



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110938136 B

(45) 授权公告日 2022.09.09

(21) 申请号 201910888722.8

(22) 申请日 2019.09.19

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110938136 A

(43) 申请公布日 2020.03.31

(66) 本国优先权数据  
201811109677.3 2018.09.21 CN

(73) 专利权人 香雪生命科学技术(广东)有限公司

地址 519031 广东省珠海市横琴新区环岛  
东路3000号2715办公

(72) 发明人 李懿 李小林 陈少沛

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266

专利代理师 崔佳佳 马莉华

(51) Int.Cl.

*C07K 14/725* (2006.01)

*G12N 15/12* (2006.01)

*A61K 38/17* (2006.01)

*A61P 35/00* (2006.01)

(56) 对比文件

CN 106459178 A, 2017.02.22

CN 107106671 A, 2017.08.29

CN 105408353 A, 2016.03.16

WO 2015011450 A1, 2015.01.29

审查员 徐乐

权利要求书3页 说明书38页  
序列表54页 附图19页

(54) 发明名称

一种识别AFP抗原的高亲和力T细胞受体

(57) 摘要

本发明提供了一种T细胞受体(TCR),其具有结合FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的特性;并且所述TCR对所述FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的结合亲和力是野生型TCR对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的结合亲和力的至少2倍。本发明还提供了此类TCR与治疗剂的融合分子。此类TCR可以单独使用,也可与治疗剂联用,以靶向呈递FMNKFIYEI-HLA A0201复合物肿瘤细胞。

1. 一种T细胞受体 (TCR), 其特征在于, 其具有结合FMNKFIYEI -HLA A0201复合物的活性, 并且所述T细胞受体包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域, 所述TCR $\alpha$ 链可变域包含3个CDR区, 所述TCR $\beta$ 链可变域包含3个CDR区,

所述TCR具有选自下组的CDR:

CDR 编号	CDR1 $\alpha$	CDR2 $\alpha$	CDR3 $\alpha$	CDR1 $\beta$	CDR2 $\beta$	CDR3 $\beta$
1	TSINN	IRSNERE	ATDPSRQSNKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
2	TSINN	IRSNERE	ATDPRTGSSNKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
3	TSINN	IRSNERE	ATDPRTASSAKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
4	TSINN	IRSNERE	ATDPAMQANSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
5	TSINN	IRSNERE	ATDPVLSANSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
6	TSINN	IRSNERE	ATDPRTSGSTKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY。
7	TSINN	IRSNERE	ATDPDRSPNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
8	TSINN	IRSNERE	ATDPRTASTPKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
9	TSINN	IRSNERE	ATDPEAQWNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
10	TSINN	IRSNERE	ATDPRTSTTKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
11	TSINN	IRSNERE	ATDPSLQSNKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
12	TSINN	IRSNERE	ATDPQNSWNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
13	TSINN	IRSNERE	ATDPASNWNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY

2. 如权利要求1所述的TCR, 其特征在于, 所述TCR是可溶的。

3. 如权利要求1所述的TCR, 其特征在于, 所述TCR为 $\alpha\beta$ 异质二聚TCR。

4. 如权利要求3所述的TCR, 其特征在于, 所述TCR具有 $\alpha$ 链恒定区序列TRAC\*01和 $\beta$ 链恒定区序列TRBC1\*01或TRBC2\*01。

5. 如权利要求3或4所述的TCR, 其特征在于, 所述TCR包含 (i) 除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\alpha$ 链, 和 (ii) 除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\beta$ 链, 其中 (i) 和 (ii) 均包含TCR链的可变域和至少一部分恒定域。

6. 如权利要求5所述的TCR, 其特征在于, 所述TCR的 $\alpha$ 链恒定区与 $\beta$ 链恒定区之间含有人工链间二硫键。

7. 如权利要求6所述的TCR, 其特征在于, 在所述TCR $\alpha$ 与 $\beta$ 链的恒定区之间形成人工链间二硫键的半胱氨酸残基取代了选自下列的一组或多组位点:

TRAC\*01外显子1的Thr48和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser57;

TRAC\*01外显子1的Thr45和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser77;

TRAC\*01外显子1的Tyr10和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser17;

TRAC\*01外显子1的Thr45和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Asp59;

TRAC\*01外显子1的Ser15和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Glu15;

TRAC\*01外显子1的Arg53和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser54;

TRAC\*01外显子1的 Pro89和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ala19;

和TRAC\*01外显子1的Tyr10和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Glu20。

8. 如权利要求1所述的TCR, 其特征在于, 所述TCR选自下组:

TCR 编号	$\alpha$ 链可变域序列 SEQ ID NO:	$\beta$ 链可变域序列 SEQ ID NO:
1	54	2
2	52	2
3	51	2
4	53	2
5	55	2
6	56	2
7	57	2
8	58	2
9	59	2
10	60	2
11	61	2
12	62	2
13	63	2

9. 如权利要求1所述的TCR,其特征在于,所述TCR为单链TCR。

10. 如权利要求1所述的TCR,其特征在于,所述TCR是由 $\alpha$ 链可变域和 $\beta$ 链可变域组成的单链TCR,所述 $\alpha$ 链可变域和 $\beta$ 链可变域由一柔性短肽序列连接。

11. 如权利要求1所述的TCR,其特征在于,所述TCR选自下组:

TCR 编号	$\alpha$ 链可变域序列 SEQ ID NO:	$\beta$ 链可变域序列 SEQ ID NO:
s-1	12	4
s-2	10	4
s-3	9	4
s-4	11	4
s-5	13	4
s-6	14	4
s-7	15	4
s-8	16	4
s-9	17	4
s-10	18	4
s-11	19	4
s-12	20	4
s-13	21	4

12. 如以上任一权利要求所述的TCR,其特征在于,所述TCR的 $\alpha$ 链和/或 $\beta$ 链的C-或N-末端结合有偶联物。

13. 如权利要求12所述的TCR,其特征在于,与所述TCR结合的偶联物为可检测标记物、治疗剂、PK修饰部分或任何这些物质的组合。

14. 如权利要求13所述的TCR,其特征在于,与所述TCR结合的治疗剂为连接于所述TCR的 $\alpha$ 或 $\beta$ 链的C-或N-末端的抗-CD3抗体。

