]		275	280	285
[4619]	Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe			
[4620]		290	295	300
[4621]	Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg			
[4622]	305	310	315	320
[4623]	Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu			
[4624]		325	330	335
[4625]	Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala			
[4626]		340	345	350
[4627]	Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser			
[4628]		355	360	365
[4629]	Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys			
[4630]		370	375	380
[4631]	Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu			
[4632]	385	390	395	400
[4633]	Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn			
[4634]		405	410	415
[4635]	Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr			
[4636]		420	425	430
[4637]	Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala			
[4638]		435	440	445
[4639]	Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro			
[4640]		450	455	460

[4641]	His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu		
[4642]	465	470	475 480
[4643]	Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu		
[4644]		485	490 495
[4645]	Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys		
[4646]		500	505 510
[4647]	Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu		
[4648]		515	520 525
[4649]	Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met		
[4650]		530	535 540
[4651]	Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val		
[4652]		545	550 555 560
[4653]	Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr		
[4654]		565	570 575
[4655]	Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp		
[4656]		580	585 590
[4657]	Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His		
[4658]		595	600 605
[4659]	Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln		
[4660]		610	615 620
[4661]	Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu		
[4662]		625	630 635 640
[4663]	Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys		
[4664]		645	650 655
[4665]	Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys		
[4666]		660	665 670
[4667]	Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu		
[4668]		675	680
[4669]	<210> 204		
[4670]	<211> 791		
[4671]	<212> PRT		
[4672]	<213> 人工序列		
[4673]	<220>		
[4674]	<223> 合成构建体		
[4675]	<400> 204		
[4676]	Ser Gln Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr		
[4677]	1	5	10 15
[4678]	Trp Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Ala		
[4679]		20	25 30

[4680]	Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn
[4681]	35 40 45
[4682]	Gln Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu
[4683]	50 55 60
[4684]	Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Asn Asn
[4685]	65 70 75 80
[4686]	Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[4687]	85 90 95
[4688]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Leu Asp Ala Pro Ser Gln Ile Glu
[4689]	100 105 110
[4690]	Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Thr Asn Arg
[4691]	115 120 125
[4692]	Ser Ser Tyr Ser Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Ala Tyr Gly Ile Lys
[4693]	130 135 140
[4694]	Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn Gln Pro Tyr Val
[4695]	145 150 155 160
[4696]	His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser
[4697]	165 170 175
[4698]	Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Asn Asn Pro Ala Lys Glu
[4699]	180 185 190
[4700]	Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala
[4701]	195 200 205
[4702]	His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn
[4703]	210 215 220
[4704]	Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser
[4705]	225 230 235 240
[4706]	Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala
[4707]	245 250 255
[4708]	Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu
[4709]	260 265 270
[4710]	His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu
[4711]	275 280 285
[4712]	Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg
[4713]	290 295 300
[4714]	Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg
[4715]	305 310 315 320
[4716]	Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn
[4717]	325 330 335
[4718]	Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His

[4719]		340		345		350
[4720]	Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys					
[4721]		355		360		365
[4722]	Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu					
[4723]		370		375		380
[4724]	Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala					
[4725]		385		390		395
[4726]	Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala					
[4727]		405		410		415
[4728]	Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala					
[4729]		420		425		430
[4730]	Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His					
[4731]		435		440		445
[4732]	Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala					
[4733]		450		455		460
[4734]	Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys					
[4735]		465		470		475
[4736]	Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile					
[4737]		485		490		495
[4738]	Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala					
[4739]		500		505		510
[4740]	Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala					
[4741]		515		520		525
[4742]	Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His					
[4743]		530		535		540
[4744]	Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu					
[4745]		545		550		555
[4746]	Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr					
[4747]		565		570		575
[4748]	Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn					
[4749]		580		585		590
[4750]	Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys					
[4751]		595		600		605
[4752]	Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val					
[4753]		610		615		620
[4754]	Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly					
[4755]		625		630		635
[4756]	Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu					
[4757]		645		650		655

[4758]	Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys
[4759]	660 665 670
[4760]	Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val
[4761]	675 680 685
[4762]	Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val
[4763]	690 695 700
[4764]	Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys
[4765]	705 710 715 720
[4766]	Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val
[4767]	725 730 735
[4768]	Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala
[4769]	740 745 750
[4770]	Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp
[4771]	755 760 765
[4772]	Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala
[4773]	770 775 780
[4774]	Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
[4775]	785 790
[4776]	<210> 205
[4777]	<211> 791
[4778]	<212> PRT
[4779]	<213> 人工序列
[4780]	<220>
[4781]	<223> 合成构建体
[4782]	<400> 205
[4783]	Ser Gln Ile Glu Val Glu Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr
[4784]	1 5 10 15
[4785]	Trp Thr Asn Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Leu His Gly Cys Glu Leu Thr
[4786]	20 25 30
[4787]	Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Asn
[4788]	35 40 45
[4789]	Gln Pro Tyr Val His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu
[4790]	50 55 60
[4791]	Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Leu Thr Thr Asp Gly Thr Tyr Asn Asn
[4792]	65 70 75 80
[4793]	Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
[4794]	85 90 95
[4795]	Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Leu Asp Ala Pro Ser Gln Ile Glu
[4796]	100 105 110

[4797]	Val	Glu	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Trp	Thr	Asn	Arg
[4798]			115						120						125	
[4799]	Ser	Ser	Tyr	Ser	Asn	Leu	His	Gly	Cys	Glu	Leu	Ala	Tyr	Gly	Ile	Lys
[4800]			130						135						140	
[4801]	Asp	Val	Pro	Gly	Asp	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Leu	Asn	Gln	Pro	Tyr	Val
[4802]		145				150					155					160
[4803]	His	Tyr	Ser	Ile	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Tyr	Glu	Val	Ser
[4804]					165					170						175
[4805]	Leu	Ile	Cys	Leu	Thr	Thr	Asp	Gly	Thr	Tyr	Asn	Asn	Pro	Ala	Lys	Glu
[4806]				180					185					190		
[4807]	Thr	Phe	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Ala
[4808]			195					200						205		
[4809]	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn
[4810]		210					215					220				
[4811]	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln	Gln	Ser
[4812]		225				230					235					240
[4813]	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe	Ala
[4814]					245					250						255
[4815]	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu
[4816]				260					265						270	
[4817]	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	Glu
[4818]			275					280						285		
[4819]	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg
[4820]		290					295					300				
[4821]	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	Arg
[4822]		305				310					315					320
[4823]	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Asn
[4824]					325					330					335	
[4825]	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	His
[4826]				340					345					350		
[4827]	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys
[4828]			355					360					365			
[4829]	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu
[4830]		370					375					380				
[4831]	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala
[4832]		385				390					395					400
[4833]	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala
[4834]					405					410					415	
[4835]	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala

[4836]		420		425		430
[4837]	Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His					
[4838]		435		440		445
[4839]	Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala					
[4840]		450		455		460
[4841]	Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys					
[4842]	465		470		475	480
[4843]	Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile					
[4844]		485		490		495
[4845]	Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala					
[4846]		500		505		510
[4847]	Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala					
[4848]		515		520		525
[4849]	Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His					
[4850]		530		535		540
[4851]	Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu					
[4852]	545		550		555	560
[4853]	Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr					
[4854]		565		570		575
[4855]	Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn					
[4856]		580		585		590
[4857]	Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys					
[4858]		595		600		605
[4859]	Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val					
[4860]		610		615		620
[4861]	Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly					
[4862]	625		630		635	640
[4863]	Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu					
[4864]		645		650		655
[4865]	Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys					
[4866]		660		665		670
[4867]	Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val					
[4868]		675		680		685
[4869]	Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val					
[4870]		690		695		700
[4871]	Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys					
[4872]	705		710		715	720
[4873]	Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val					
[4874]		725		730		735

[4875]	Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala
[4876]	740 745 750
[4877]	Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp
[4878]	755 760 765
[4879]	Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala
[4880]	770 775 780
[4881]	Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
[4882]	785 790
[4883]	<210> 206
[4884]	<211> 190
[4885]	<212> PRT
[4886]	<213> 人工序列
[4887]	<220>
[4888]	<223> 合成构建体
[4889]	<400> 206
[4890]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr
[4891]	1 5 10 15
[4892]	Trp Ser Asp Glu Phe Gly His Tyr Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly
[4893]	20 25 30
[4894]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His
[4895]	35 40 45
[4896]	Ser Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu
[4897]	50 55 60
[4898]	Val Ser Leu Ile Cys Tyr Thr Asp Gln Glu Ala Gly Asn Pro Ala Lys
[4899]	65 70 75 80
[4900]	Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[4901]	85 90 95
[4902]	Gly Gly Gly Ser Arg Leu Asp Ala Pro Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp
[4903]	100 105 110
[4904]	Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser Asp Glu Phe Gly His
[4905]	115 120 125
[4906]	Tyr Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp
[4907]	130 135 140
[4908]	Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser Ala Trp Tyr Ser Ile Gly
[4909]	145 150 155 160
[4910]	Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Tyr Thr
[4911]	165 170 175
[4912]	Asp Gln Glu Ala Gly Asn Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr
[4913]	180 185 190

[4914]	<210>	207	
[4915]	<211>	680	
[4916]	<212>	PRT	
[4917]	<213>	人工序列	
[4918]	<220>		
[4919]	<223>	合成构建体	
[4920]	<400>	207	
[4921]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr		
[4922]	1	5	10 15
[4923]	Trp Ser Asp Glu Phe Gly His Tyr Asp Gly Cys Glu Leu Thr Tyr Gly		
[4924]		20	25 30
[4925]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His		
[4926]		35	40 45
[4927]	Ser Ala Trp Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[4928]		50	55 60
[4929]	Val Ser Leu Ile Cys Tyr Thr Asp Gln Glu Ala Gly Asn Pro Ala Lys		
[4930]	65	70	75 80
[4931]	Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp		
[4932]		85	90 95
[4933]	Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu		
[4934]		100	105 110
[4935]	Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln		
[4936]		115	120 125
[4937]	Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe		
[4938]		130	135 140
[4939]	Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser		
[4940]	145	150	155 160
[4941]	Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg		
[4942]		165	170 175
[4943]	Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu		
[4944]		180	185 190
[4945]	Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro		
[4946]		195	200 205
[4947]	Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp		
[4948]		210	215 220
[4949]	Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg		
[4950]	225	230	235 240
[4951]	His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr		
[4952]		245	250 255

[4953]	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys
[4954]				260					265					270		
[4955]	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser
[4956]				275					280					285		
[4957]	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg
[4958]				290					295					300		
[4959]	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys
[4960]	305						310					315				320
[4961]	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val
[4962]					325					330					335	
[4963]	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg
[4964]				340					345					350		
[4965]	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser
[4966]				355					360					365		
[4967]	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys
[4968]				370					375					380		
[4969]	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu
[4970]	385						390					395				400
[4971]	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu
[4972]					405					410					415	
[4973]	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg
[4974]				420					425					430		
[4975]	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr
[4976]				435					440					445		
[4977]	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys
[4978]				450					455					460		
[4979]	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln
[4980]	465						470					475				480
[4981]	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr
[4982]					485					490					495	
[4983]	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln
[4984]				500					505					510		
[4985]	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val
[4986]				515					520					525		
[4987]	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala
[4988]				530					535				540			
[4989]	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu
[4990]	545						550					555				560
[4991]	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu

[4992]	565							570							575													
[4993]	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr												
[4994]	580							585							590													
[4995]	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile												
[4996]	595							600							605													
[4997]	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu												
[4998]	610							615							620													
[4999]	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys												
[5000]	625							630							635							640						
[5001]	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala												
[5002]	645							650							655													
[5003]	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala												
[5004]	660							665							670													
[5005]	Ala	Ser	Gln	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu																				
[5006]	675							680																				
[5007]	<210> 208																											
[5008]	<211> 785																											
[5009]	<212> PRT																											
[5010]	<213> 人工序列																											
[5011]	<220>																											
[5012]	<223> 合成构建体																											
[5013]	<400> 208																											
[5014]	Ser	Gln	Ile	Glu	Val	Lys	Asp	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr												
[5015]	1																											

[5031]	130	135	140
[5032]	Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Trp His Ser Ala Trp Tyr Ser Ile Gly		
[5033]	145	150	155
[5034]	Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Tyr Thr		
[5035]	165	170	175
[5036]	Asp Gln Glu Ala Gly Asn Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly		
[5037]	180	185	190
[5038]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala		
[5039]	195	200	205
[5040]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu		
[5041]	210	215	220
[5042]	Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val		
[5043]	225	230	235
[5044]	Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp		
[5045]	245	250	255
[5046]	Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp		
[5047]	260	265	270
[5048]	Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala		
[5049]	275	280	285
[5050]	Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln		
[5051]	290	295	300
[5052]	His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val		
[5053]	305	310	315
[5054]	Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys		
[5055]	325	330	335
[5056]	Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro		
[5057]	340	345	350
[5058]	Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys		
[5059]	355	360	365
[5060]	Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu		
[5061]	370	375	380
[5062]	Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys		
[5063]	385	390	395
[5064]	Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val		
[5065]	405	410	415
[5066]	Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser		
[5067]	420	425	430
[5068]	Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly		
[5069]	435	440	445

[5070]	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile
[5071]	450						455					460				
[5072]	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu
[5073]	465					470					475					480
[5074]	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp
[5075]					485					490					495	
[5076]	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser
[5077]			500						505					510		
[5078]	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
[5079]			515					520					525			
[5080]	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val
[5081]		530					535						540			
[5082]	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys
[5083]	545					550					555					560
[5084]	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu
[5085]					565					570					575	
[5086]	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[5087]			580						585					590		
[5088]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[5089]			595						600					605		
[5090]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[5091]		610						615						620		
[5092]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[5093]	625					630					635					640
[5094]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[5095]					645					650					655	
[5096]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[5097]			660						665					670		
[5098]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[5099]			675						680					685		
[5100]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[5101]		690						695					700			
[5102]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[5103]	705					710					715					720
[5104]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[5105]					725					730					735	
[5106]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala
[5107]				740						745				750		
[5108]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe

[5109]	755	760	765
[5110]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly		
[5111]	770	775	780
[5112]	Leu		
[5113]	785		
[5114]	<210> 209		
[5115]	<211> 190		
[5116]	<212> PRT		
[5117]	<213> 人工序列		
[5118]	<220>		
[5119]	<223> 合成构建体		
[5120]	<400> 209		
[5121]	Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr		
[5122]	1 5 10 15		
[5123]	Trp Ser Asp Asp Phe Gly Glu Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly		
[5124]	20 25 30		
[5125]	Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His		
[5126]	35 40 45		
[5127]	His Ala His Tyr Ser Ile Gly Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu		
[5128]	50 55 60		
[5129]	Val Ser Leu Ile Cys Arg Ser Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys		
[5130]	65 70 75 80		
[5131]	Glu Thr Phe Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[5132]	85 90 95		
[5133]	Gly Gly Gly Ser Arg Leu Asp Ala Pro Ser Gln Ile Glu Val Lys Asp		
[5134]	100 105 110		
[5135]	Val Thr Asp Thr Thr Ala Leu Ile Thr Trp Ser Asp Asp Phe Gly Glu		
[5136]	115 120 125		
[5137]	Tyr Val Trp Cys Glu Leu Thr Tyr Gly Ile Lys Asp Val Pro Gly Asp		
[5138]	130 135 140		
[5139]	Arg Thr Thr Ile Asp Leu Trp Tyr His His Ala His Tyr Ser Ile Gly		
[5140]	145 150 155 160		
[5141]	Asn Leu Lys Pro Asp Thr Glu Tyr Glu Val Ser Leu Ile Cys Arg Ser		
[5142]	165 170 175		
[5143]	Gly Asp Met Ser Ser Asn Pro Ala Lys Glu Thr Phe Thr Thr		
[5144]	180 185 190		
[5145]	<210> 210		
[5146]	<211> 26		
[5147]	<212> PRT		

[5148] <213> 人工序列
[5149] <220>
[5150] <223> 合成构建体
[5151] <400> 210
[5152] Met Thr Asn Ile Thr Lys Arg Ser Leu Val Ala Ala Gly Val Leu Ala
[5153] 1 5 10 15
[5154] Ala Leu Met Ala Gly Asn Val Ala Met Ala
[5155] 20 25