15. 一种多价TCR复合物,其特征在于,包含至少两个TCR分子,并且其中的至少一个TCR分子为以上权利要求中任一项所述的TCR。

16. 一种核酸分子,其特征在於,所述核酸分子编码权利要求1-14中任一项所述的TCR。

17. 一种载体,其特征在於,所述的载体含有权利要求16中所述的核酸分子。

18. 一种宿主细胞,其特征在於,所述的宿主细胞中含有权利要求17中所述的载体或染色体中整合有外源的权利要求16中所述的核酸分子。

19. 一种分离的细胞,其特征在於,所述细胞表达权利要求1-14中任一项所述的TCR。

20. 一种药物组合物,其特征在於,所述组合物含有药学上可接受的载体以及权利要求1-14中任一项所述的TCR、或权利要求15中所述的TCR复合物、或权利要求19中所述的细胞。

21. 权利要求1-14中任一项所述的T细胞受体、权利要求15中所述的TCR复合物或权利要求19中所述细胞的用途,其特征在於,用于制备治疗肿瘤的药物,所述肿瘤为肝癌。

22. 一种制备权利要求1-14中任一项所述的T细胞受体的方法,其特征在於,包括步骤:

(i) 培养权利要求18中所述的宿主细胞,从而表达权利要求1-14中任一项所述的T细胞受体;

(ii) 分离或纯化出所述的T细胞受体。

## 一种识别AFP抗原的高亲和力T细胞受体

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,更具体地涉及能够识别衍生自AFP蛋白多肽的T细胞受体(T cell receptor,TCR)。本发明还涉及所述受体的制备和用途。

### 背景技术

[0002] 仅仅有两种类型的分子能够以特异性的方式识别抗原。其中一种是免疫球蛋白或抗体;另一种是T细胞受体(TCR),它是由 $\alpha$ 链/ $\beta$ 链或者 $\gamma$ 链/ $\delta$ 链以异二聚体形式存在的细胞膜表面的糖蛋白。免疫系统的TCR总谱的组成是在胸腺中通过V(D)J重组,然后进行阳性和阴性选择而产生的。在外周环境中,TCR介导了T细胞对主组织相容性复合体-肽复合物(pMHC)的特异性识别,因此其对免疫系统的细胞免疫功能是至关重要的。

[0003] TCR是呈递在主组织相容性复合体(MHC)上的特异性抗原肽的唯一受体,这种外源肽或内源肽可能会是细胞出现异常的唯一迹象。在免疫系统中,通过抗原特异性的TCR与pMHC复合物的结合引发T细胞与抗原呈递细胞(APC)直接的物理接触,然后T细胞及APC两者的其他细胞膜表面分子就发生相互作用,这就引起了一系列后续的细胞信号传递和其他生理反应,从而使得不同抗原特异性的T细胞对其靶细胞发挥免疫效应。

[0004] 与TCR相对应的MHC I类和II类分子配体也是免疫球蛋白超家族的蛋白质但对于抗原的呈递具有特异性,不同的个体有不同的MHC,从而能呈递一种蛋白抗原中不同的短肽到各自的APC细胞表面。人类的MHC通常称为HLA基因或HLA复合体。

[0005] AFP( $\alpha$ Fetoprotein)也称 $\alpha$ 胎蛋白,是胚胎发育过程中表达的一种蛋白,是胚胎血清的主要成分。在发育过程中,AFP在卵黄囊及肝脏中有比较高的表达水平,随后被抑制。在肝细胞癌中,AFP的表达被激活(Butterfield et al.J Immunol.,2001,Apr 15;166(8):5300-8)。AFP在细胞内生成后被降解成小分子多肽,并与MHC(主组织相容性复合体)分子结合形成复合物,被呈递到细胞表面。FMNKFIYEI是衍生自AFP抗原的短肽,是AFP相关疾病治疗的一种靶标。

[0006] 因此,FMNKFIYEI-HLA A0201复合物提供了一种TCR可靶向肿瘤细胞的标记。能够结合FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的TCR对肿瘤的治疗具有很高的应用价值。例如,能够靶向该肿瘤细胞标记的TCR可用于将细胞毒性剂或免疫刺激剂递送到靶细胞,或被转化入T细胞,使表达该TCR的T细胞能够破坏肿瘤细胞,以便在被称为过继免疫治疗的治疗过程中给予患者。对于前一目的,理想的TCR是具有较高的亲和力的,从而使该TCR能够长期驻留在所靶向的细胞上面。对于后一目的,则优选使用中等亲和力的TCR。因此,本领域技术人员致力于开发可用于满足不同目的的靶向肿瘤细胞标记的TCR。

### 发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物具有较高亲和力的TCR。

[0008] 本发明的再一目的是提供一种上述类型TCR的制备方法及上述类型TCR的用途。

[0009] 本发明的第一方面,提供了一种T细胞受体(TCR),其具有结合FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的活性。

[0010] 在另一优选例中,所述T细胞受体(TCR)具有结合FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的活性,并且所述T细胞受体包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包含3个CDR区,所述TCR $\alpha$ 链可变域的3个CDR区的基准序列如下,

[0011] CDR1 $\alpha$ :TSINN

[0012] CDR2 $\alpha$ :IRSNERE

[0013] CDR3 $\alpha$ :ATDPRTGANSKLT,并且含有至少一个下列突变:

突变前的残基	突变后的残基
CDR1 $\alpha$ 的第2位S	D或P或A或E
CDR1 $\alpha$ 的第3位I	V
CDR1 $\alpha$ 的第4位N	S或Y或D
CDR1 $\alpha$ 的第5位N	S或K
CDR3 $\alpha$ 的第5位R	A或S或V或D或E或Q或T
CDR3 $\alpha$ 的第6位T	M或R或L或A或N或S
CDR3 $\alpha$ 的第7位G	A或Q或S或E或N
CDR3 $\alpha$ 的第8位A	S或G或P或W
CDR3 $\alpha$ 的第9位N	S或T
CDR3 $\alpha$ 的第10位S	A或N或T或P

[0015] 和/或,所述TCR $\beta$ 链可变域包含3个CDR区,所述TCR $\beta$ 链可变域的3个CDR区的基准序列如下,

[0016] CDR1 $\beta$ :SEHNR

[0017] CDR2 $\beta$ :FQNEAQ

[0018] CDR3 $\beta$ :ASEGLAYEQY,并且含有至少一个下列突变:

突变前的残基	突变后的残基
CDR1 $\beta$ 的第1位S	A或Q或G
CDR1 $\beta$ 的第2位E	G或T或R或L
CDR1 $\beta$ 的第3位H	W或R
CDR1 $\beta$ 的第4位N	A或P
CDR2 $\beta$ 的第2位Q	H
CDR2 $\beta$ 的第3位N	G
CDR2 $\beta$ 的第4位E	D
CDR2 $\beta$ 的第5位A	M或L
CDR2 $\beta$ 的第6位Q	E

[0020] 在另一优选例中,所述TCR $\alpha$ 链可变域的3个CDR区中的突变个数为1至8个,和/或所述TCR $\beta$ 链可变域的3个CDR区中的突变个数为1至8个。

[0021] 在另一优选例中,所述TCR $\alpha$ 链CDR区的突变个数可以为3个、4个、5个、6个、7个或8个。

[0022] 在另一优选例中,所述TCR $\beta$ 链CDR区的突变个数可以为4个、5个、6个、7个或8个。

[0023] 在另一优选例中,所述TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲和力是野生型TCR的至少2倍。

[0024] 在另一优选例中,所述TCR还可与FMNKFIYEI-HLA A0207复合物结合。

[0025] 在另一优选例中,所述TCR的 $\alpha$ 链可变域包含与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列有至少90%的序列同源性的氨基酸序列;和/或所述TCR的 $\beta$ 链可变域包含与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列有至少90%的序列同源性的氨基酸序列。

[0026] 在另一优选例中,所述TCR $\alpha$ 链可变域的突变位点包含CDR3 $\alpha$ 的第7位和/或第8位。

[0027] 在另一优选例中,所述TCR $\alpha$ 链可变域的3个CDR的突变包含下组:

突变前的残基	突变后的残基
CDR3 $\alpha$ 的第7位G	S
CDR3 $\alpha$ 的第8位A	P

[0029] 和/或所述TCR $\beta$ 链可变域的3个CDR的突变包含下组:

突变前的残基	突变后的残基
CDR2 $\beta$ 的第3位N	G
CDR2 $\beta$ 的第4位E	D
CDR2 $\beta$ 的第6位Q	E

[0031] 在另一优选例中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包括CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 、和CDR3 $\alpha$ 。

[0032] 在另一优选例中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包含CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 和CDR3 $\alpha$ ,其中CDR1 $\alpha$ 的氨基酸序列选自下组:TSINN、TPISS、TDIYK、TAVDS、TEISS和TDVSS。

[0033] 在另一优选例中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包含CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 和CDR3 $\alpha$ ,其中CDR2 $\alpha$ 的氨基酸序列为IRSNERE。

[0034] 在另一优选例中,所述CDR1 $\alpha$ 包含序列:

[0035] T[1 $\alpha$ X1][1 $\alpha$ X2][1 $\alpha$ X3][1 $\alpha$ X4],其中,[1 $\alpha$ X1]、[1 $\alpha$ X2]、[1 $\alpha$ X3]、[1 $\alpha$ X4]各自独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0036] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X1]为S或D或P或A或E。

[0037] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X2]为I或V。

[0038] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X3]为N或S或Y或D。

[0039] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X4]为N或S或K。

[0040] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X1]为S或D或P或A或E,[1 $\alpha$ X2]为I或V,[1 $\alpha$ X3]为N或S或Y或D,并且[1 $\alpha$ X4]为N或S或K。

[0041] 在另一优选例中,所述CDR1 $\alpha$ 包含选自下组的序列:TSINN、TPISS、TDIYK、TAVDS、TEISS和TDVSS。

[0042] 在另一优选例中,所述CDR3 $\alpha$ 包含序列:ATDP[3 $\alpha$ X1][3 $\alpha$ X2][3 $\alpha$ X3][3 $\alpha$ X4][3 $\alpha$ X5][3 $\alpha$ X6]KLT,其中,[3 $\alpha$ X1]、[3 $\alpha$ X2]、[3 $\alpha$ X3]、[3 $\alpha$ X4]、[3 $\alpha$ X5]、[3 $\alpha$ X6]各自独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0043] 在另一优选例中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包含CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 和CDR3 $\alpha$ ,并且CDR3 $\alpha$ 包含序列:ATDP[3 $\alpha$ X1][3 $\alpha$ X2][3 $\alpha$ X3][3 $\alpha$ X4][3 $\alpha$ X5][3

$\alpha$ X6]KLT,其中,[3 $\alpha$ X1]、[3 $\alpha$ X2]、[3 $\alpha$ X3]、[3 $\alpha$ X4]、[3 $\alpha$ X5]和[3 $\alpha$ X6]各独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0044] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X1]为R或A或S或D或E或Q或V或T。

[0045] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X2]为T或M或R或L或A或N或S。

[0046] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X3]为G或A或Q或S或E或N。

[0047] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X4]为A或S或G或P或W。

[0048] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X5]为N或S或T。

[0049] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X6]为S或A或N或T或P。

[0050] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X1]为R或A或S或D或E或Q或V或T,[3 $\alpha$ X2]为T或M或R或L或A或N或S,[3 $\alpha$ X3]为G或A或Q或S或E或N,[3 $\alpha$ X4]为A或S或G或P或W,[3 $\alpha$ X5]为N或S或T,并且[3 $\alpha$ X6]为S或A或N或T或P。

[0051] 在另一优选例中,所述CDR3 $\alpha$ 包含选自下组的序列:ATDPSMSPNSKLT、ATDPSLSPNSKLT和ATDPSLQSNKLT。

[0052] 在另一优选例中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\beta$ 链可变域包含CDR1 $\beta$ 、CDR2 $\beta$ 和CDR3 $\beta$ ,其中所述CDR3 $\beta$ 包含序列:ASEGLAYEQY。

[0053] 在另一优选例中,所述CDR1 $\beta$ 包含序列:[1 $\beta$ X1][1 $\beta$ X2][1 $\beta$ X3][1 $\beta$ X4]R,

[0054] 其中,[1 $\beta$ X1]、[1 $\beta$ X2]、[1 $\beta$ X3]、[1 $\beta$ X4]各自独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0055] 在另一优选例中,所述[1 $\beta$ X1]为S或A或Q或G。

[0056] 在另一优选例中,所述[1 $\beta$ X2]为E或G或T或R或L。

[0057] 在另一优选例中,所述[1 $\beta$ X3]为H或W或R。

[0058] 在另一优选例中,所述[1 $\beta$ X4]为N或A或P。

[0059] 在另一优选例中,所述CDR2 $\beta$ 包含序列:

[0060] F[2 $\beta$ X1][2 $\beta$ X2][2 $\beta$ X3][2 $\beta$ X4][2 $\beta$ X5],其中,[2 $\beta$ X1]、[2 $\beta$ X2]、[2 $\beta$ X3]、[2 $\beta$ X4]、[2 $\beta$ X5]各自独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0061] 在另一优选例中,所述[2 $\beta$ X1]为Q或H。