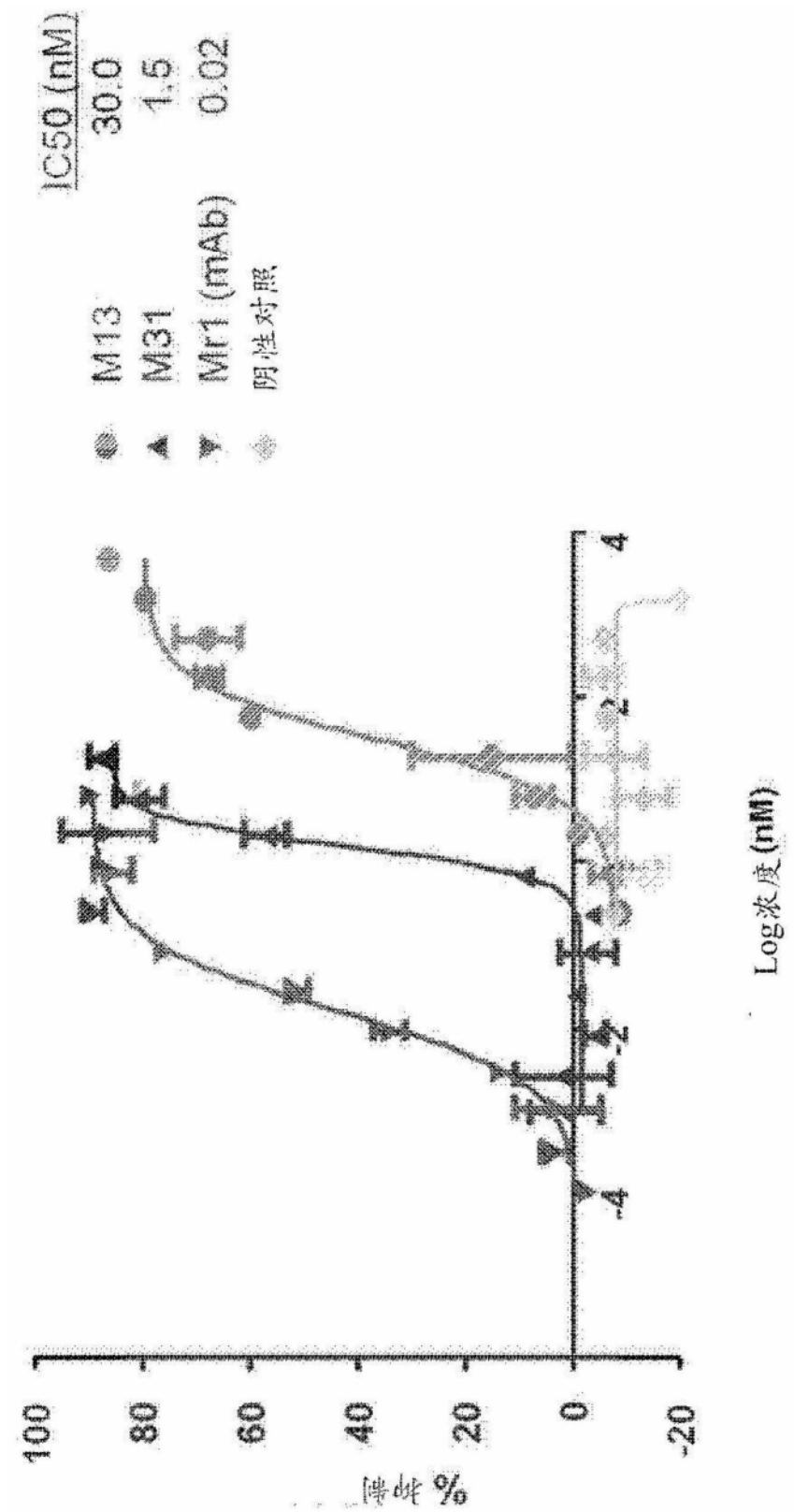


图1A

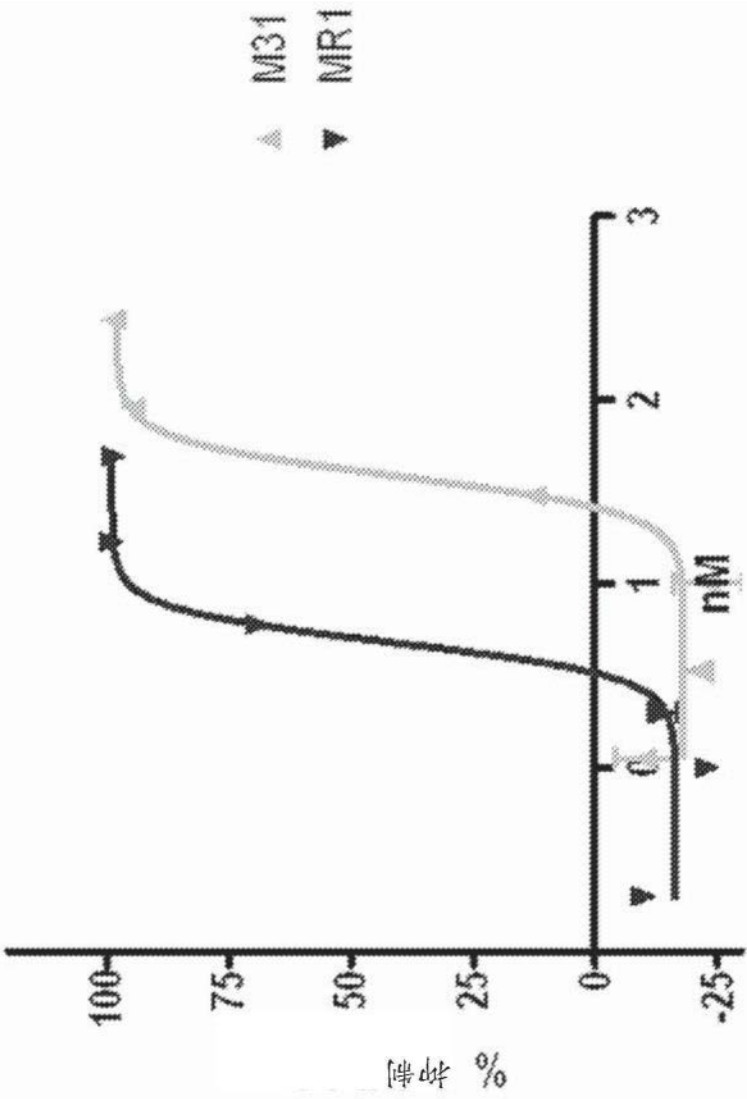


图1B

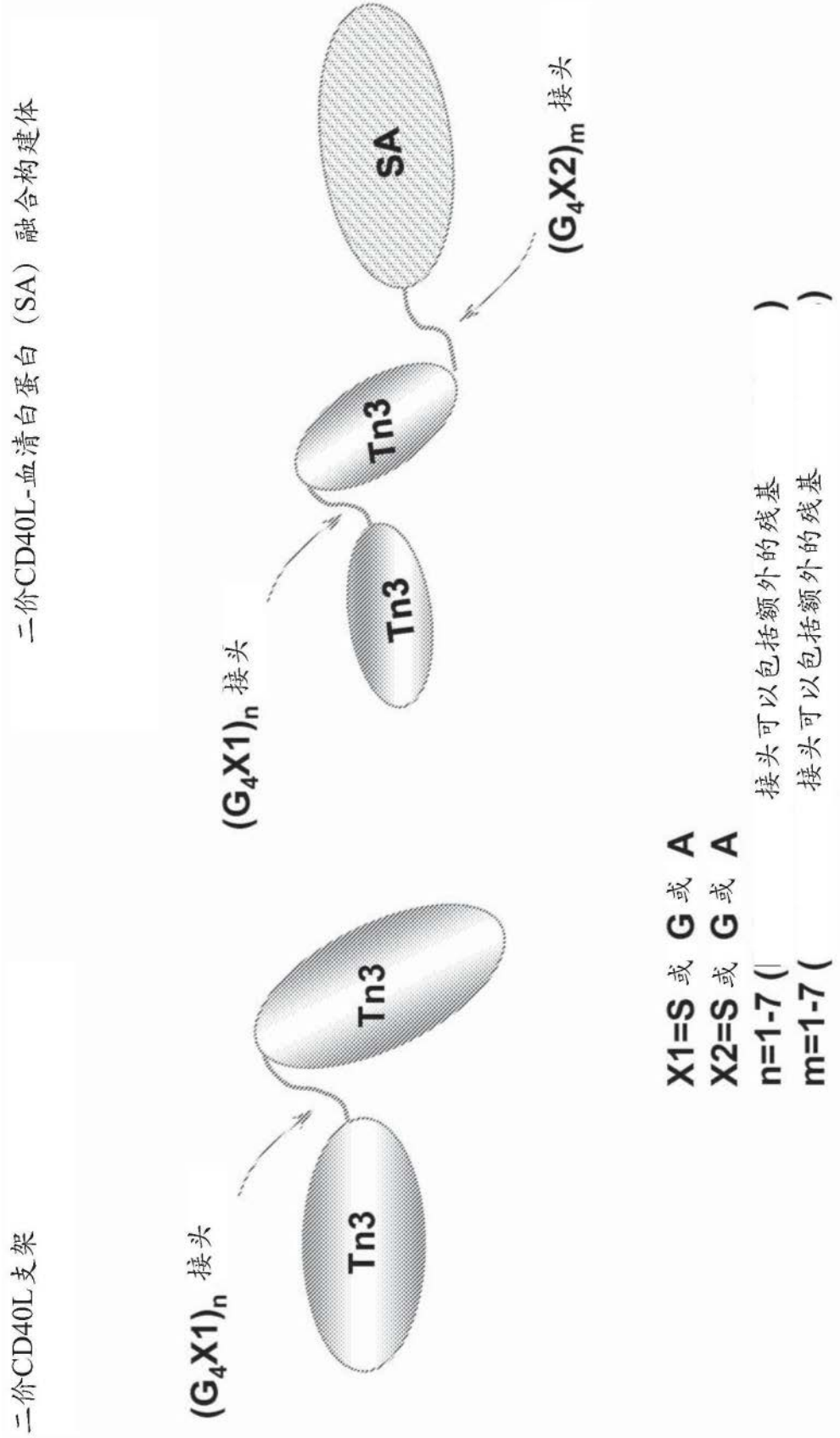


图2A

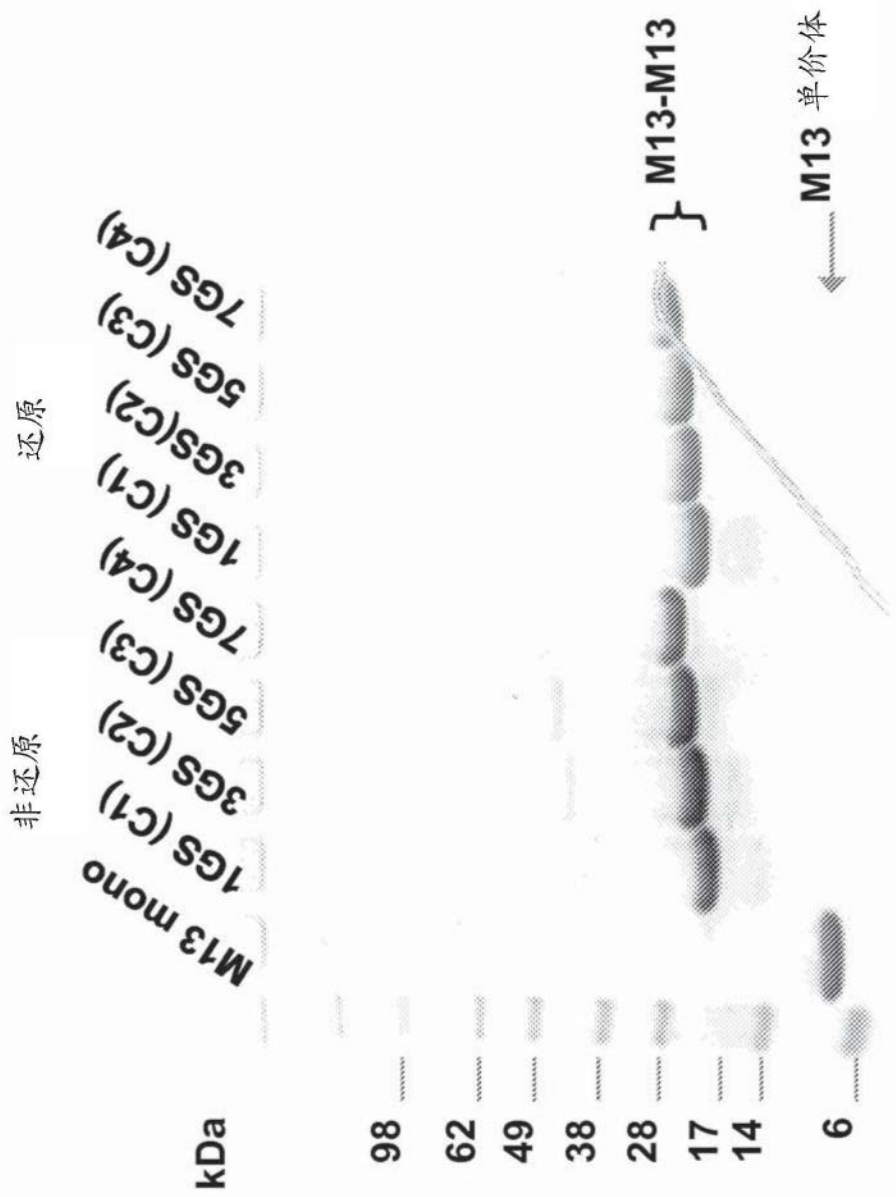


图2B

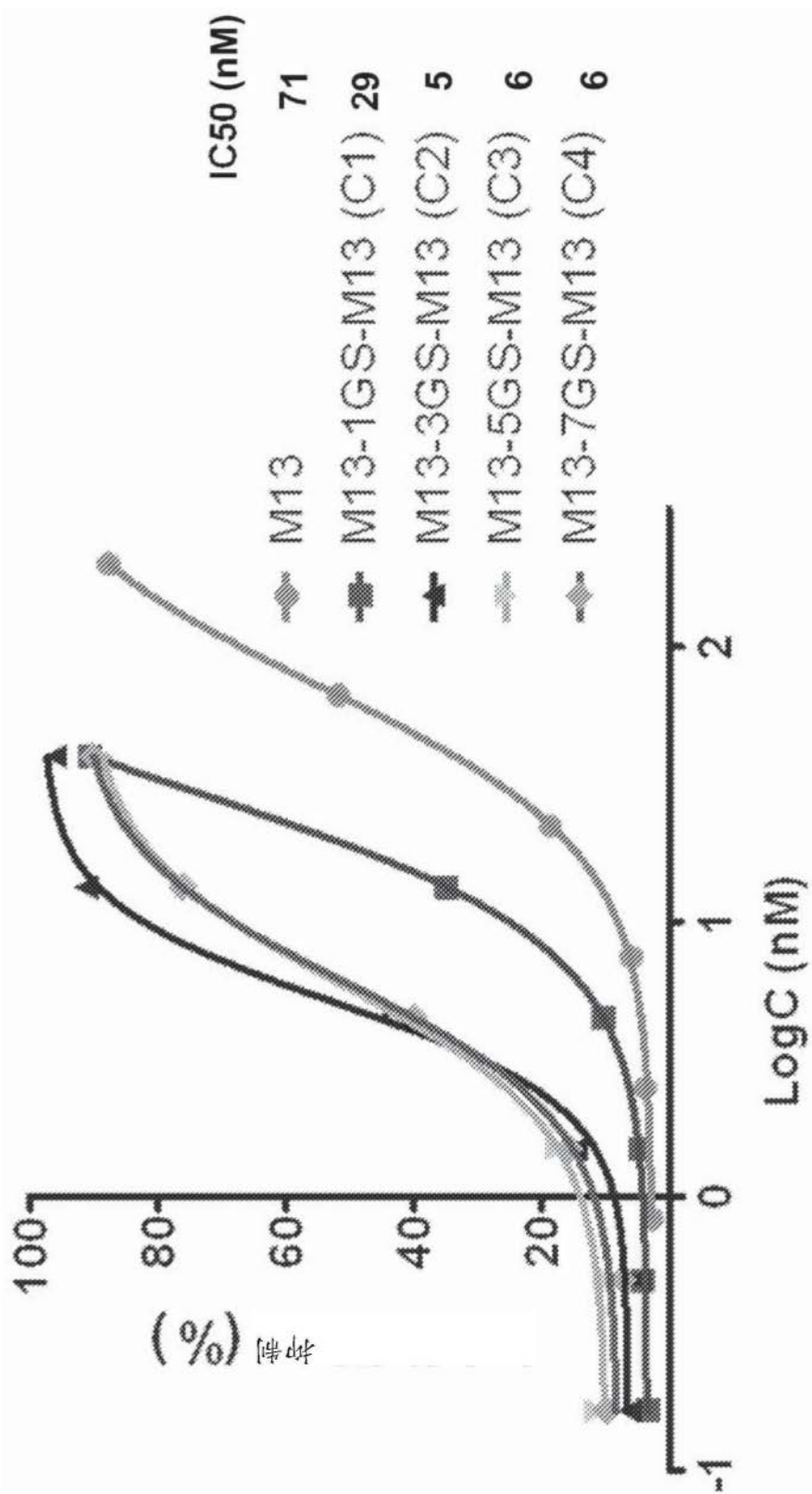


图2C

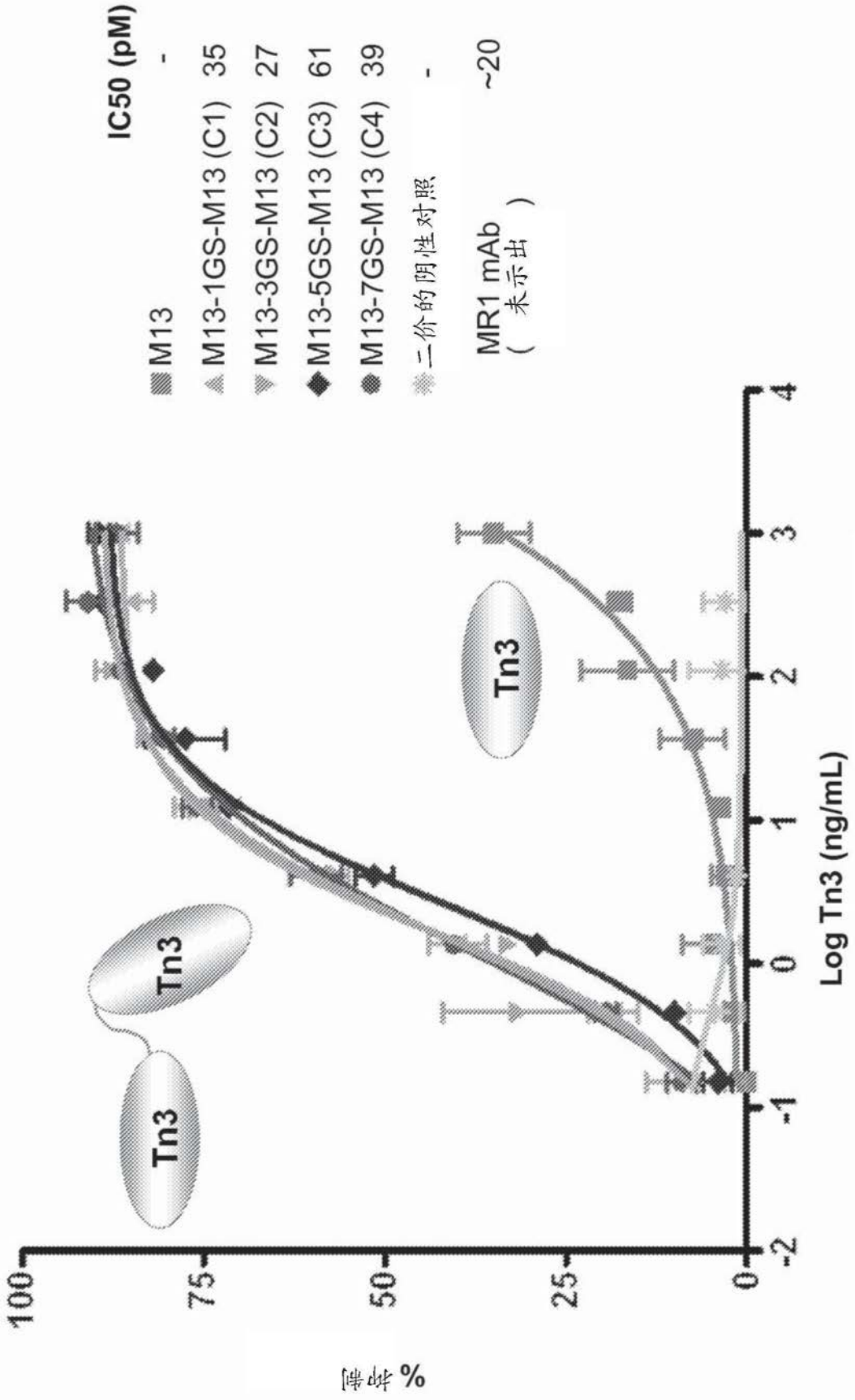


图2D

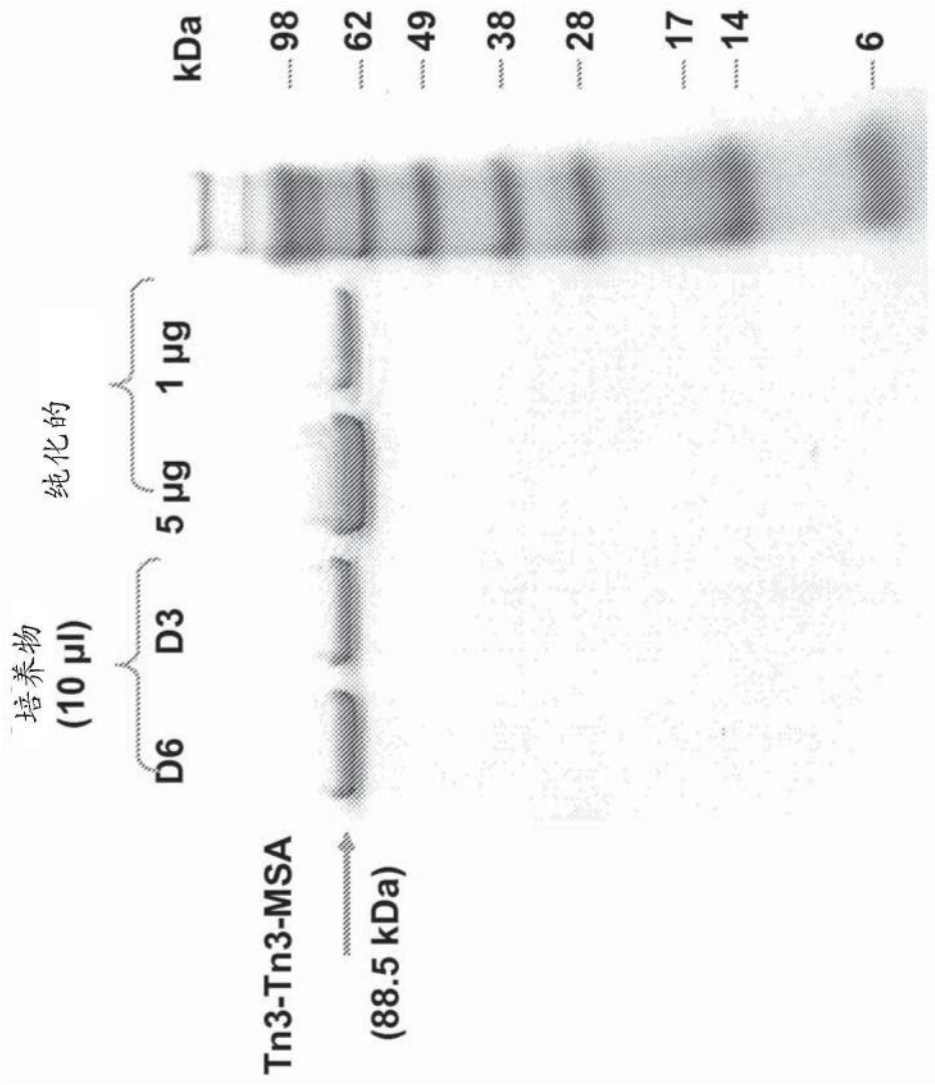


图3A

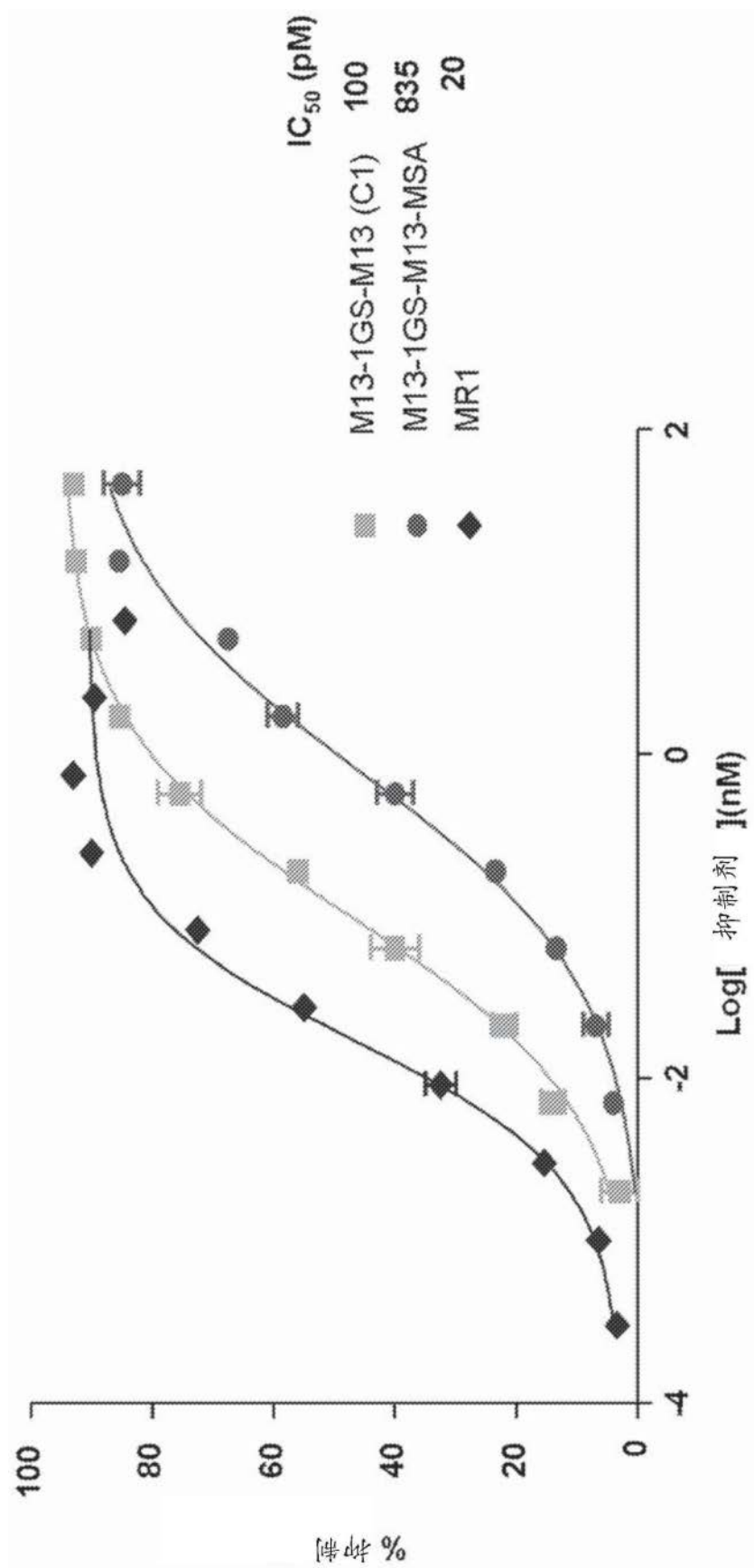


图3B

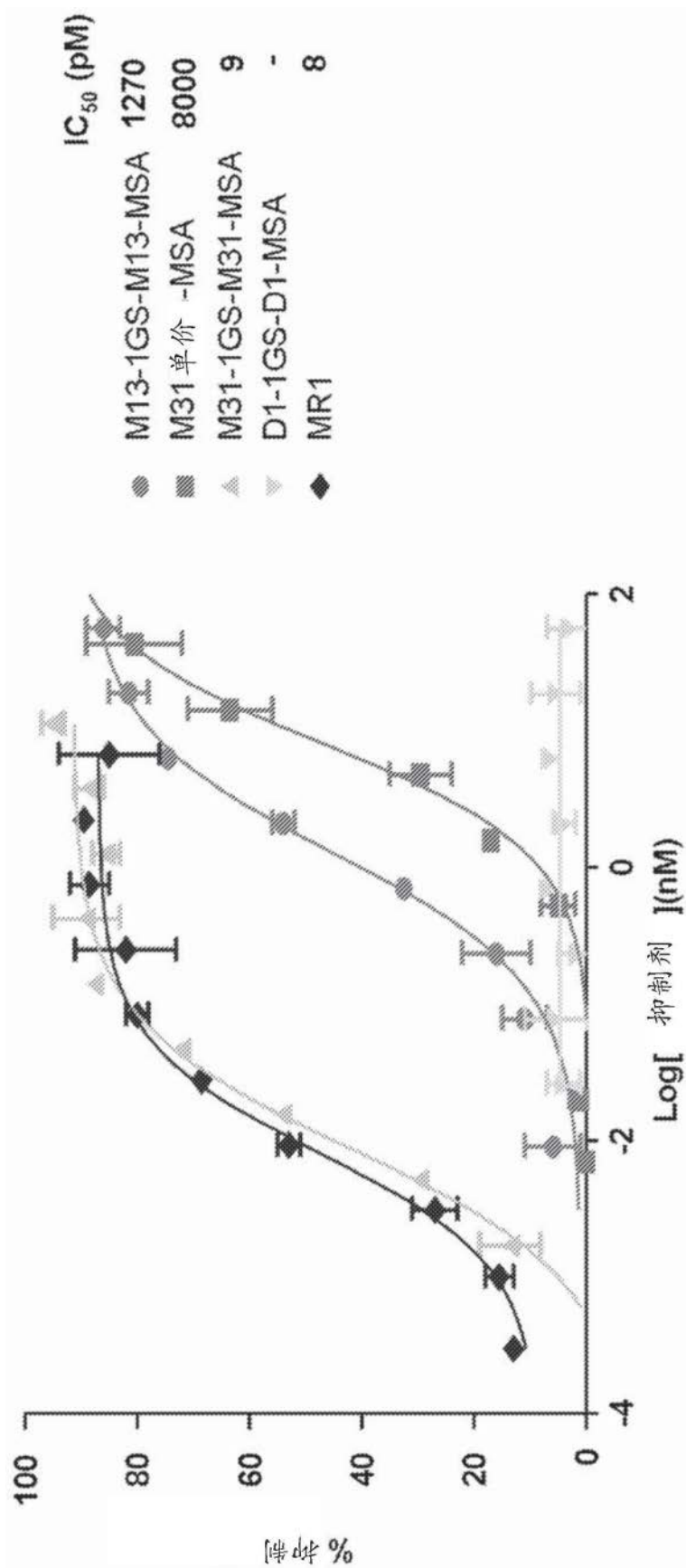


图3C

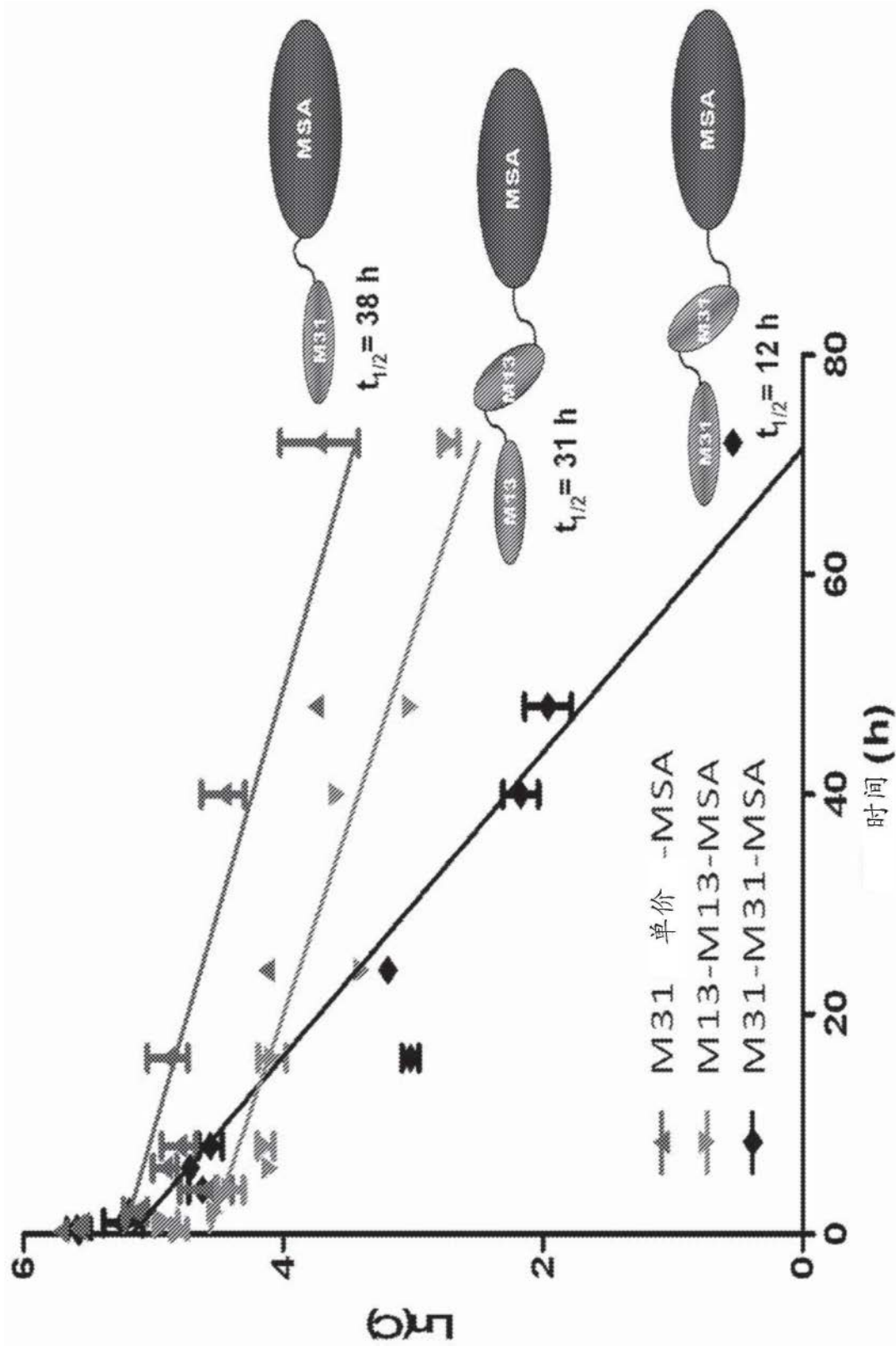


图4A

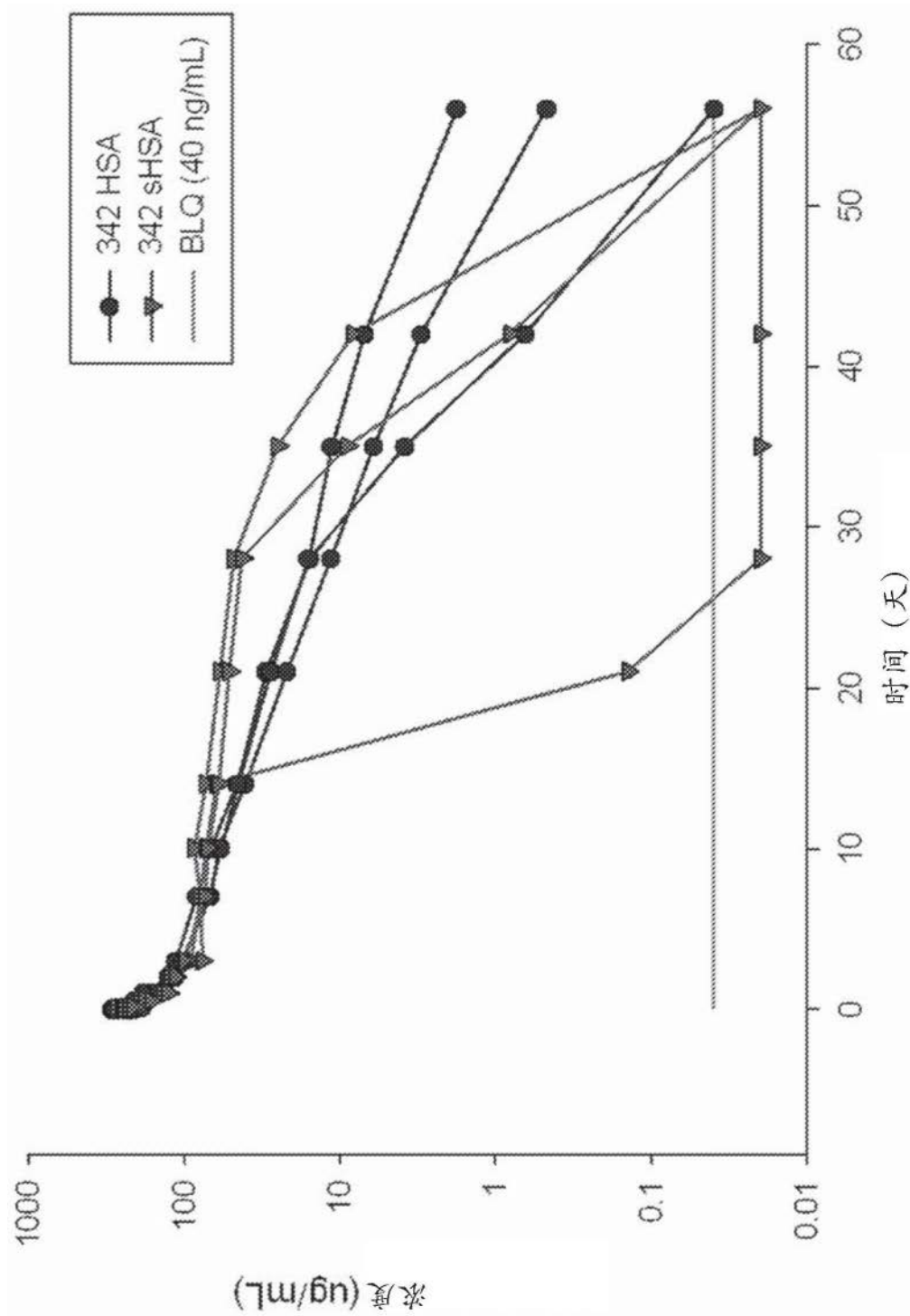


图4B

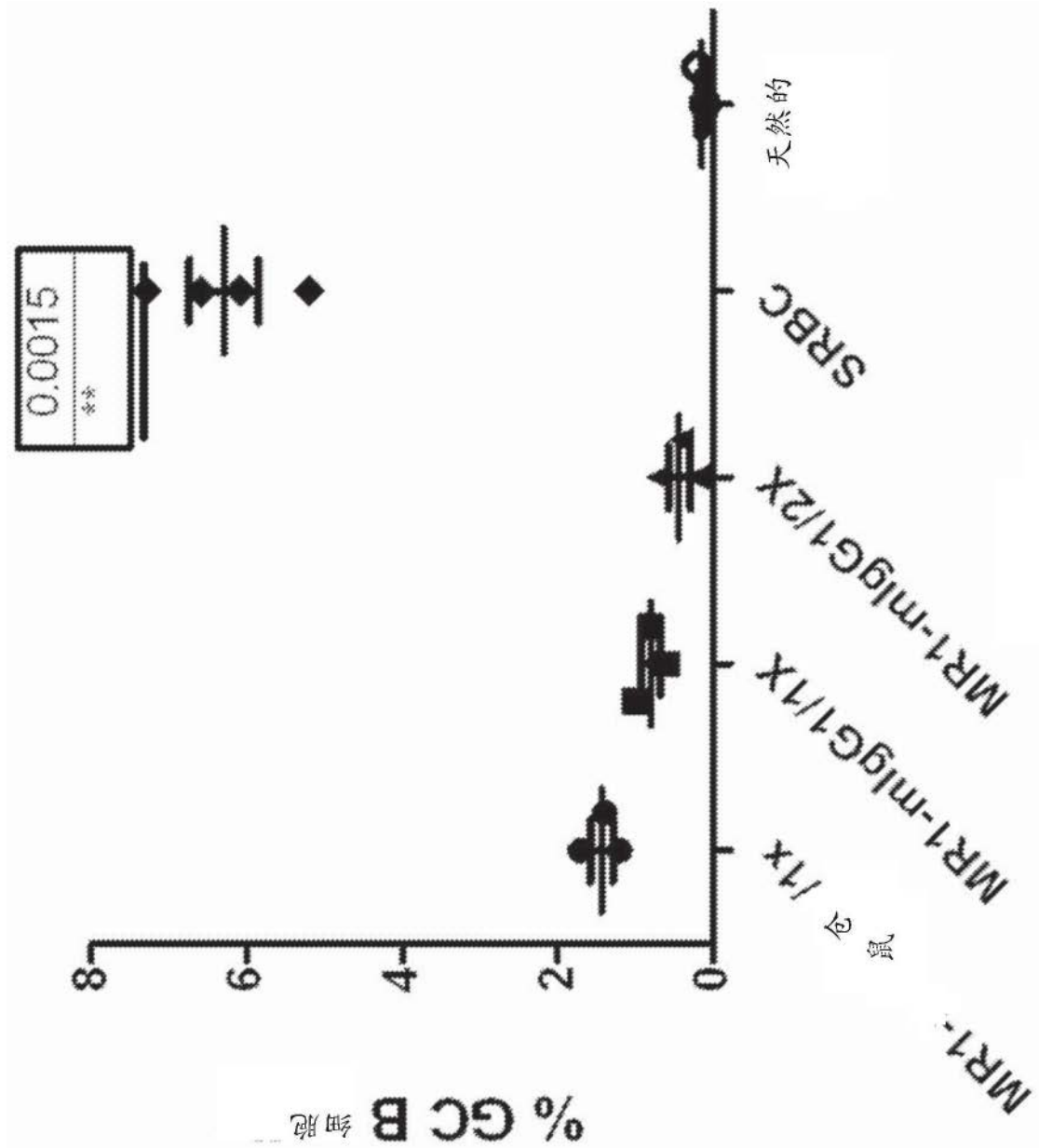


图5A

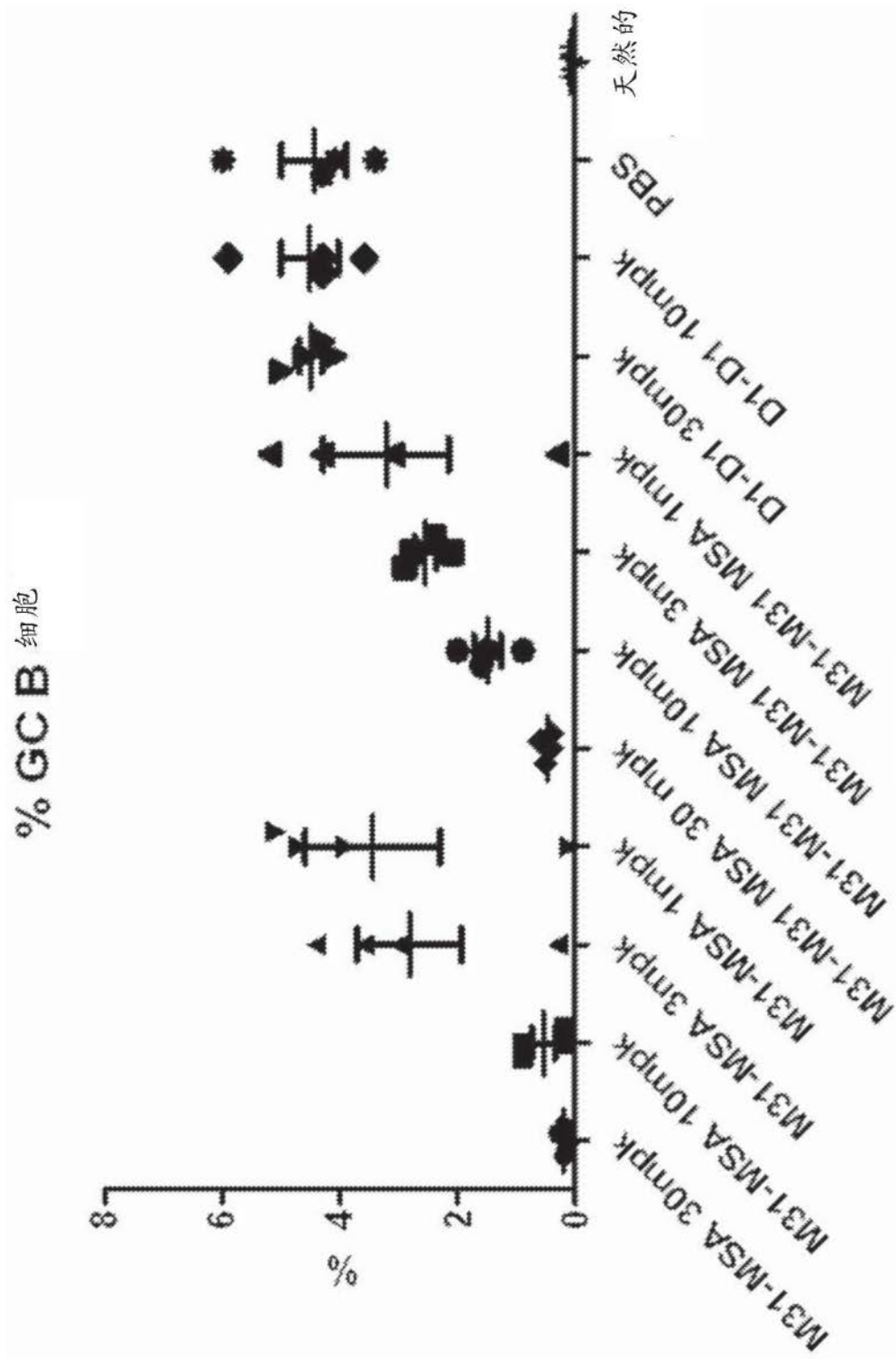


图5B

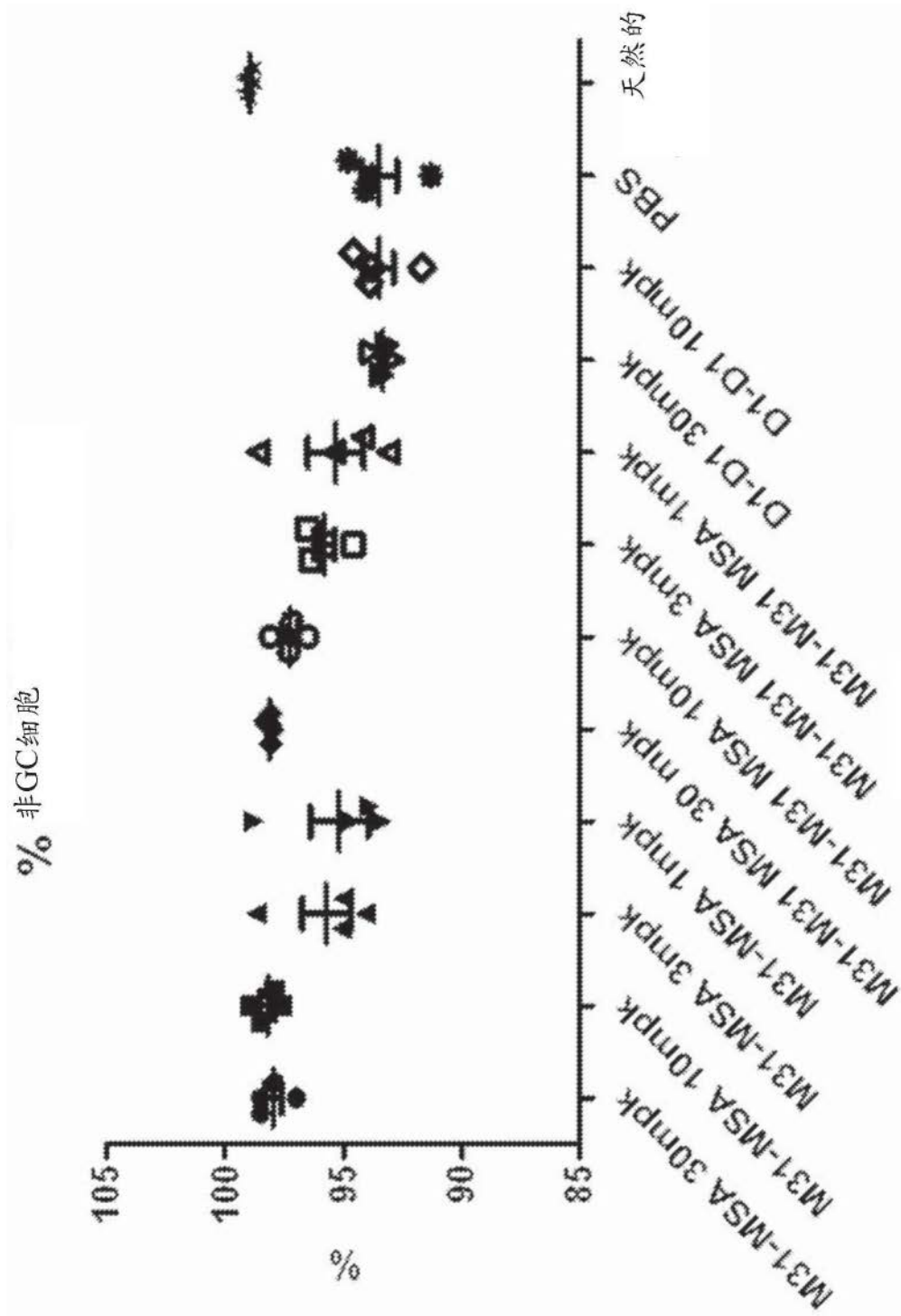


图5C

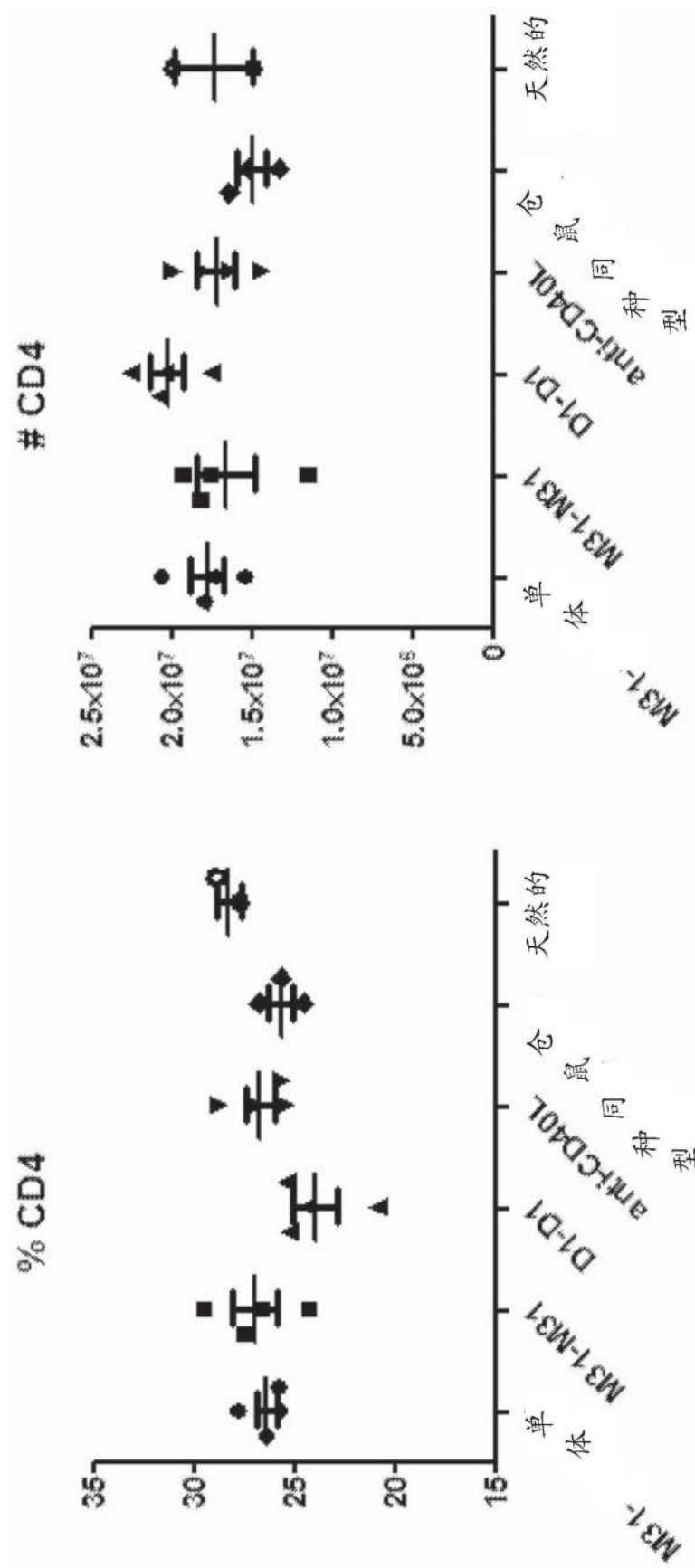


图5D

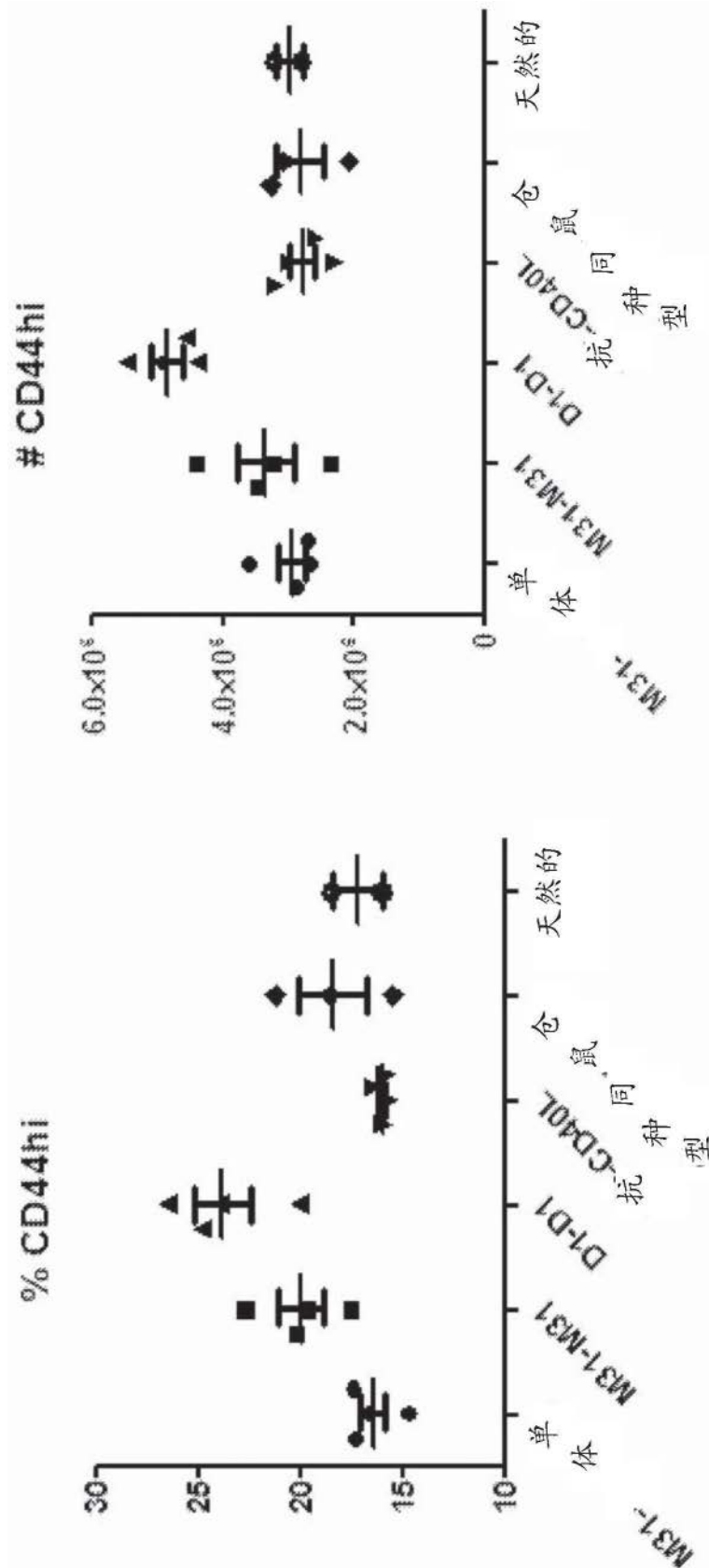


图5E

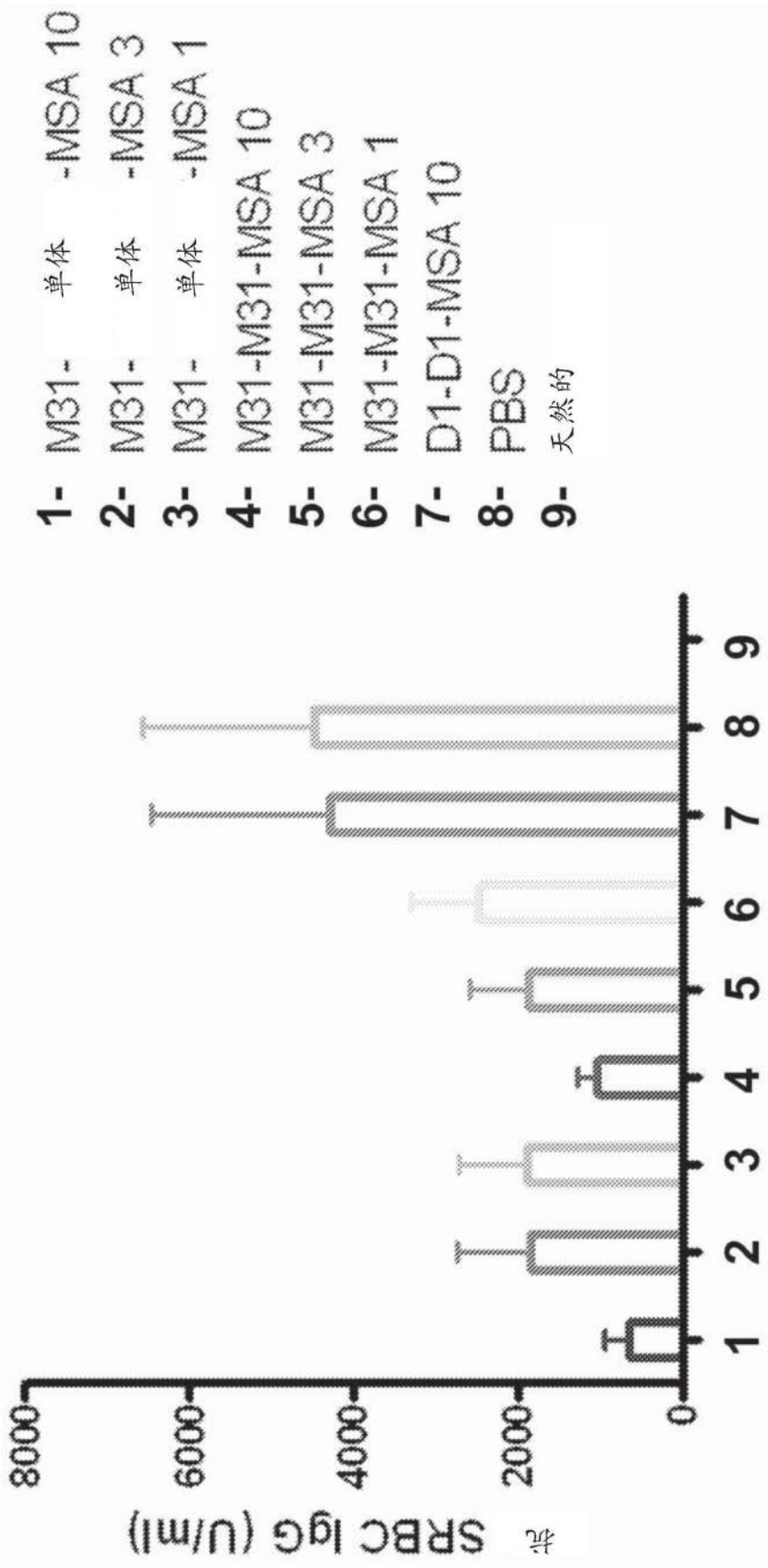


图5F

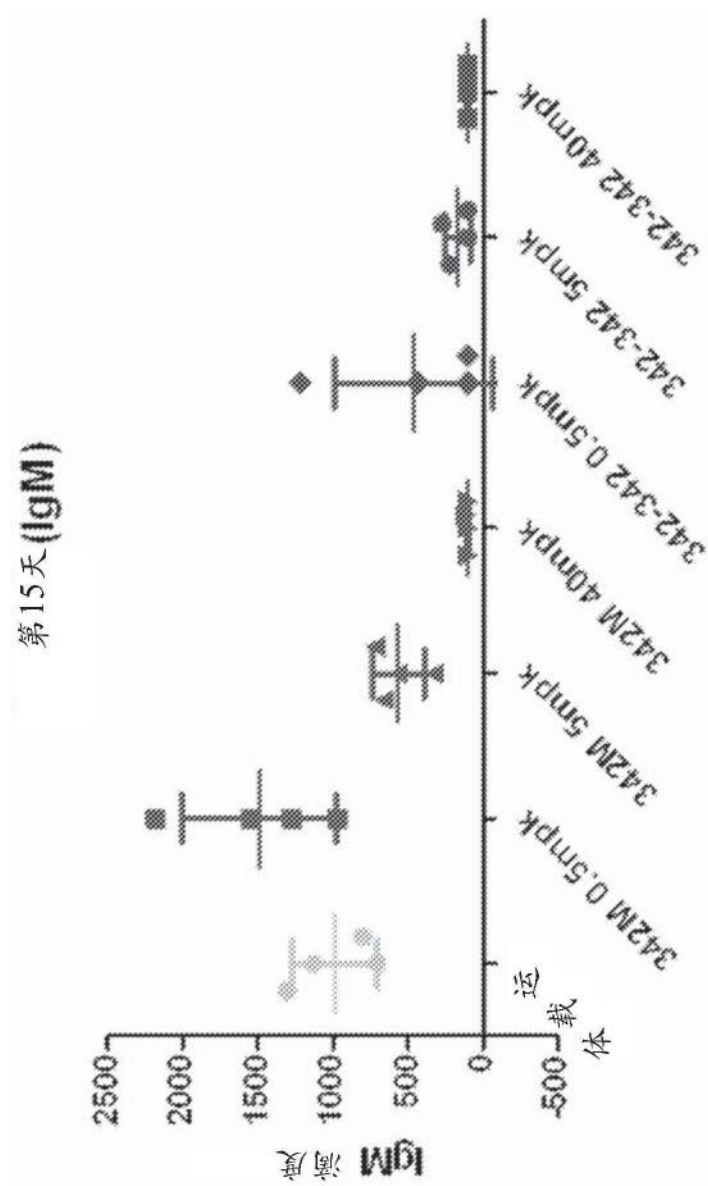


图5G

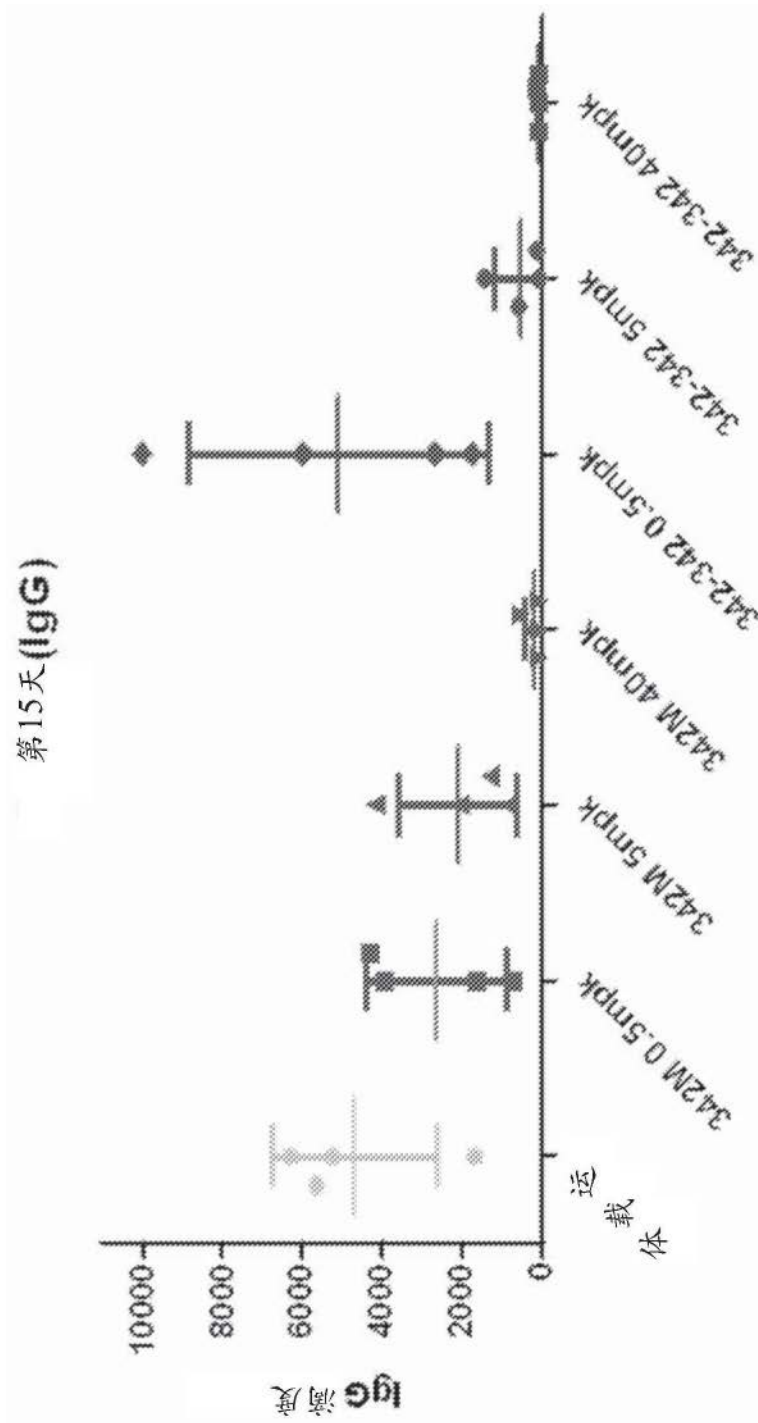


图5H

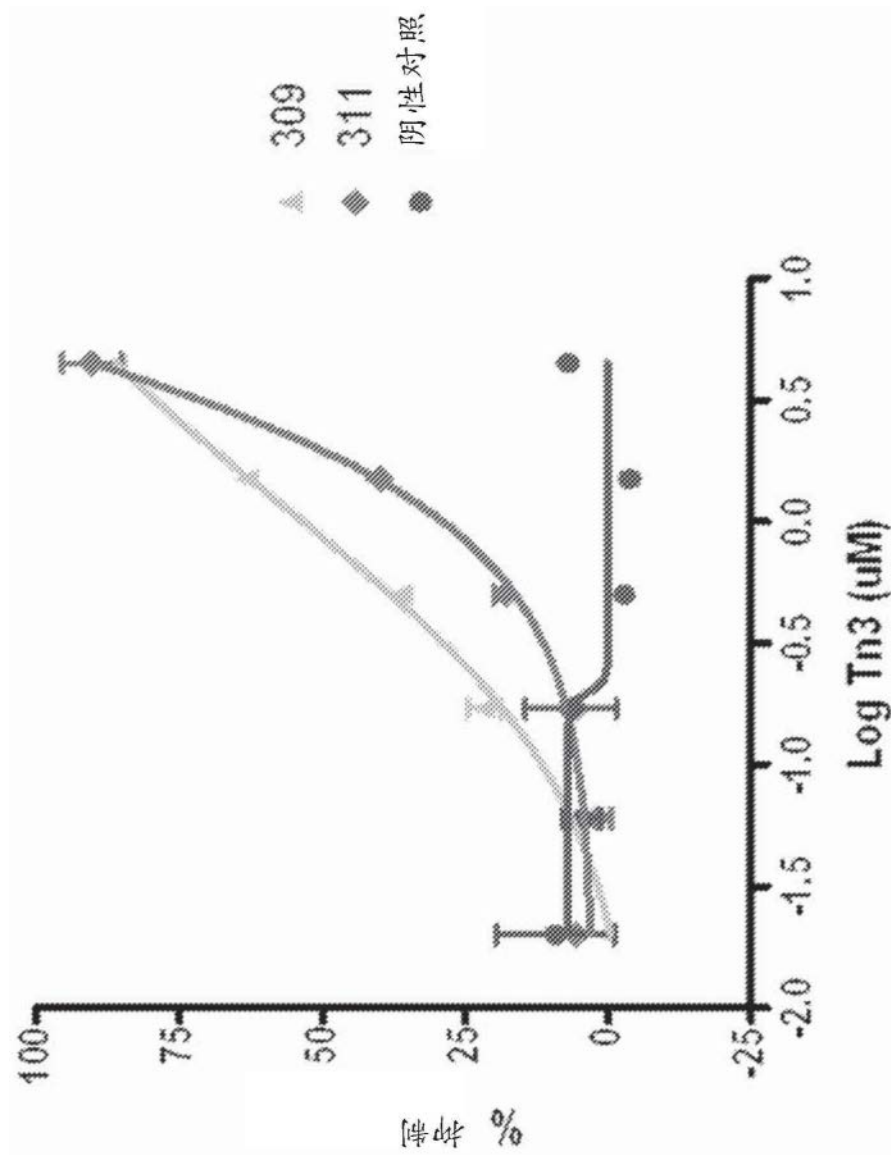


图6A

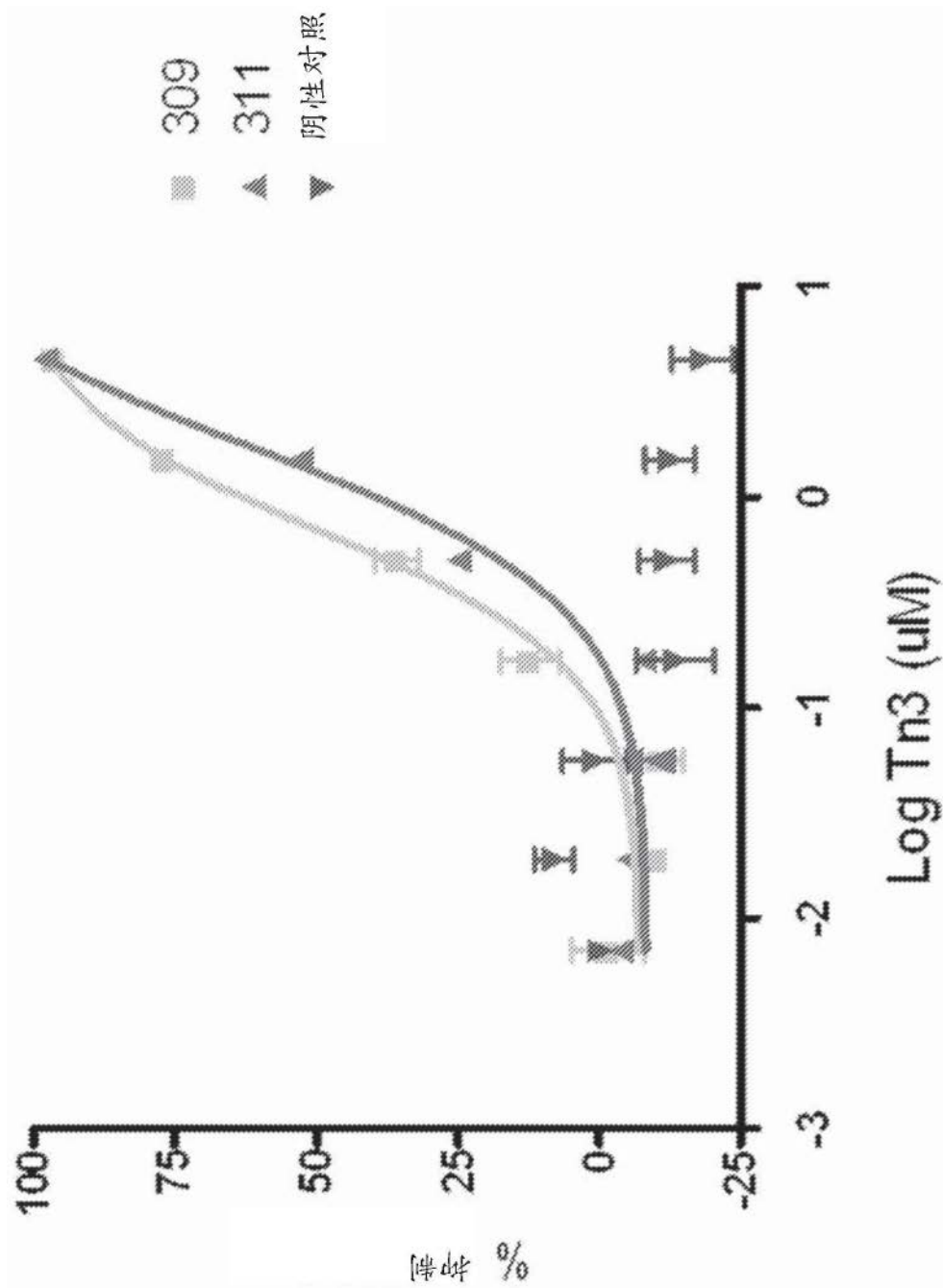


图6B

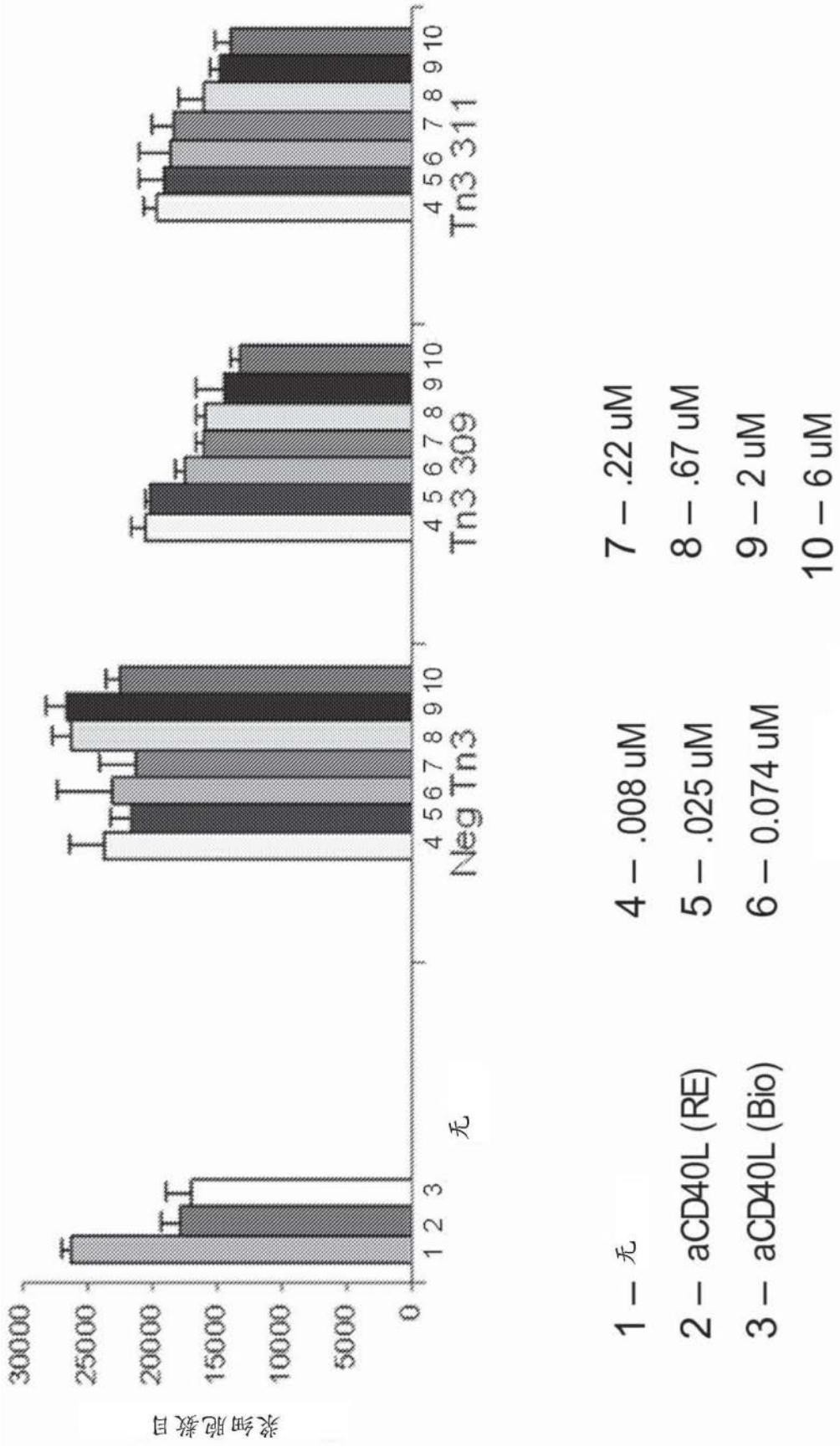


图6C

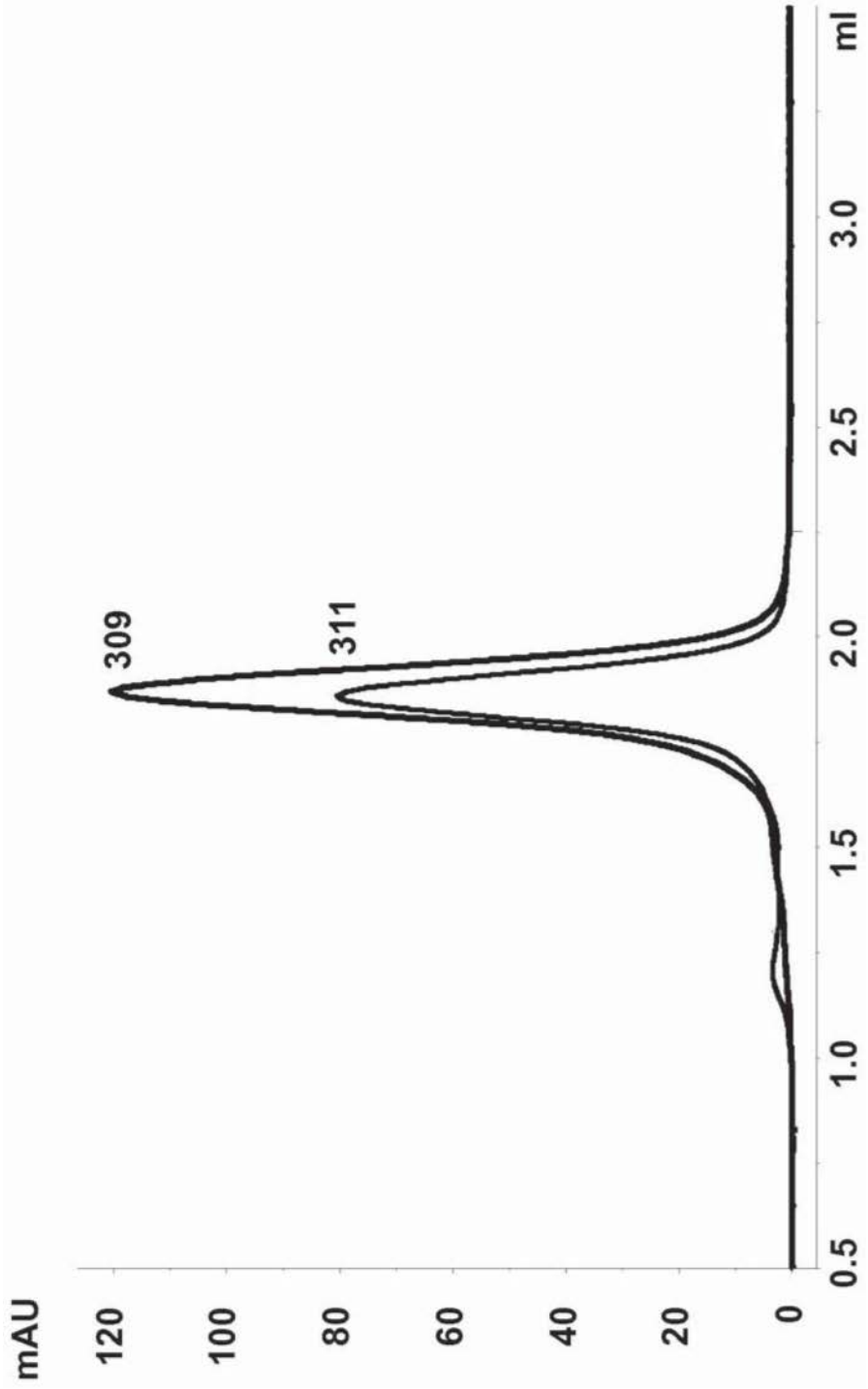


图7A

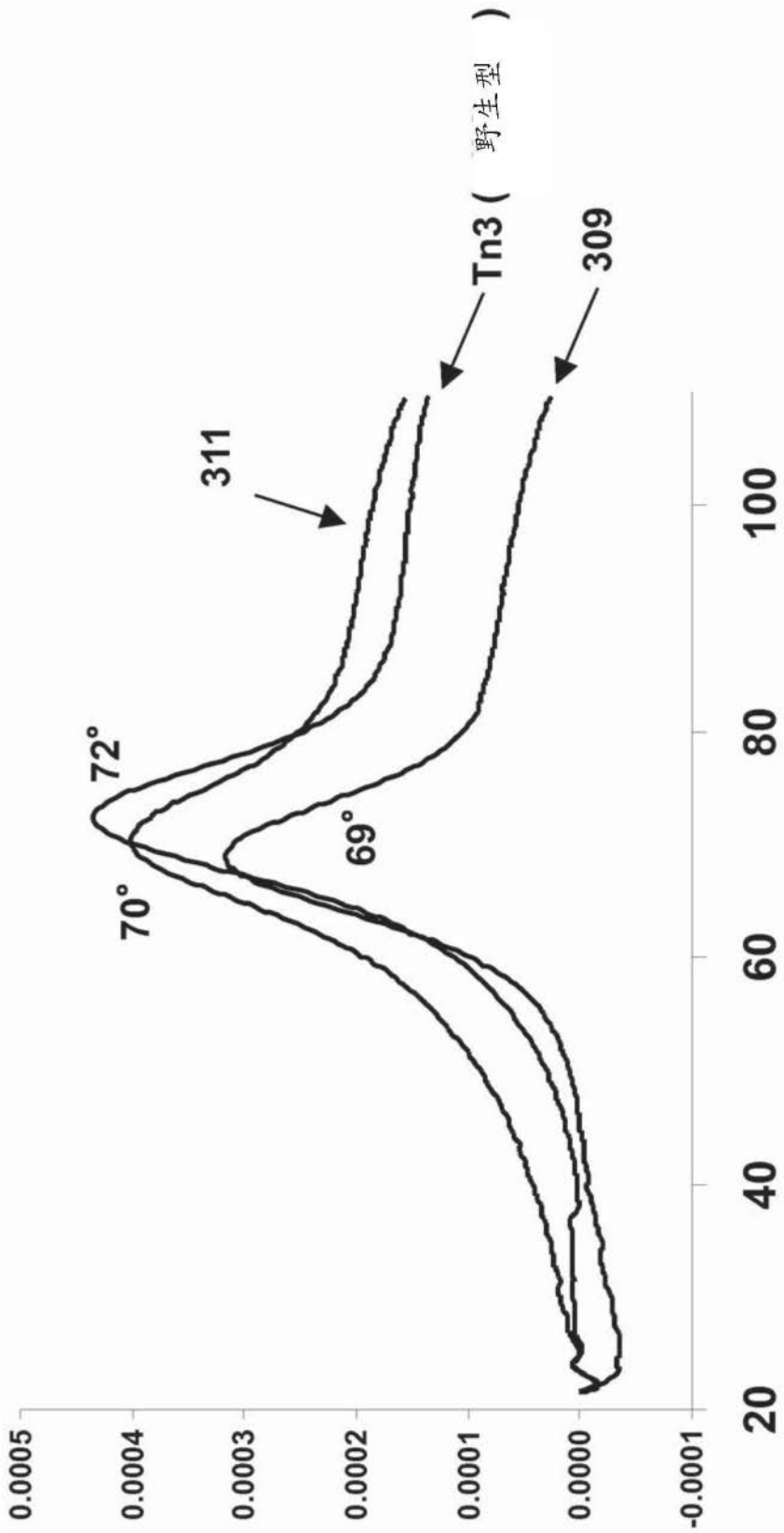


图7B

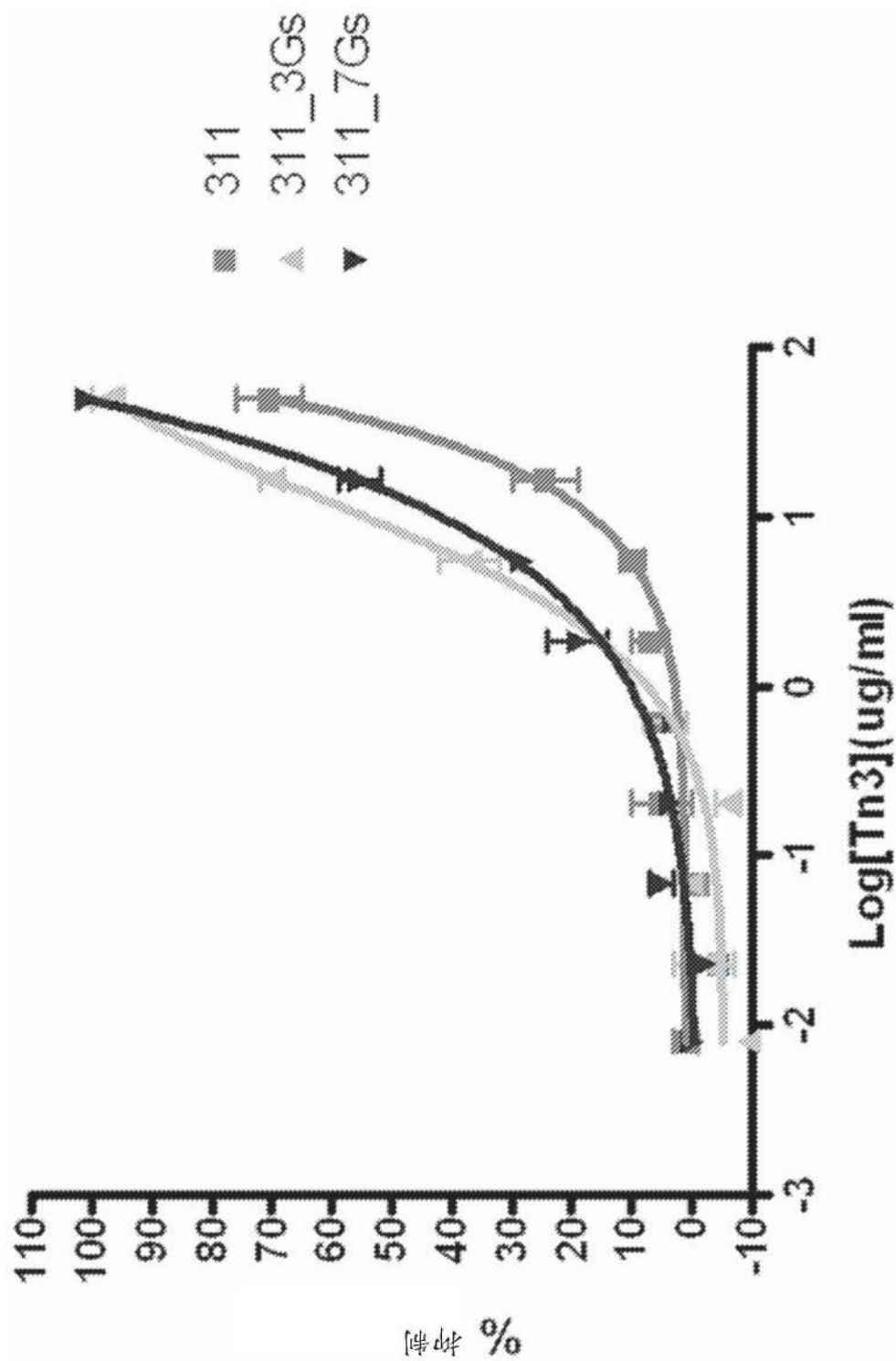


图8A

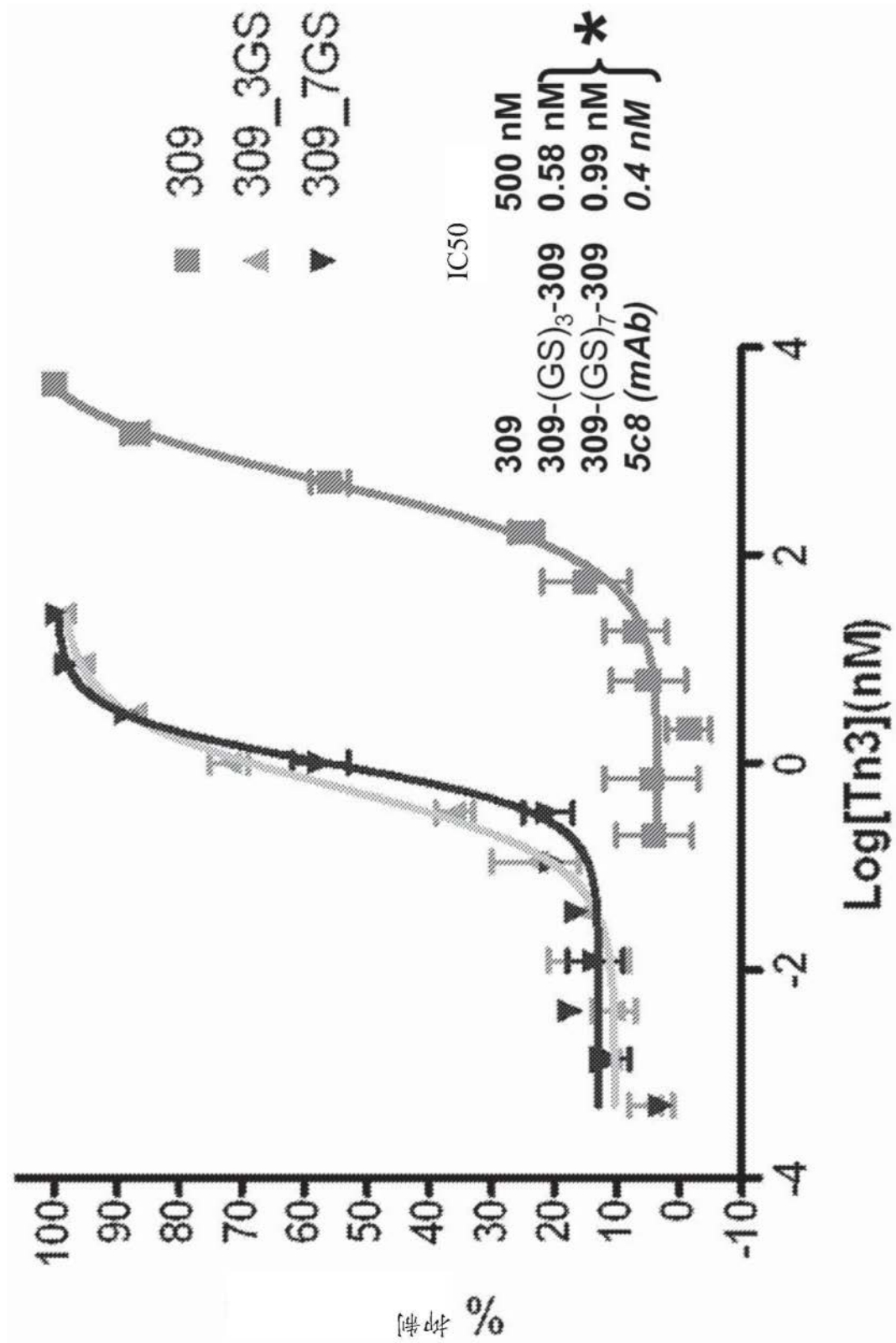


图8B



图9A

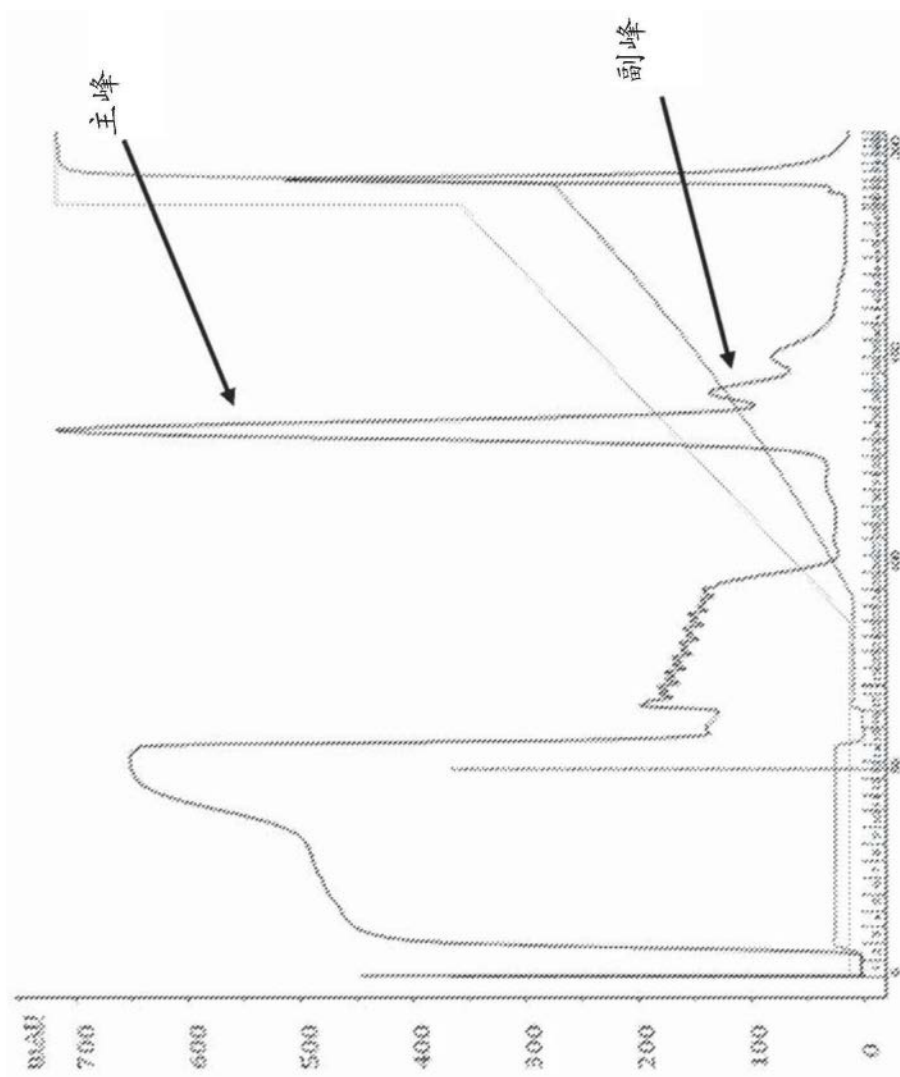


图9B