[0062] 在另一优选例中,所述[2 $\beta$ X2]为N或G。

[0063] 在另一优选例中,所述[2 $\beta$ X3]为E或D。

[0064] 在另一优选例中,所述[2 $\beta$ X4]为A或M或L。

[0065] 在另一优选例中,所述[2 $\beta$ X5]为Q或E。

[0066] 在另一优选例中,所述CDR2 $\beta$ 包含选自下组的序列:FQGDME、FQGDLE和FHGDLE。

[0067] 在另一优选例中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\beta$ 链可变域包含CDR1 $\beta$ 、CDR2 $\beta$ 和CDR3 $\beta$ ,其中所述CDR2 $\beta$ 的氨基酸序列选自下组:FQGDME、FQGDLE和FHGDLE。

[0068] 在另一优选例中,所述TCR的TCR $\alpha$ 链可变域不同时包含如下CDR:

[0069] CDR1 $\alpha$ :TSINN;CDR2 $\alpha$ :IRSNERE;和CDR3 $\alpha$ :ATDPRTGANSKLT。

[0070] 在另一优选例中,所述TCR的TCR $\beta$ 链可变域不同时包含如下CDR:

[0071] CDR1 $\beta$ :SEHNR;CDR2 $\beta$ :FQNEAQ;和CDR3 $\beta$ :ASEGLAYEQY。

[0072] 在另一优选例中,所述突变发生在 $\alpha$ 链和/或 $\beta$ 链可变域的一个或多个CDR区中。

[0073] 在另一优选例中,所述突变发生在 $\alpha$ 链的CDR1和/或CDR3中,和/或所述突变发生在

$\beta$ 链的CDR1和/或CDR2中。

[0074] 在本发明的一个优选例中,所述TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲和力是野生型TCR的至少2倍;优选地,至少5倍;更优选地,至少10倍。

[0075] 在另一优选例中,所述TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲和力是野生型TCR的至少50倍;优选地,至少100倍;更优选地,至少500倍;最优选地,至少1000倍。

[0076] 在另一优选例中,所述TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲和力是野生型TCR的至少 $10^4$ 倍;优选地,至少 $10^5$ 倍;更优选地,至少 $10^6$ 倍;

[0077] 具体地,所述TCR对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的解离平衡常数 $K_D \leq 20 \mu\text{M}$ ;

[0078] 在另一优选例中,所述TCR对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的解离平衡常数 $5 \mu\text{M} \leq K_D \leq 10 \mu\text{M}$ ;优选地, $0.1 \mu\text{M} \leq K_D \leq 1 \mu\text{M}$ ;更优选地, $1 \text{nM} \leq K_D \leq 100 \text{nM}$ ;

[0079] 在另一优选例中,所述TCR对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的解离平衡常数 $100 \text{pM} \leq K_D \leq 1000 \text{pM}$ ;优选地, $10 \text{pM} \leq K_D \leq 100 \text{pM}$ 。

[0080] 在另一优选例中,所述TCR具有选自下组的CDR:

[0081]

CDR编号	CDR1 $\alpha$	CDR2 $\alpha$	CDR3 $\alpha$	CDR1 $\beta$	CDR2 $\beta$	CDR3 $\beta$
1	TSINN	IRSNERE	ATDPSRQSNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
2	TSINN	IRSNERE	ATDPRTGSSNKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
3	TSINN	IRSNERE	ATDPRTASSAKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
4	TSINN	IRSNERE	ATDPAMQANSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
5	TSINN	IRSNERE	ATDPVLSANSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
6	TSINN	IRSNERE	ATDPRTSGSTKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
7	TSINN	IRSNERE	ATDPDRSPNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
8	TSINN	IRSNERE	ATDPRTASTPKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
9	TSINN	IRSNERE	ATDPEAQWNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
10	TSINN	IRSNERE	ATDPRESTTKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
11	TSINN	IRSNERE	ATDPSLQSNKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
12	TSINN	IRSNERE	ATDPQNSWNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
13	TSINN	IRSNERE	ATDPASNWNSKLT	SEHNR	FQNEAQ	ASEGLAYEQY
14	TSINN	IRSNERE	ATDPRTGANSKLT	SEHNR	FQGDME	ASEGLAYEQY
15	TDVSS	IRSNERE	ATDPAAQWNSKLT	AGHAR	FQGDME	ASEGLAYEQY
16	TPISS	IRSNERE	ATDPAAQWNSKLT	QGHAR	FQGDME	ASEGLAYEQY
17	TPISS	IRSNERE	ATDPATSPNSKLT	GTWPR	FQGDME	ASEGLAYEQY
18	TDIYK	IRSNERE	ATDPRTASSPKLT	GTWPR	FQGDME	ASEGLAYEQY
19	TAVDS	IRSNERE	ATDPSLSPNSKLT	GTWPR	FQGDME	ASEGLAYEQY
20	TAVDS	IRSNERE	ATDPSLSPNSKLT	QGHAR	FQGDME	ASEGLAYEQY
21	TEISS	IRSNERE	ATDPSLSPNSKLT	AGHAR	FQGDME	ASEGLAYEQY
22	TAVDS	IRSNERE	ATDPSMSPNSKLT	AGHAR	FQGDLE	ASEGLAYEQY
23	TEISS	IRSNERE	ATDPSMSPNSKLT	AGHAR	FQGDME	ASEGLAYEQY
24	TEISS	IRSNERE	ATDPSMSPNSKLT	GTWPR	FQGDLE	ASEGLAYEQY
25	TDVSS	IRSNERE	ATDPSMSPNSKLT	GRWPR	FQGDLE	ASEGLAYEQY