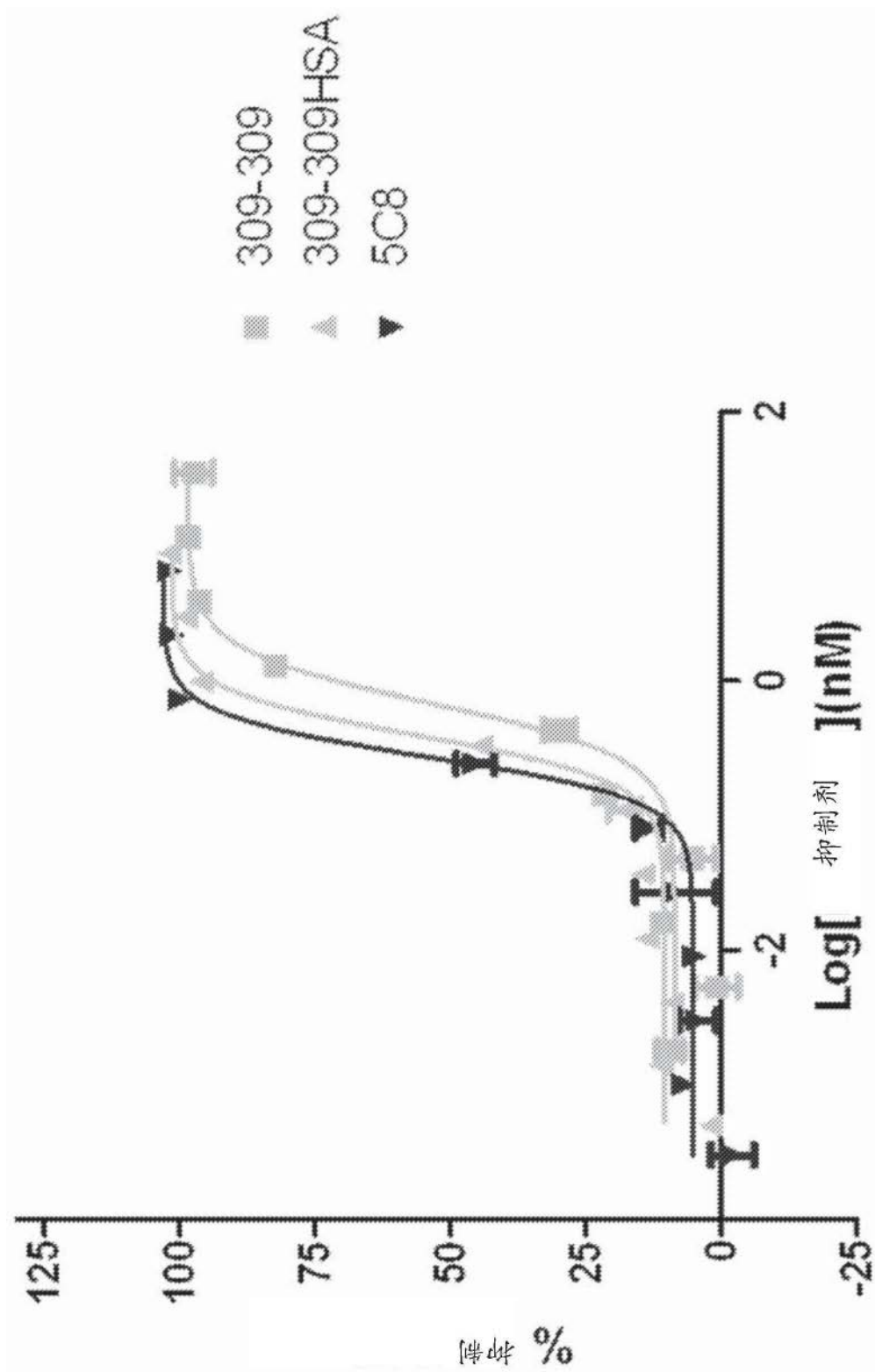


图9C

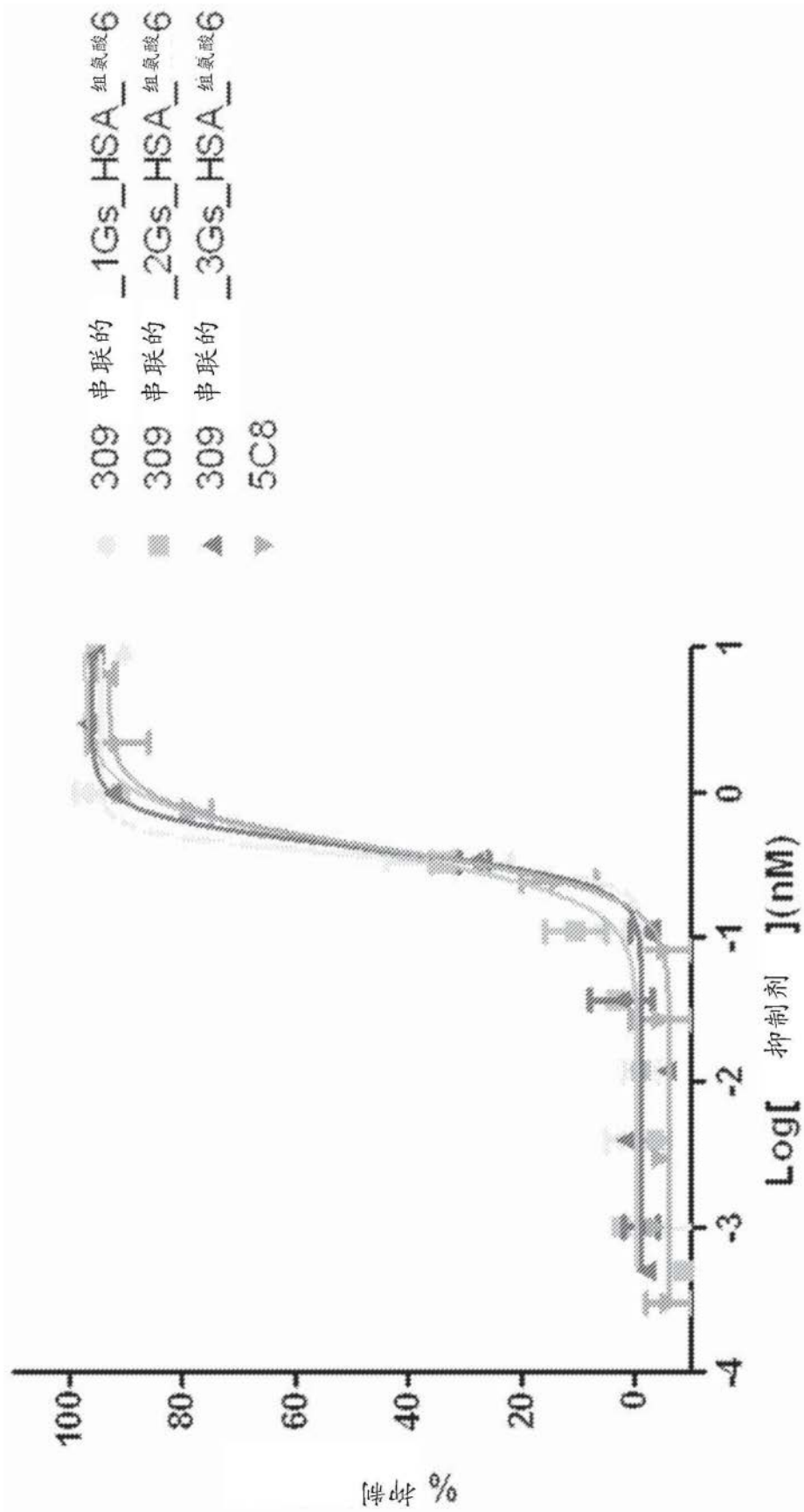


图9D

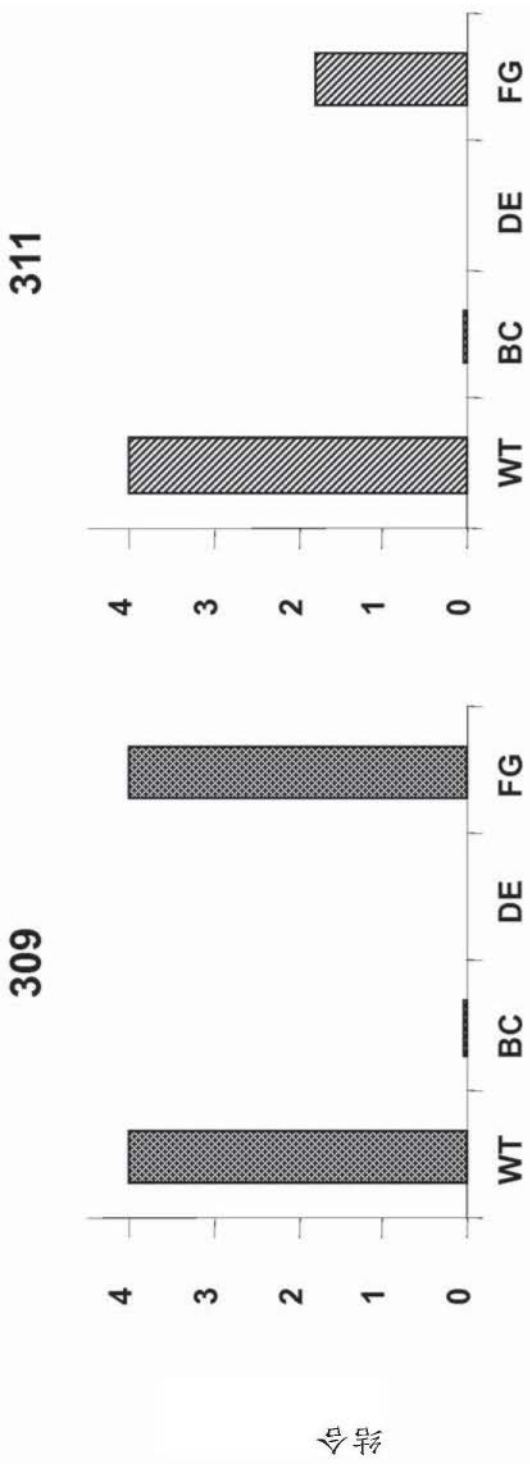


图10A

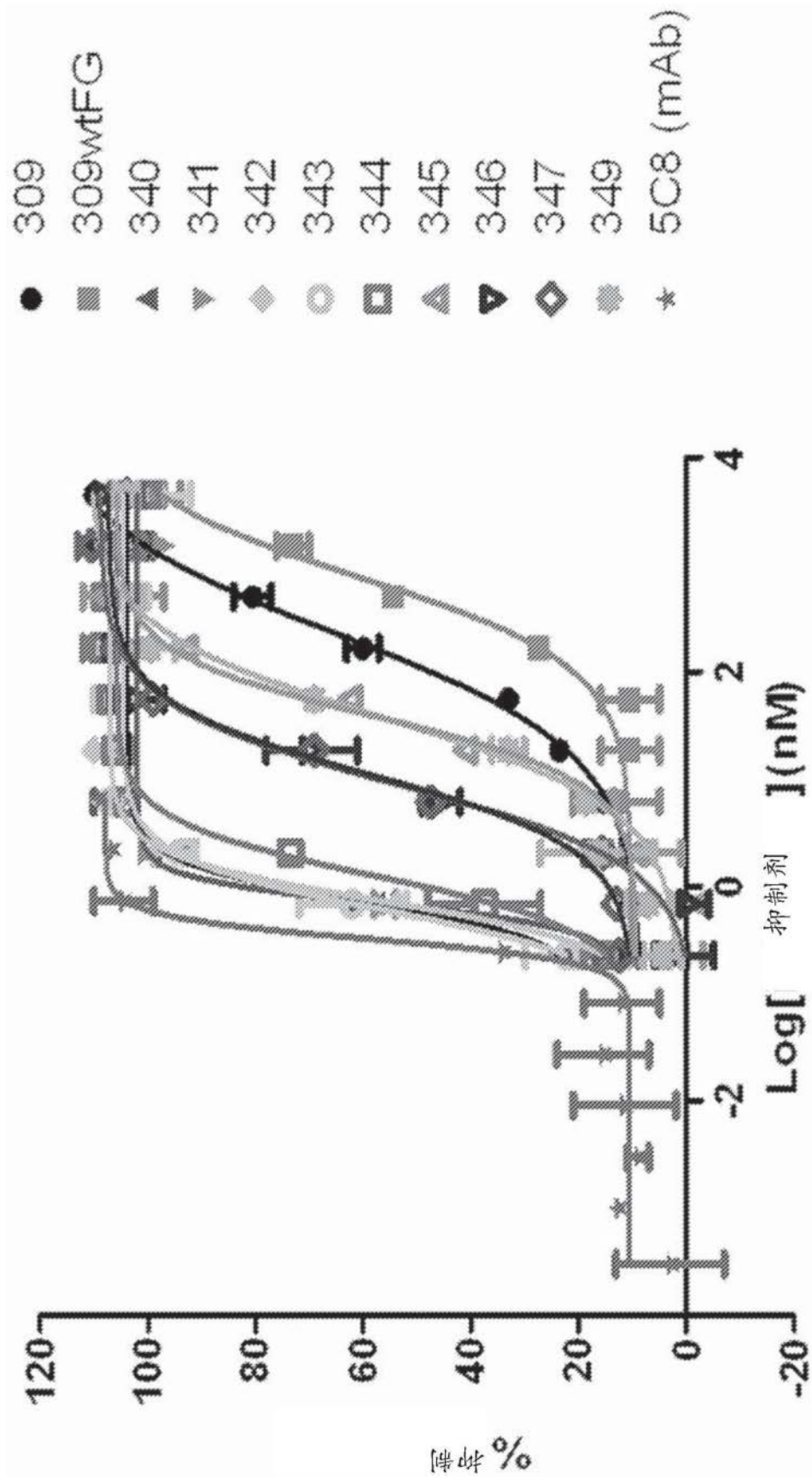


图10B

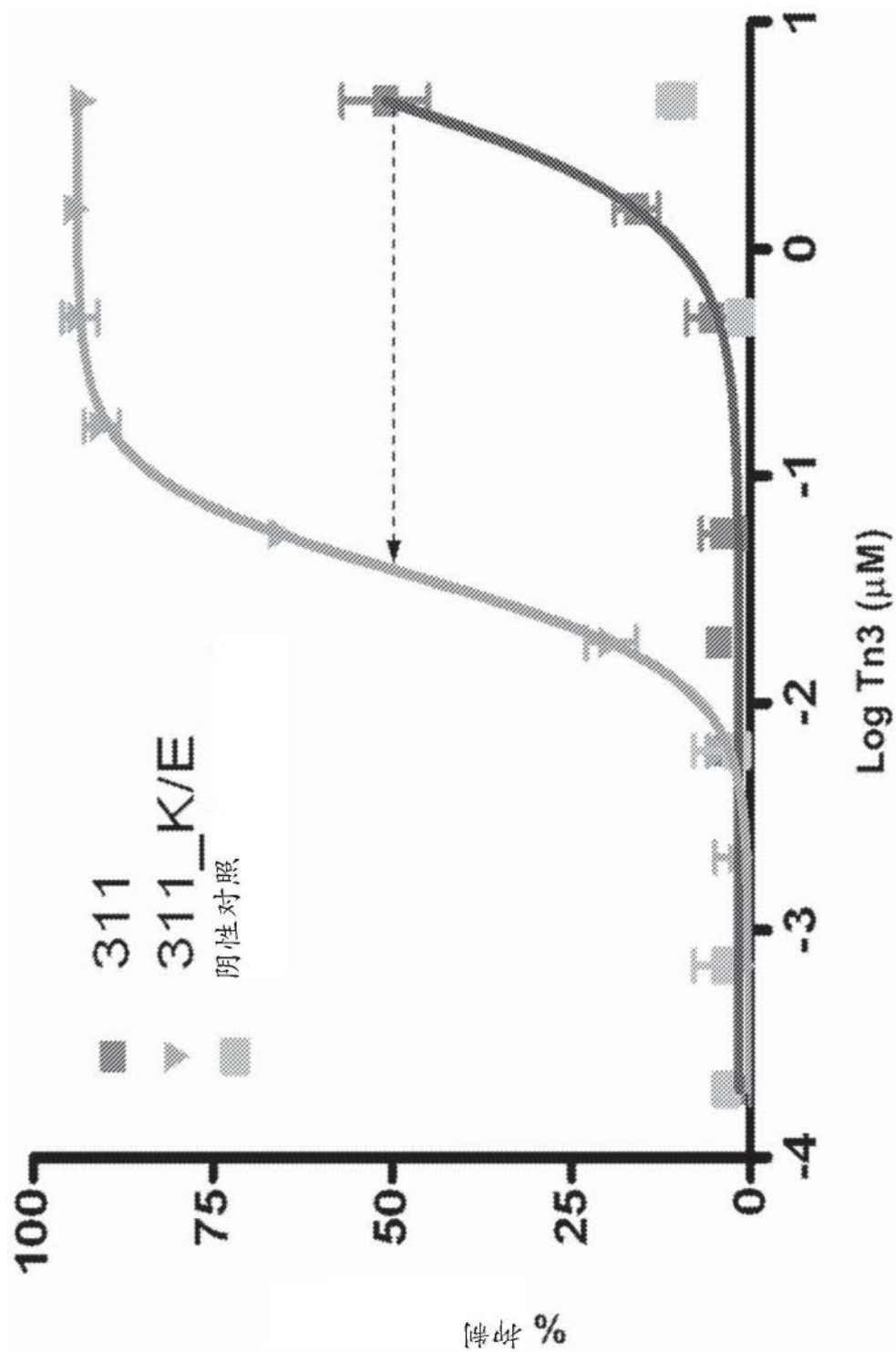


图10C

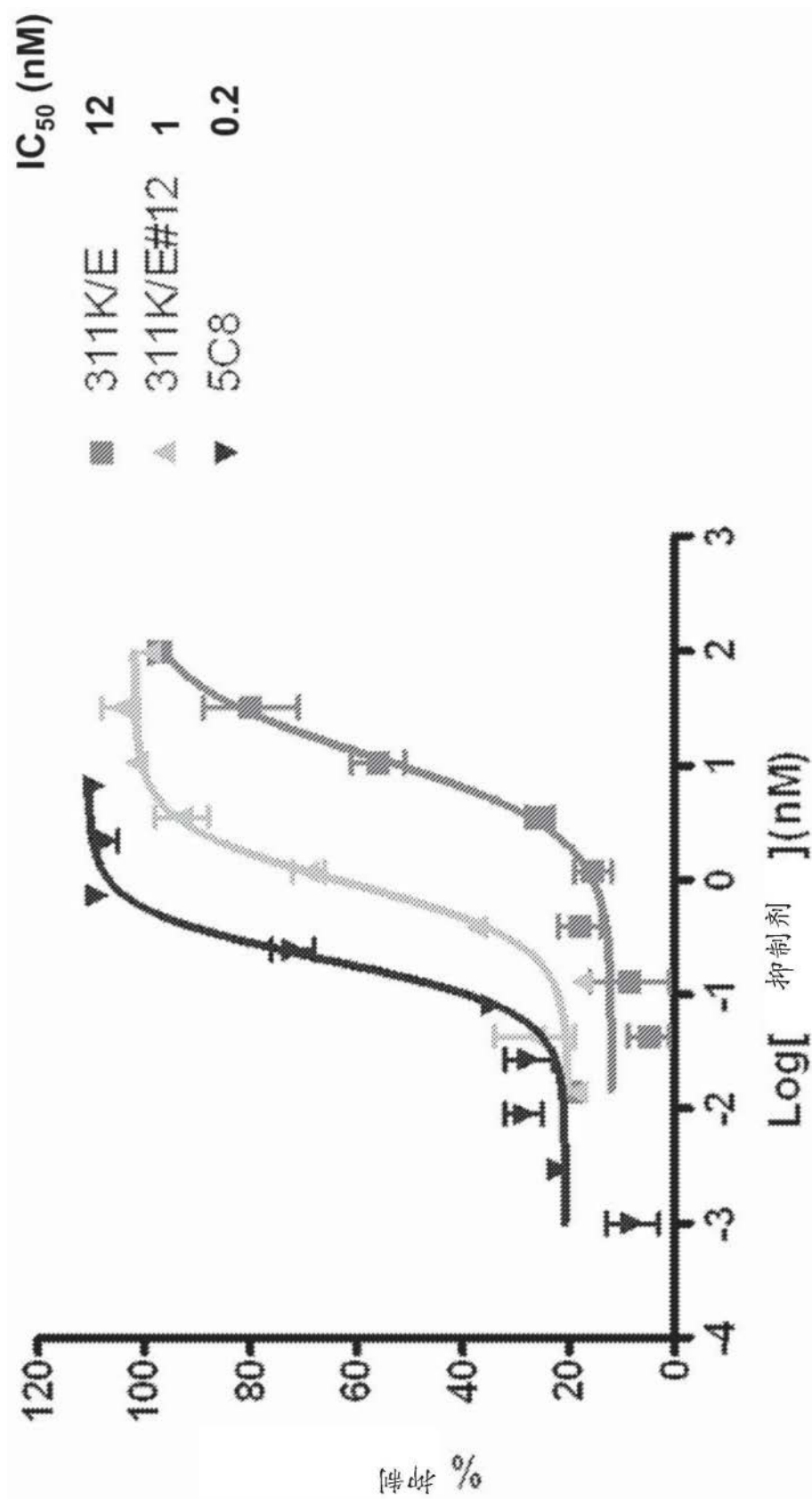


图10D

DE 环										FG 环																																
309	L	W	N	H	S	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	Y	T	D	Q	E	A	G	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
309FGwt	L	W	N	H	S	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
340	L	W	Y	H	M	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
341	L	W	N	H	S	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
342	L	W	Y	H	H	A	H	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
343	L	W	Y	H	Q	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
344	L	W	Y	H	M	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
345	L	W	N	H	S	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
346	L	W	N	H	S	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
347	L	W	Y	H	M	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
348	L	W	F	H	Q	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
349	L	W	N	H	S	A	W	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	R	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83