26	TDVSS	IRSNERE	ATDPTMSPNSKLT	GTWPR	FQGDLE	ASEGLAYEQY
27	TAVDS	IRSNERE	ATDPTMSPNSKLT	QGHAR	FQGDLE	ASEGLAYEQY
28	TAVDS	IRSNERE	ATDPSLSPNSKLT	ARHAR	FQGDLE	ASEGLAYEQY
29	TEISS	IRSNERE	ATDPATSPNSKLT	AGHAR	FQGDLE	ASEGLAYEQY
30	TPISS	IRSNERE	ATDPATSPNSKLT	GRWPR	FQGDLE	ASEGLAYEQY
31	TAVDS	IRSNERE	ATDPSLSPNSKLT	AGHAR	FQGDME	ASEGLAYEQY
32	TDVSS	IRSNERE	ATDPSMSPNSKLT	GLWPR	FHGDLE	ASEGLAYEQY
33	TPISS	IRSNERE	ATDPSMSPNSKLT	AGHAR	FQGDME	ASEGLAYEQY
34	TDVSS	IRSNERE	ATDPSMSPNSKLT	GTWPR	FQGDME	ASEGLAYEQY
35	TAVDS	IRSNERE	ATDPTMSPNSKLT	QGRAR	FQGDME	ASEGLAYEQY
36	TAVDS	IRSNERE	ATDPTSSWNSKLT	GRWPR	FQGDLE	ASEGLAYEQY

[0082] 在另一优选例中,所述TCR是可溶的。

[0083] 在另一优选例中,所述TCR为 $\alpha\beta$ 异质二聚TCR或单链TCR。

[0084] 在另一优选例中,本发明所述TCR是 $\alpha\beta$ 异质二聚TCR,优选地,所述TCR具有 $\alpha$ 链恒定区序列TRAC\*01和 $\beta$ 链恒定区序列TRBC1\*01或TRBC2\*01。所述TCR的 $\alpha$ 链可变域包含与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列有至少90%;优选地,至少92%;更优选地,至少94%(如,可以是至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同源性)的序列同源性的氨基酸序列;和/或所述TCR的 $\beta$ 链可变域包含与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列有至少90%,优选地,至少92%;更优选地,至少94%(如,可以是至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同源性)的序列同源性的氨基酸序列。

[0085] 在另一优选例中,所述TCR包含(i)除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\alpha$ 链,和(ii)除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\beta$ 链,其中(i)和(ii)均包含TCR链的可变域和至少一部分恒定域。

[0086] 在另一优选例中,所述TCR是 $\alpha\beta$ 异质二聚TCR,所述TCR的 $\alpha$ 链可变区与 $\beta$ 链恒定区之间含有人工链间二硫键。

[0087] 在另一优选例中,在所述TCR的 $\alpha$ 链可变区与 $\beta$ 链恒定区之间形成人工链间二硫键的半胱氨酸残基取代了选自下列的一组或多组位点:

[0088] TRAV的第46位氨基酸和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第60位氨基酸;

[0089] TRAV的第47位氨基酸和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的61位氨基酸;

[0090] TRAV的第46位氨基酸和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第61位氨基酸;或

[0091] TRAV的第47位氨基酸和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第60位氨基酸。

[0092] 在另一优选例中, $\alpha$ 链可变区与 $\beta$ 链恒定区之间含有人工链间二硫键的TCR包含 $\alpha$ 链可变域和 $\beta$ 链可变域以及除跨膜结构域以外的全部或部分 $\beta$ 链恒定域,但其不包含 $\alpha$ 链恒定域,所述TCR的 $\alpha$ 链可变域与 $\beta$ 链形成异质二聚体。

[0093] 在另一优选例中, $\alpha$ 链可变区与 $\beta$ 链恒定区之间含有人工链间二硫键的TCR包含(i)除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\alpha$ 链,和(ii)除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\beta$ 链,其中(i)和(ii)均包含TCR链的可变域和至少一部分恒定域。

[0094] 在另一优选例中,所述TCR为 $\alpha\beta$ 异质二聚TCR,其包含(i)除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\alpha$ 链,和(ii)除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\beta$ 链,其中(i)和(ii)均包含

TCR链的可变域和至少一部分恒定域,α链恒定区与β链恒定区之间含有人工链间二硫键。

[0095] 在另一优选例中,所述TCR的α链恒定区与β链恒定区之间含有人工链间二硫键。

[0096] 在另一优选例中,在所述TCRα与β链的恒定区之间形成人工链间二硫键的半胱氨酸残基取代了选自下列的一组或多组位点:

[0097] TRAC\*01外显子1的Thr48和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser57;

[0098] TRAC\*01外显子1的Thr45和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser77;

[0099] TRAC\*01外显子1的Tyr10和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser17;

[0100] TRAC\*01外显子1的Thr45和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Asp59;

[0101] TRAC\*01外显子1的Ser15和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Glu15;

[0102] TRAC\*01外显子1的Arg53和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser54;

[0103] TRAC\*01外显子1的Pro89和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ala19;和

[0104] TRAC\*01外显子1的Tyr10和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Glu20。

[0105] 在另一优选例中,所述TCR为单链TCR。

[0106] 在另一优选例中,所述TCR是由α链可变域和β链可变域组成的单链TCR,所述α链可变域和β链可变域由一柔性短肽序列(linker)连接。

[0107] 在另一优选例中,所述TCRα链可变域和/或β链可变域的疏水芯发生突变。

[0108] 在另一优选例中,所述疏水芯发生突变的TCR是由α可变域和β可变域组成的单链TCR,所述α可变域和β可变域由一柔性短肽序列(linker)连接。

[0109] 在另一优选例中,本发明所述TCR是单链TCR,所述TCR的α链可变域包含与SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列有至少85%,优选地,至少90%;更优选地,至少92%;最优选地,至少94%(如,可以是至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同源性的)的序列同源性的氨基酸序列;和/或所述TCR的β链可变域包含与SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列有至少85%,优选地,至少90%;更优选地,至少92%;最优选地,至少94%;(如,可以是至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同源性的)的序列同源性的氨基酸序列。

[0110] 在另一优选例中,所述TCR的α链可变域氨基酸序列选自:SEQ ID NO:9-35、51-77和91-92;和/或所述TCR的β链可变域氨基酸序列选自:SEQ ID NO:36-46、78-88和93-101。

[0111] 在另一优选例中,所述TCR选自下组:

TCR 编号	$\alpha$ 链可变域序列 SEQ ID NO:	$\beta$ 链可变域序列 SEQ ID NO:
s-1	12	4
s-2	10	4
s-3	9	4
s-4	11	4
s-5	13	4
s-6	14	4
s-7	15	4
s-8	16	4
s-9	17	4
s-10	18	4
s-11	19	4
s-12	20	4
s-13	21	4
s-14	3	36
s-15	22	37
s-16	23	38
s-17	24	39
s-18	25	39
s-19	26	39
s-20	26	38
s-21	27	37
s-22	28	40
s-23	29	37
s-24	29	41
s-25	30	42
s-26	31	41
s-27	32	43
s-28	26	44
s-29	33	40
s-30	24	42
s-31	26	37
s-32	30	45
s-33	34	37
s-34	30	39
s-35	32	46
s-36	35	42

[0112]

[0113]

[0114] 在另一优选例中,所述TCR选自下组:

TCR 编号	$\alpha$ 链可变域序列 SEQ ID NO:	$\beta$ 链可变域序列 SEQ ID NO:
1	54	2
2	52	2
3	51	2
4	53	2
5	55	2
6	56	2
7	57	2
8	58	2
9	59	2
10	60	2
11	61	2
12	62	2
13	63	2
14	1	78
15	64	79
16	65	80
17	66	81
18	67	81
19	68	81
20	68	80
21	69	79
22	70	82
23	71	79
24	71	83
25	72	84
26	73	83
27	74	85
28	68	86
29	75	82
30	66	84
31	68	79
32	72	87
33	76	79
34	72	81
35	74	88
36	77	84
37	1	93
38	1	94
39	1	95
40	1	96
41	1	97
42	1	98
43	1	99
44	1	100
45	91	101
46	92	101

[0115]

[0116]

[0117] 在另一优选例中,所述TCR的 $\alpha$ 链和/或 $\beta$ 链的C-或N-末端结合有偶联物。

[0118] 在另一优选例中,与所述TCR结合的偶联物为可检测标记物、治疗剂、PK修饰部分或任何这些物质的组合。

[0119] 在另一优选例中,与所述TCR结合的治疗剂为连接于所述TCR的 $\alpha$ 或 $\beta$ 链的C-或N-末端的抗-CD3抗体。

[0120] 在本发明的一个优选的实施方式中,所述T细胞受体(TCR),其具有结合FMNKFIYEI-HLA A2复合物的活性,并包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR在SEQ ID NO:1所示的 $\alpha$ 链可变域中发生突变,所述突变的氨基酸残基位点包括28S、29I、30N、31N、94R、95T、96G、97A、98N和99S中的一个或多个,其中,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:1所示的编号;和/或所述TCR在SEQ ID NO:2所示的 $\beta$ 链可变域中发生突变,所述突变的氨基酸残基位点包括27S、28E、29H、30N、50Q、51N、52E、53A和54Q中的一个或多个,其中,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:2所示的编号;

[0121] 优选地,突变后的所述TCR $\alpha$ 链可变域包括选自下组的一个或多个氨基酸残基:28D或28P或28A或28E;29V;30S或30Y或30D;31S或31K;94A或94S或94V或94D或94E或94Q或94T;95M或95R或95L或95A或95N或95S;96A或96Q或96S或96E或96N;97S或97G或97P或97W;98S或98T;和99A或99N或99T或99P,其中,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:1所示的编号;和/或突变后的所述TCR $\beta$ 链可变域包括选自下组的一个或多个氨基酸残基:27A或27Q或27G;28G或28T或28R或28L;29W或29R;30A或30P;50H;51G;52D;53M或53L;和54E,其中,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:2所示的编号。

[0122] 本发明的第二方面,提供了一种多价TCR复合物,包含至少两个TCR分子,并且其中的至少一个TCR分子为本发明第一方面所述的TCR。

[0123] 本发明的第三方面,提供了一种核酸分子,所述核酸分子包含编码本发明第一方面所述的TCR分子或者本发明第二方面所述的多价TCR复合物的核酸序列或其互补序列。

[0124] 本发明的第四方面,提供了一种载体,所述的载体含有本发明第三方面所述的所述的核酸分子。

[0125] 本发明的第五方面,提供了一种宿主细胞,所述的宿主细胞中含有本发明第四方面所述的载体或染色体中整合有外源的本发明第三方面所述的核酸分子。

[0126] 本发明的第六方面,提供了一种分离的细胞,所述细胞表达本发明第一方面所述的TCR。

[0127] 本发明的第七方面,提供了一种药物组合物,所述组合物含有药学上可接受的载体以及本发明第一方面所述的TCR、或本发明第二方面所述的TCR复合物、或本发明第六方面所述的细胞。

[0128] 本发明的第八方面,提供了一种治疗疾病的方法,包括给需要治疗的对象施用适量的本发明第一方面所述的TCR、或本发明第二方面所述的TCR复合物、或本发明第六方面所述的细胞、或本发明第七方面所述的药物组合物。

[0129] 本发明的第九方面,提供了本发明第一方面所述的TCR、或本发明第二方面所述的TCR复合物、或本发明第六方面所述的细胞的用途,用于制备治疗肿瘤的药物,优选地,所述肿瘤为肝癌。

[0130] 本发明第一方面所述的TCR、或本发明第二方面所述的TCR复合物、或本发明第六

方面所述的细胞,用作治疗肿瘤的药物;优选地,所述肿瘤为肝癌。

[0131] 本发明的第十一方面,提供了一种制备本发明第一方面所述的T细胞受体的方法,包括步骤:

[0132] (i) 培养本发明第五方面所述的宿主细胞,从而表达本发明第一方面所述的T细胞受体;

[0133] (ii) 分离或纯化出所述的T细胞受体。

[0134] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

## 附图说明

[0135] 图1a和图1b分别显示了对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物能够特异性结合的野生型TCR $\alpha$ 与 $\beta$ 链可变域氨基酸序列。

[0136] 图2a和图2b分别为本发明构建的单链模板TCR的 $\alpha$ 链可变域的氨基酸序列和 $\beta$ 链可变域的氨基酸序列。

[0137] 图3a和图3b分别为本发明构建的单链模板TCR的 $\alpha$ 链可变域的DNA序列和 $\beta$ 链可变域的DNA序列。

[0138] 图4a和图4b分别为本发明构建的单链模板TCR的连接短肽(linker)的氨基酸序列和核苷酸序列。

[0139] 图5(1)-(27)分别显示了对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物具有高亲和力的单链TCR的 $\alpha$ 链可变域氨基酸序列,突变的残基以加下划线表示。

[0140] 图6(1)-(11)分别显示了对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物具有高亲和力的单链TCR的 $\beta$ 链可变域氨基酸序列,突变的残基以加下划线表示。

[0141] 图7a和图7b分别为本发明构建的单链模板TCR的氨基酸序列和DNA序列。

[0142] 图8a和图8b分别显示了本发明中可溶性参比TCR $\alpha$ 与 $\beta$ 链的氨基酸序列,突变后的半胱氨酸残基以加粗字母表示。

[0143] 图9(1)-(29)分别显示了对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物具有高亲和力的异质二聚TCR的 $\alpha$ 链可变域氨基酸序列,突变的残基以加下划线表示。