共有区	L	W	X	H	X	A	X	Y	S	I	G	N	L	K	P	D	T	E	Y	E	V	S	L	I	C	R	X	G	D	M	S	S	N	P	A	K	E	T	F	T	T	83

图11B

BC 环																							44																			
311	IEV	K	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	Y	N	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	Y	N	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_1	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	I	N	R	S	Y	Y	A	D	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_2	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	S	H	L	D	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_3	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	I	N	R	S	S	Y	S	H	N	F	P	H	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44
311K4E_4	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	S	N	H	L	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_5	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	S	N	F	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_7	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	S	N	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_8	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	A	Y	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_9	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	I	N	R	S	S	Y	A	N	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_10	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	A	N	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_11	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	A	N	L	P	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_12	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	S	N	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_13	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	I	N	R	S	S	Y	A	N	L	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_14	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	A	R	S	A	Y	S	H	H	Y	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44		
311K4E_15	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	A	N	Y	H	H	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_16	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	S	D	L	P	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_19	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	H	R	S	A	Y	S	N	H	S	F	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
311K4E_20	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	L	Y	A	N	F	H	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44
311K4E_21	IEV	E	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	T	N	R	S	S	Y	S	N	L	P	G	C	E	L	T	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	
共有区		IEV	X	D	V	T	D	T	A	L	I	T	W	X	X	R	S	X	Y	X	X	X	X	C	E	L	X	Y	G	I	K	D	V	P	G	D	R	T	I	D	44	

图12A

311	DE 环	FG 环	
311K4E	LSSP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_1	LSSP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_2	LDQI-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_3	LSAAIYVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	87
311K4E_4	LNSP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_5	LNNI-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_6	LNSP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_7	LNQP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_8	LNQP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_9	LSSP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_10	LNQP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_11	LNSP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_12	LNQP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_13	LNSP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_14	LRSPP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_15	LEL-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	85
311K4E_16	LSSP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_19	LNTP-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_20	LEQV-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
311K4E_21	LNQV-YVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	86
共有区	LXXXXYVH	LTDTDGTYSNPAKKEFTT	87