[0144] 图10(1)-(20)分别显示了对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物具有高亲和力的异质二聚TCR的 $\beta$ 链可变域氨基酸序列,突变的残基以加下划线表示。

[0145] 图11a和图11b分别显示了对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物能够特异性结合的野生型TCR $\alpha$ 与 $\beta$ 链的氨基酸序列。

[0146] 图12为可溶性参比TCR即野生型TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的结合曲线。

[0147] 图13a和13b为转染本发明高亲和力TCR的效应细胞的激活功能实验结果。

[0148] 图14a、14b为转染本发明高亲和力TCR的效应细胞的杀伤功能实验结果。

[0149] 图15a、15b、15c、15d、15e、15f和15g为本发明高亲和力TCR与抗-CD3抗体的融合蛋白的功能验证-激活实验结果。

[0150] 图16为本发明高亲和力TCR与抗-CD3抗体的融合蛋白的功能验证-杀伤实验结果。

[0151] 图17a和图17b为分别显示了对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物能够特异性结合的野

生型TCR $\alpha$ 与 $\beta$ 链的胞外氨基酸序列。

### 具体实施方式

[0152] 本发明通过广泛而深入的研究,获得一种识别FMNKFIYEI短肽(衍生自AFP蛋白)的高亲和性T细胞受体(TCR),所述FMNKFIYEI短肽以肽-HLA A2复合物的形式被呈递。所述高亲和性TCR在其 $\alpha$ 链可变域的3个CDR区:

[0153] CDR1 $\alpha$ :TSINN

[0154] CDR2 $\alpha$ :IRSNERE

[0155] CDR3 $\alpha$ :ATDPRTGANSKLT中发生突变;和/或在其 $\beta$ 链可变域的3个CDR区:

[0156] CDR1 $\beta$ :SEHNR

[0157] CDR2 $\beta$ :FQNEAQ

[0158] CDR3 $\beta$ :ASEGLAYEQY中发生突变;并且,突变后本发明TCR对上述FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲和力和/或结合半衰期是野生型TCR的至少2倍。

[0159] 在描述本发明之前,应当理解本发明不限于所述的具体方法和实验条件,因为这类方法和条件可以变动。还应当理解本文所用的术语其目的仅在于描述具体实施方案,并且其意图不是限制性的,本发明的范围将仅由所附的权利要求书限制。

[0160] 除非另外定义,否则本文中使用的全部技术与科学术语均具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0161] 虽然在本发明的实施或测试中可以使用与本发明中所述相似或等价的任何方法和材料,本文在此处例举优选的方法和材料。

[0162] 术语

[0163] T细胞受体(T cell receptor,TCR)

[0164] 可以采用国际免疫遗传学信息系统(IMG)来描述TCR。天然 $\alpha\beta$ 异源二聚TCR具有 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链。广义上讲,各链包含可变区、连接区和恒定区, $\beta$ 链通常还在可变区和连接区之间含有短的多变区,但该多变区常视作连接区的一部分。通过独特的IMG的TRAJ和TRBJ确定TCR的连接区,通过IMG的TRAC和TRBC确定TCR的恒定区。

[0165] 各可变区包含嵌合在框架序列中的3个CDR(互补决定区),CDR1、CDR2和CDR3。在IMG命名法中,TRAV和TRBV的不同编号分别指代不同V $\alpha$ 类型和V $\beta$ 的类型。在IMG系统中, $\alpha$ 链恒定结构域具有以下的符号:TRAC\*01,其中“TR”表示T细胞受体基因;“A”表示 $\alpha$ 链基因;C表示恒定区;“\*01”表示等位基因1。 $\beta$ 链恒定结构域具有以下的符号:TRBC1\*01或TRBC2\*01,其中“TR”表示T细胞受体基因;“B”表示 $\beta$ 链基因;C表示恒定区;“\*01”表示等位基因1。 $\alpha$ 链的恒定区是唯一确定的,在 $\beta$ 链的形式中,存在两个可能的恒定区基因“C1”和“C2”。本领域技术人员通过公开的IMG数据库可以获得TCR $\alpha$ 与 $\beta$ 链的恒定区基因序列。

[0166] TCR的 $\alpha$ 和 $\beta$ 链一般看作各有两个“结构域”即可变域和恒定结构域。可变域由连接的可变区和连接区构成。因此,在本申请的说明书和权利要求书中,“TCR $\alpha$ 链可变域”指连接的TRAV和TRAJ区,同样地,“TCR $\beta$ 链可变域”指连接的TRBV和TRBD/TRBJ区。TCR $\alpha$ 链可变域的3个CDR分别为CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 和CDR3 $\alpha$ ;TCR $\beta$ 链可变域的3个CDR分别为CDR1 $\beta$ 、CDR2 $\beta$ 和CDR3 $\beta$ 。本发明TCR可变域的框架序列可以为鼠源的或人源的,优选为人源的。TCR的恒定结构域包含胞内部分、跨膜区和胞外部分。为获得可溶性TCR,以便测定TCR与FMNKFIYEI-HLA A2复合物

之间的亲和力,本发明TCR优选地不包含跨膜区。更优选地,本发明TCR的氨基酸序列是指TCR的胞外氨基酸序列。

[0167] 本发明中所述“野生型TCR”的 $\alpha$ 链氨基酸序列及 $\beta$ 链的氨基酸序列分别为SEQ ID NO:89和SEQ ID NO:90,如图11a和11b所示。本发明中所述“野生型TCR”的 $\alpha$ 及 $\beta$ 链的胞外氨基酸序列分别为SEQ ID NO:102和SEQ ID NO:103,如图17a和17b所示。本发明中所述“参比TCR”的 $\alpha$ 链氨基酸序列及 $\beta$ 链氨基酸序列分别为SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:50,如图8a和8b所示。本发明中,能够结合FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的野生型TCR的 $\alpha$ 与 $\beta$ 链可变域氨基酸序列分别为SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2,如图1a和1b所示。在本发明中,术语“本发明多肽”、“本发明的TCR”、“本发明的T细胞受体”可互换使用。

[0168] 天然链间二硫键与人工链间二硫键

[0169] 在天然TCR的近膜区C $\alpha$ 与C $\beta$ 链间存在一组二硫键,本发明中称为“天然链间二硫键”。在本发明中,将人工引入的,位置与天然链间二硫键的位置不同的链间共价二硫键称为“人工链间二硫键”。