图12B

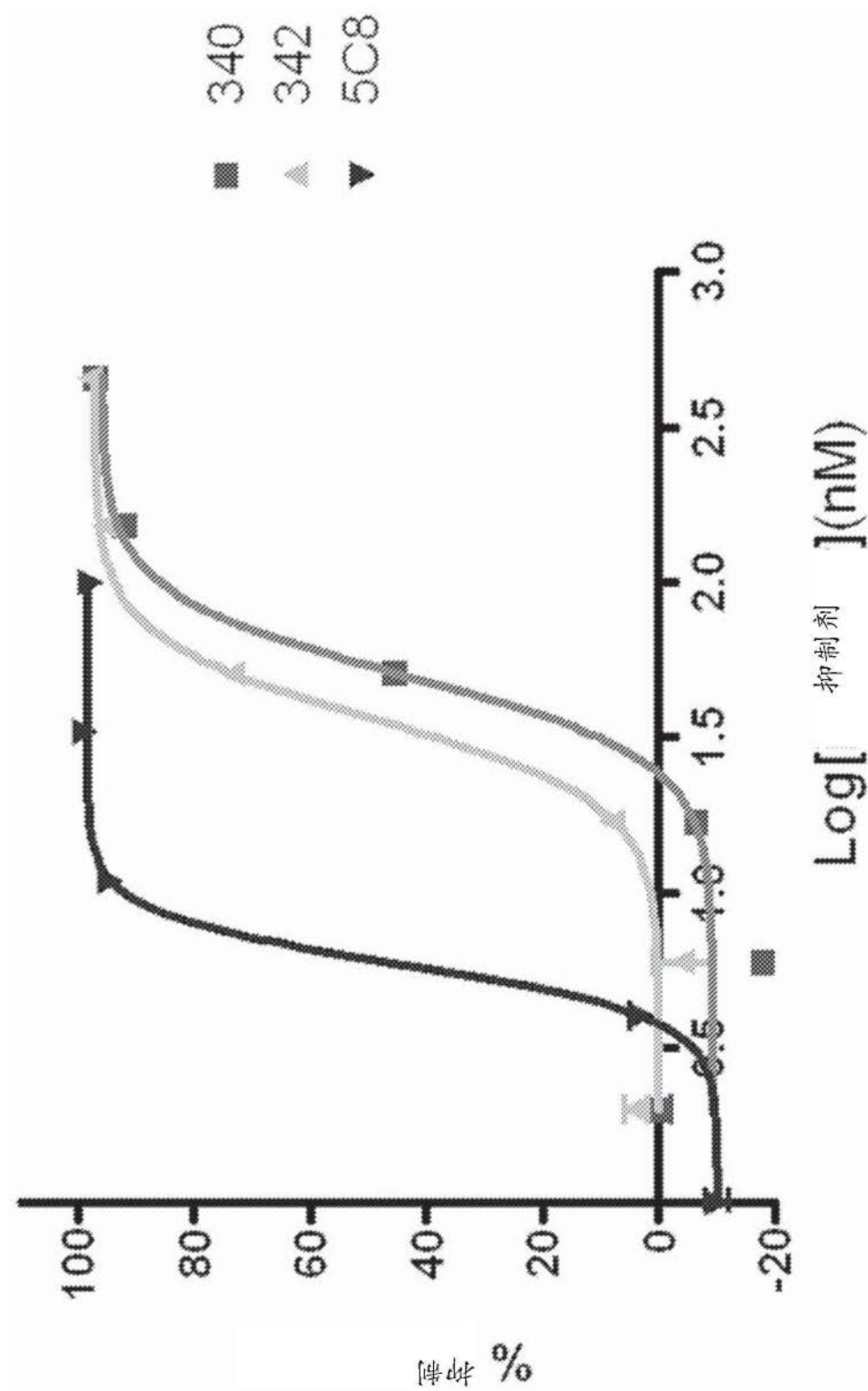


图13

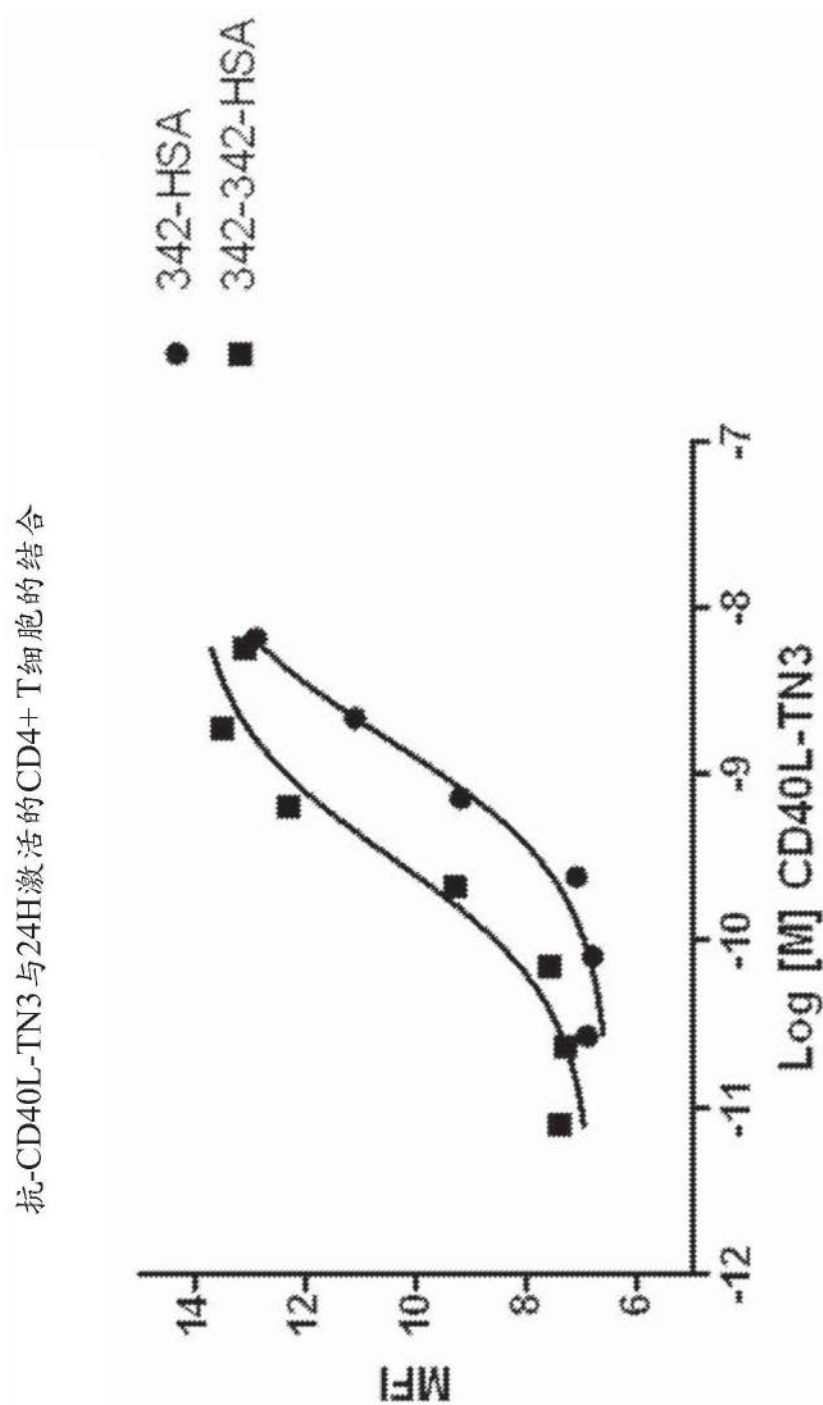


图14

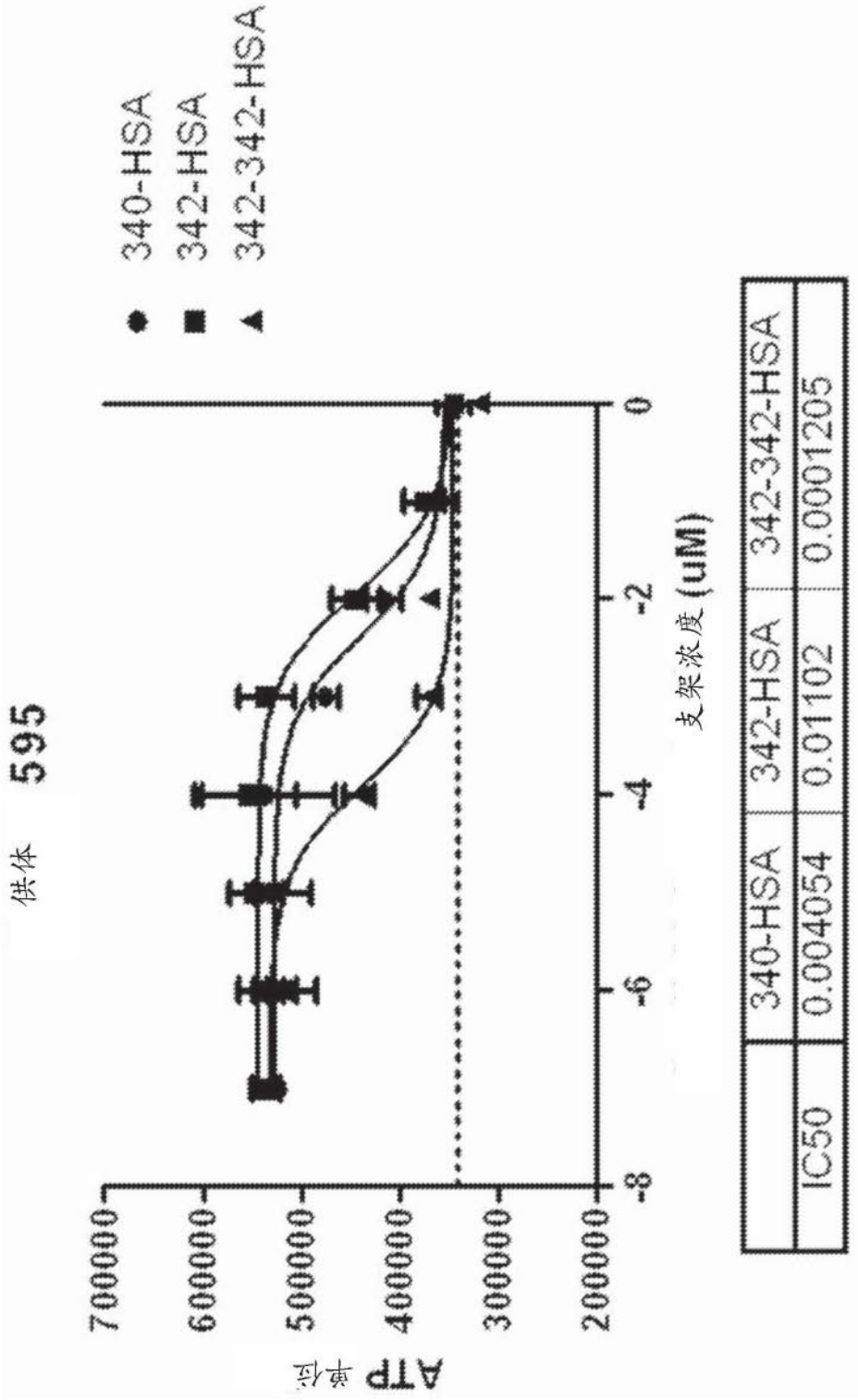


图15

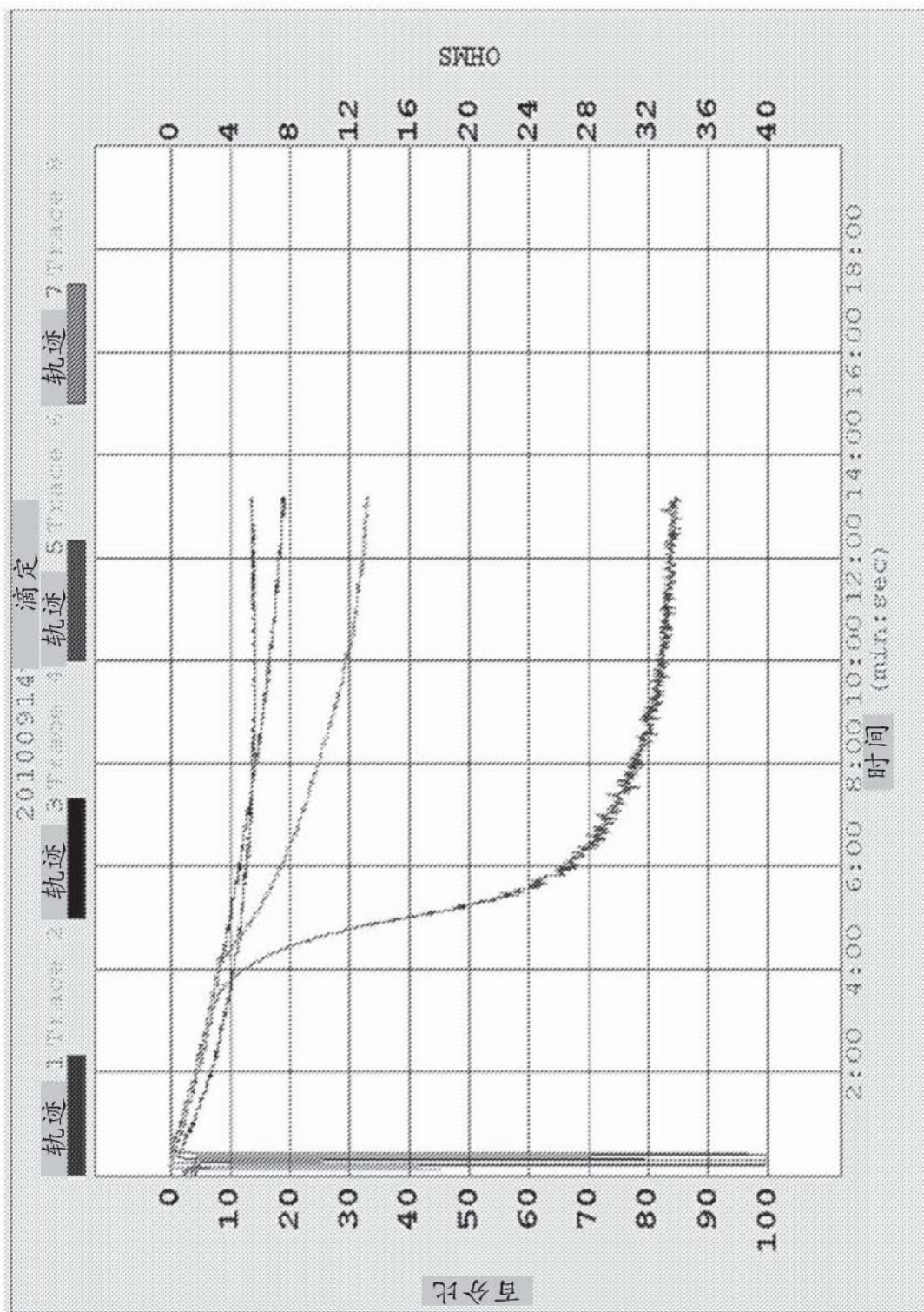


图16A

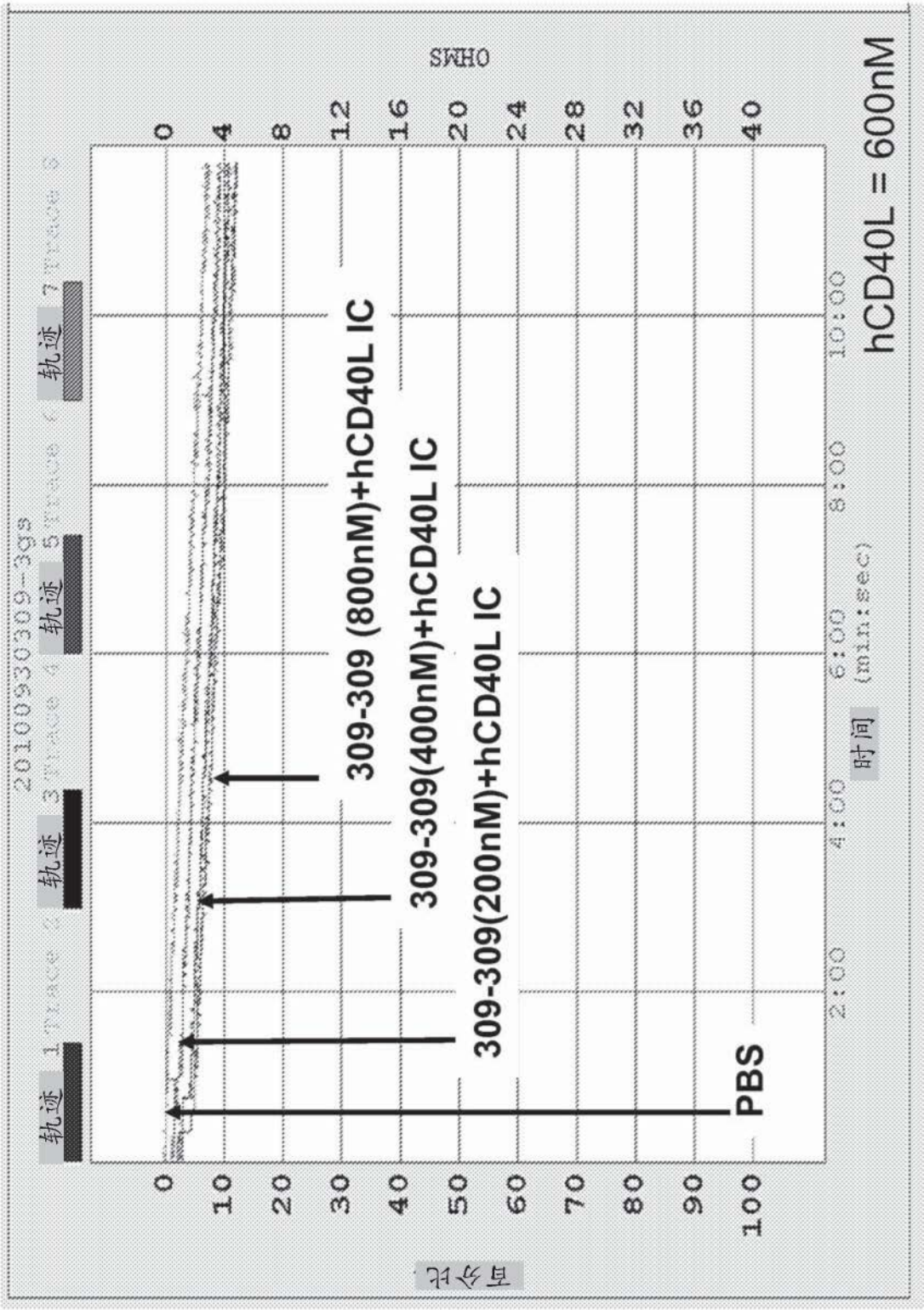


图16B

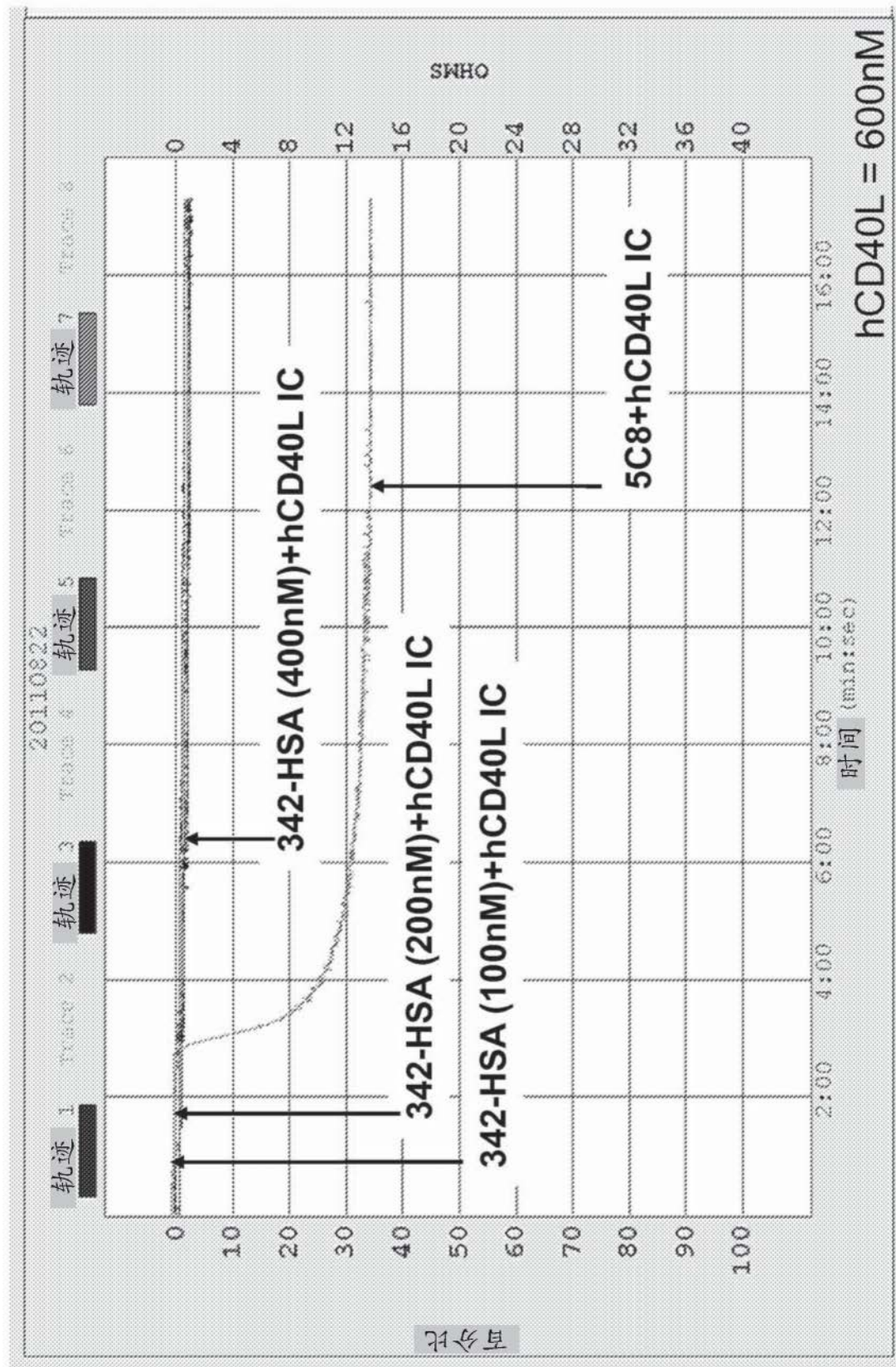


图16C

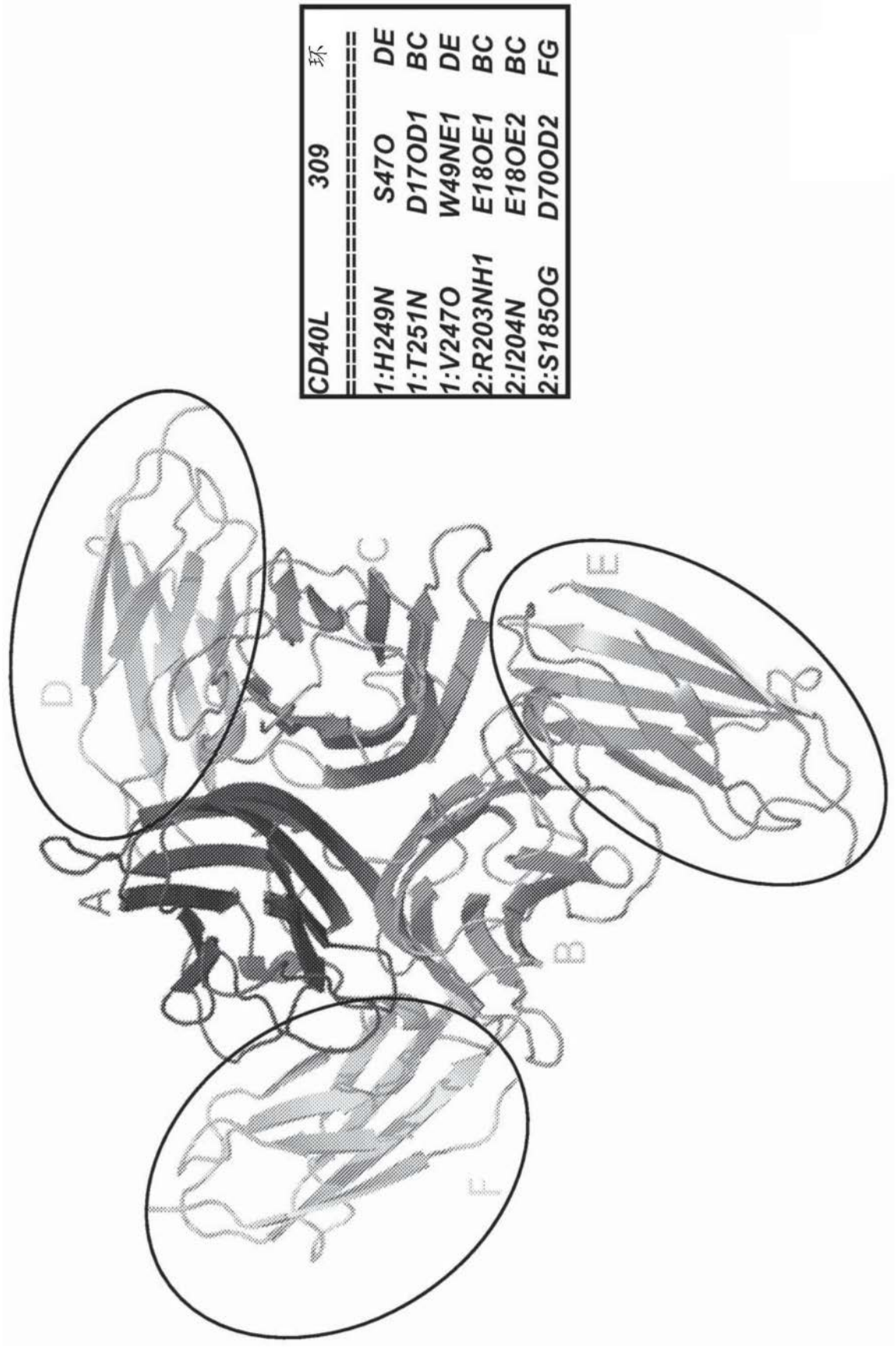


图17A

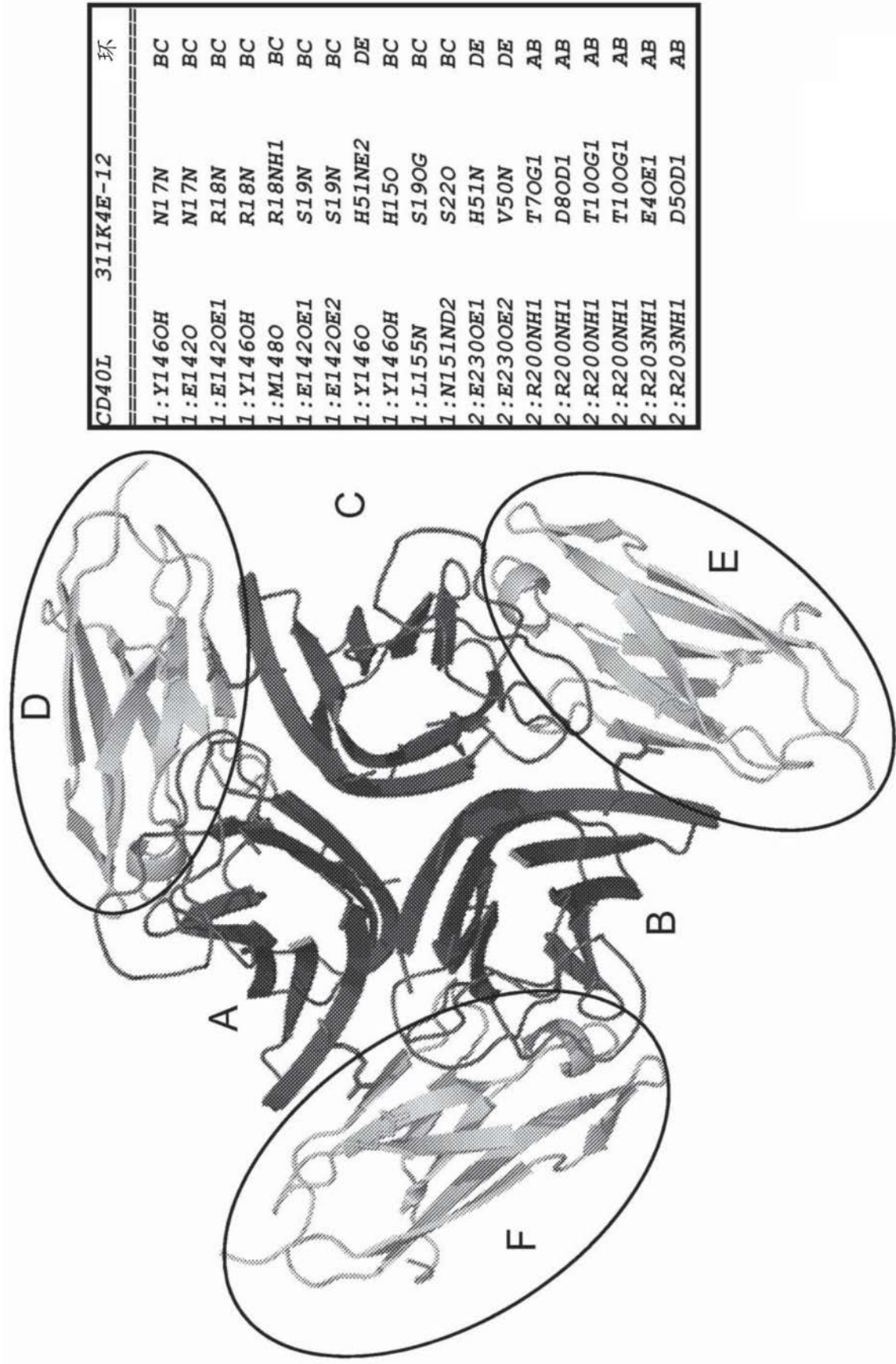


图17B

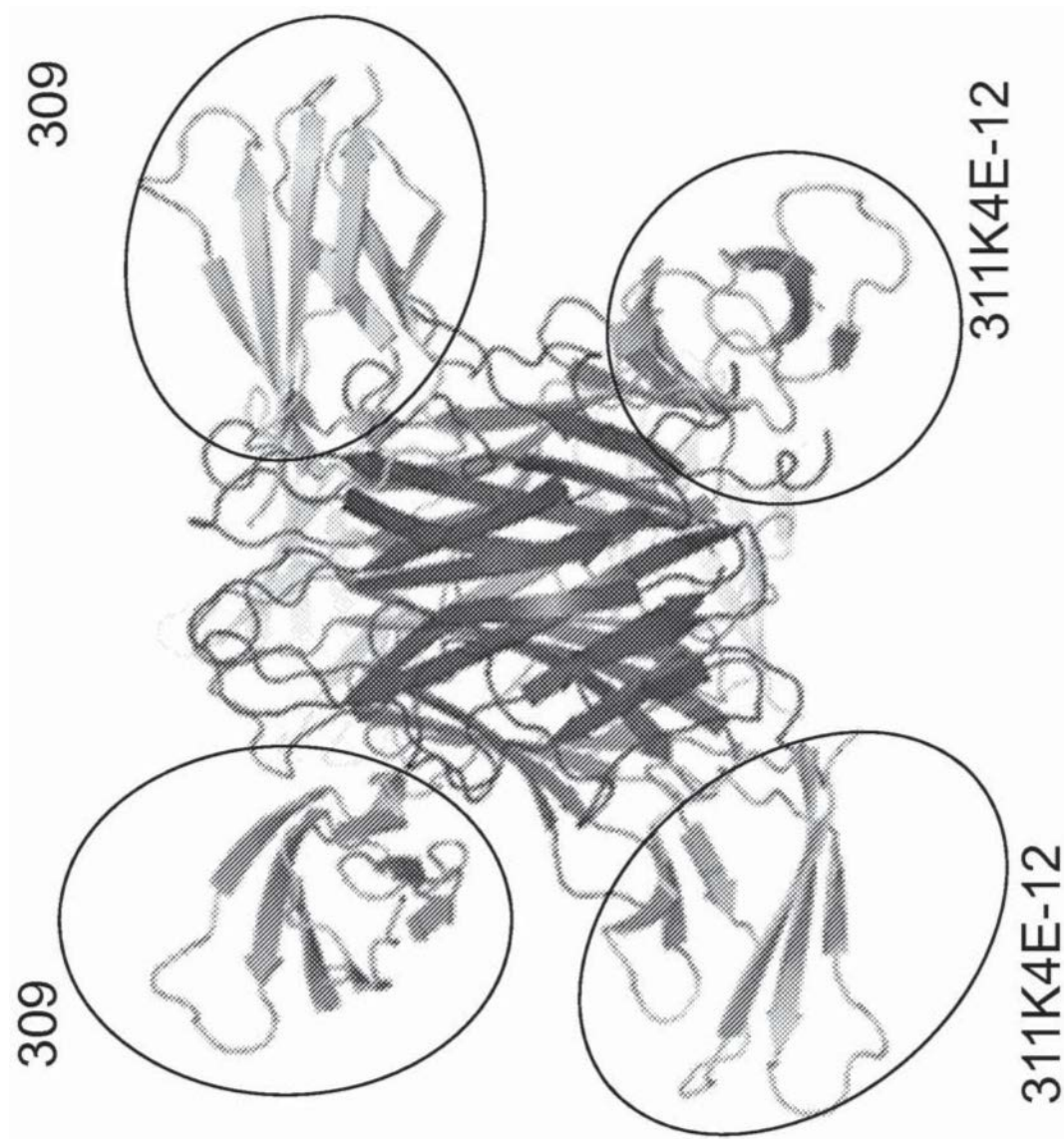


图17C

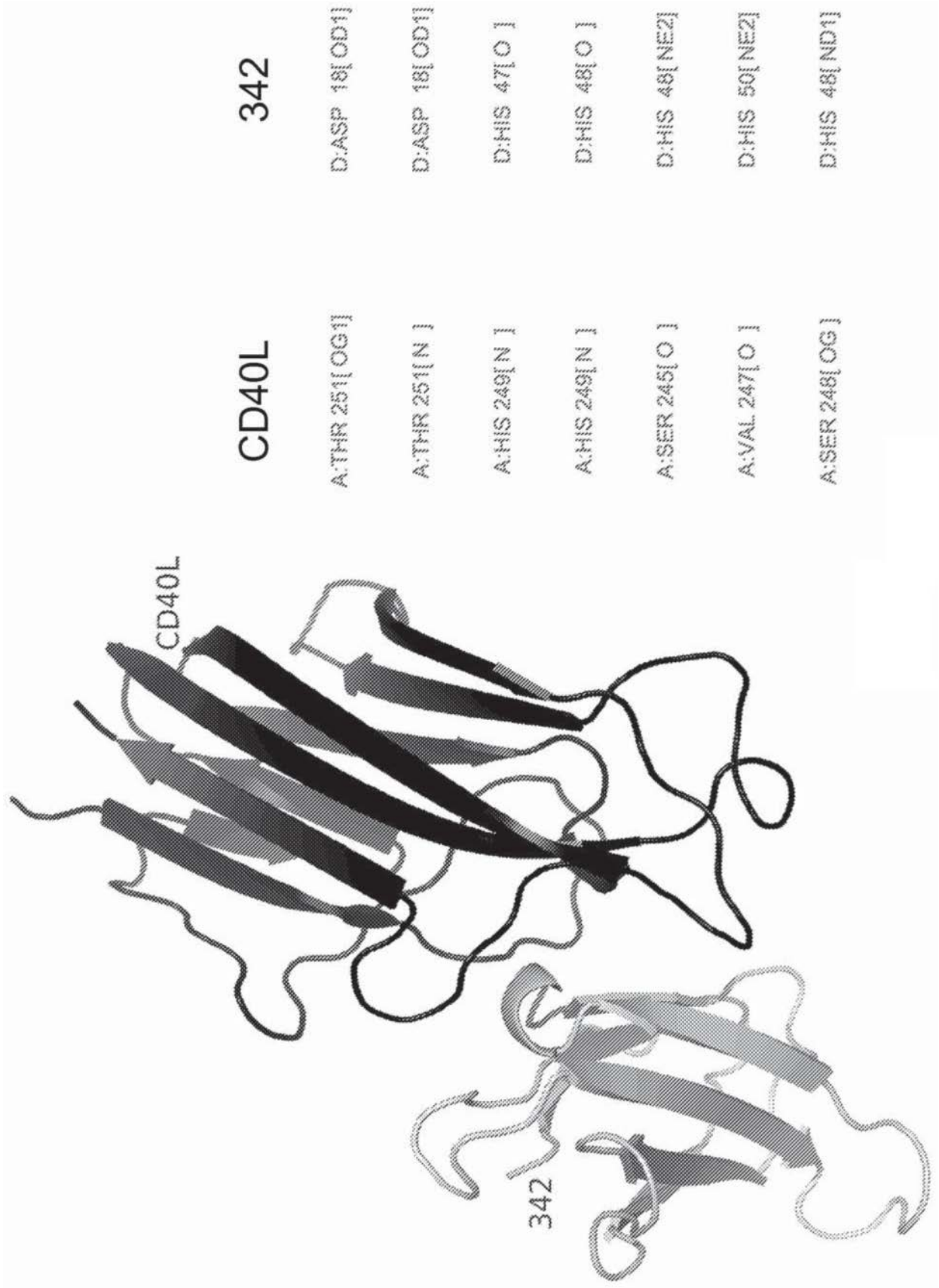


图17D

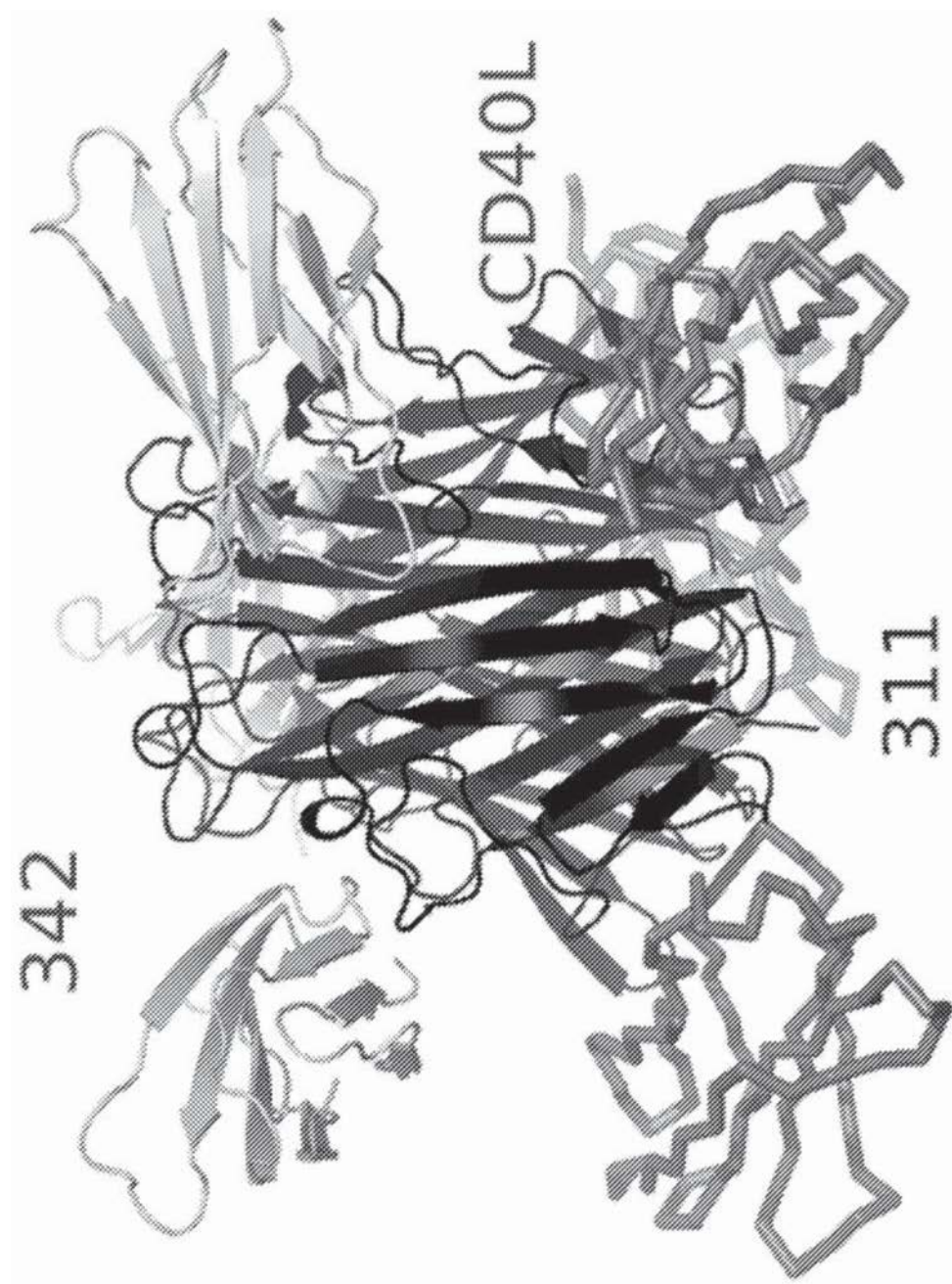


图17E

MIETYNQTSR SAATGLPIS MNIEMYLTV FLITQMIGSA LFAVYLHRRL DNIEDERNLH 60
 EDEFVFNKTIQ RCNTGERSLS LINCETIKSQ FEGFVKDIML NKEETKENS FEMQKGDQNP 120
 QIAAHVISEA SSKTTSVLQW A EKGY T TSN LVTIENGKQ LTVKRQGLYY IYAQVTFCSN 180
 REASSQAFPI ASLCLKSPGR FERILLRAAN THSSAKPCGQ QSIHLGVFE LQPGASVFVN 240
 VTDPQVSHG TGFTSEGLLK L 261

图18A

```

MIETYNQTSR SAATGLPIS MKIFMYLLTV FLITQMIGSA LEAVYLHPRL DKIEDERNLH 60
.....
EDFVFMKTIQ RCNTGERSLS LLNCEEIKSQ FEGFVKDIML NKEETKKENS FEMQKGDQNP 120
QIAAHVISEA SSKTTSVLQW AEKGYYTMSN NLVTLENGKQ LTVKROGLYY IYAQVTECSN 180
REASQAPFI ASLCLKSPGR FERILLRAAN THSSAKPCGQ QSIHLGGVFE LQPGASVFN 240
VTDPSSQSHG TGFTSFGLLK L 261

```

图18B

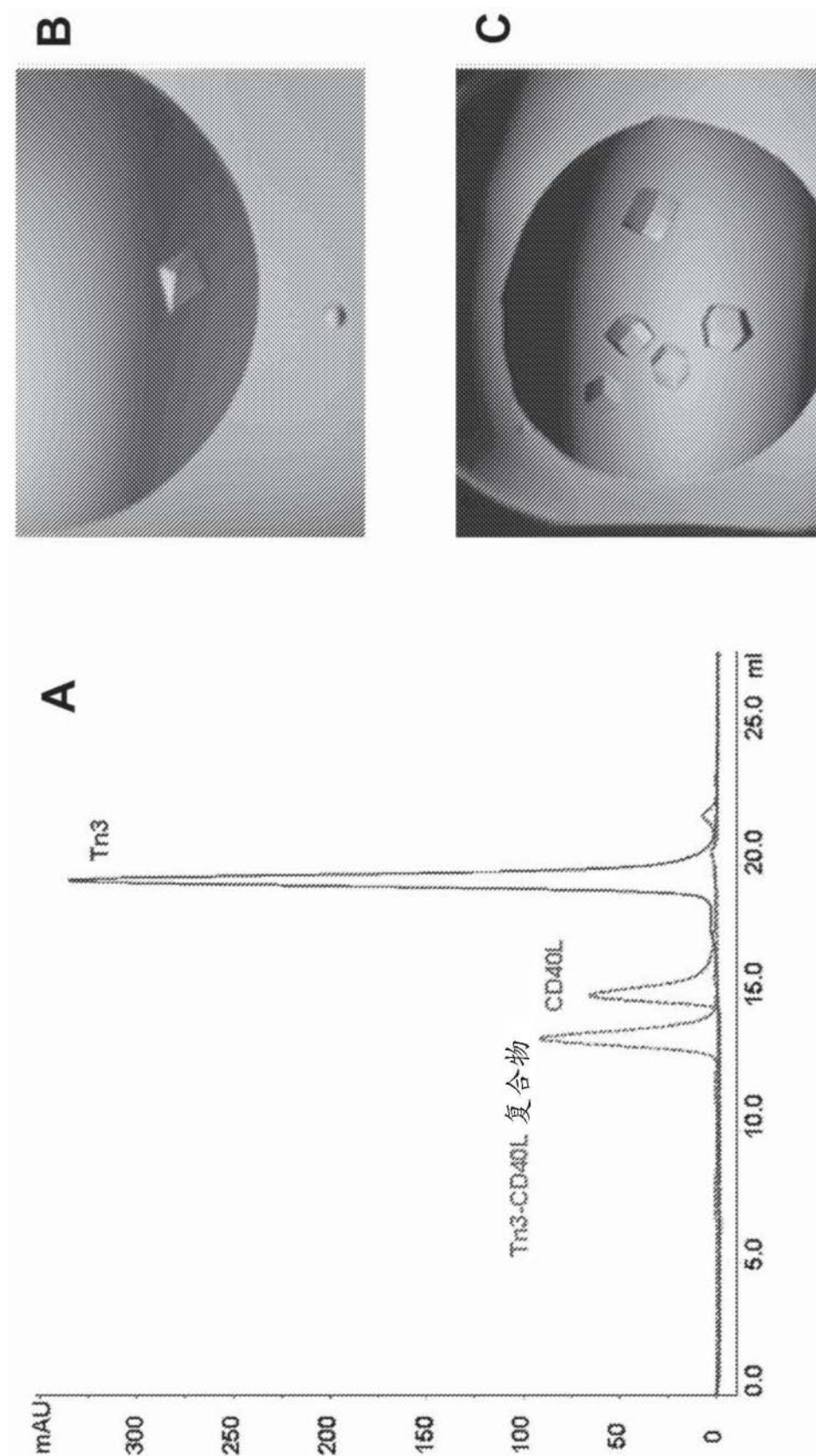


图19