[0170] 为方便描述,本发明中TRAC\*01与TRBC1\*01或TRBC2\*01氨基酸序列的位置编号按从N端到C端依次的顺序进行位置编号,如TRBC1\*01或TRBC2\*01中,按从N端到C端依次的顺序第60个氨基酸为P(脯氨酸),则本发明中可将其描述为TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Pro60,也可将其表述为TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第60位氨基酸,又如TRBC1\*01或TRBC2\*01中,按从N端到C端依次的顺序第61个氨基酸为Q(谷氨酰胺),则本发明中可将其描述为TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Gln61,也可将其表述为TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第61位氨基酸,其他以此类推。本发明中,可变区TRAV与TRBV的氨基酸序列的位置编号,按照IMGT中列出的位置编号。如TRAV中的某个氨基酸,IMGT中列出的位置编号为46,则本发明中将其描述为TRAV第46位氨基酸,其他以此类推。本发明中,其他氨基酸的序列位置编号有特殊说明的,则按特殊说明。

[0171] 肿瘤

[0172] 术语“肿瘤”指包括所有类型的癌细胞生长或致癌过程,转移性组织或恶性转化细胞、组织或器官,不管病理类型或侵染的阶段。肿瘤的实施例非限制性地包括:实体瘤,软组织瘤,和转移性病灶。实体瘤的实施例包括:不同器官系统的恶性肿瘤,例如肉瘤,肺鳞癌和癌症。例如:感染的前列腺,肺,乳房,淋巴,肠胃(例如:结肠),和生殖泌尿道(例如:肾脏,上皮细胞),咽头。肺鳞癌包括恶性肿瘤,例如,多数的结肠癌,直肠癌,肾细胞癌,肝癌,肺部的非小细胞癌,小肠癌和食道癌。上述癌症的转移性病变可同样用本发明的方法和组合物来治疗和预防。

[0173] 发明详述

[0174] 众所周知,TCR的 $\alpha$ 链可变域与 $\beta$ 链可变域各含有3个CDR,类似于抗体的互补决定区。CDR3与抗原短肽相互作用,CDR1和CDR2与HLA相互作用。因此,TCR分子的CDR决定了其与抗原短肽-HLA复合物的相互作用。能够结合抗原短肽FMNKFIYEI与HLA A0201复合物(即,FMNKFIYEI-HLA A0201复合物)的野生型TCR的 $\alpha$ 链可变域氨基酸序列与 $\beta$ 链可变域氨基酸序列分别为SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2,该序列为本发明人首次发现。其具有下列CDR区:

[0175]  $\alpha$ 链可变域CDR CDR1 $\alpha$ :TSINN

[0176] CDR2 $\alpha$ :IRSNERE

[0177] CDR3 $\alpha$ :ATDPRTGANSKLT

[0178] 和 $\beta$ 链可变域CDR CDR1 $\beta$ :SEHNR

[0179] CDR2 $\beta$ :FQNEAQ

[0180] CDR3 $\beta$ :ASEGLAYEQY

[0181] 本发明通过对上述CDR区进行突变筛选,获得了与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲和力是野生型TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物亲和力至少2倍的高亲和力TCR。

[0182] 本发明提供了一种T细胞受体(TCR),其具有结合FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的活性。

[0183] 所述T细胞受体包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包含3个CDR区,所述TCR $\alpha$ 链可变域的3个CDR区的基准序列如下,

[0184] CDR1 $\alpha$ :TSINN

[0185] CDR2 $\alpha$ :IRSNERE

[0186] CDR3 $\alpha$ :ATDPRTGANSKLT,并且含有至少一个下列突变:

突变前的残基	突变后的残基
CDR1 $\alpha$ 的第2位S	D或P或A或E
CDR1 $\alpha$ 的第3位I	V
CDR1 $\alpha$ 的第4位N	S或Y或D
CDR1 $\alpha$ 的第5位N	S或K
CDR3 $\alpha$ 的第5位R	A或S或V或D或E或Q或T
CDR3 $\alpha$ 的第6位T	M或R或L或A或N或S
CDR3 $\alpha$ 的第7位G	A或Q或S或E或N
CDR3 $\alpha$ 的第8位A	S或G或P或W
CDR3 $\alpha$ 的第9位N	S或T
CDR3 $\alpha$ 的第10位S	A或N或T或P

[0188] 和/或,所述TCR $\beta$ 链可变域包含3个CDR区,所述TCR $\beta$ 链可变域的3个CDR区的基准序列如下,

[0189] CDR1 $\beta$ :SEHNR

[0190] CDR2 $\beta$ :FQNEAQ

[0191] CDR3 $\beta$ :ASEGLAYEQY,并且含有至少一个下列突变:

突变前的残基	突变后的残基
CDR1 $\beta$ 的第1位S	A或Q或G
CDR1 $\beta$ 的第2位E	G或T或R或L
CDR1 $\beta$ 的第3位H	W或R
CDR1 $\beta$ 的第4位N	A或P
CDR2 $\beta$ 的第2位Q	H
CDR2 $\beta$ 的第3位N	G
CDR2 $\beta$ 的第4位E	D
CDR2 $\beta$ 的第5位A	M或L
CDR2 $\beta$ 的第6位Q	E

[0194] 在本发明地一个较佳地实施方式中,根据本发明的T细胞受体(TCR),包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包括CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 、和CDR3 $\alpha$ 。

[0195] 在另一优选例中,所述CDR1 $\alpha$ 包含序列:

[0196] T[1 $\alpha$ X1][1 $\alpha$ X2][1 $\alpha$ X3][1 $\alpha$ X4],其中,[1 $\alpha$ X1]、[1 $\alpha$ X2]、[1 $\alpha$ X3]、[1 $\alpha$ X4]各自独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0197] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X1]为S或D或P或A或E。

[0198] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X2]为I或V。

[0199] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X3]为N或S或Y或D。

[0200] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X4]为N或S或K。

[0201] 在另一优选例中,所述[1 $\alpha$ X1]为S或D或P或A或E,[1 $\alpha$ X2]为I或V,[1 $\alpha$ X3]为N或S或Y或D,并且[1 $\alpha$ X4]为N或S或K。

[0202] 在另一优选例中,所述CDR1 $\alpha$ 包含选自下组的序列:TSINN、TPISS、TDIYK、TAVDS、TEISS和TDVSS。

[0203] 在另一优选例中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包含CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 和CDR3 $\alpha$ ,其中CDR2 $\alpha$ 的氨基酸序列为IRSNERE。

[0204] 在另一优选例中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\alpha$ 链可变域包含CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 和CDR3 $\alpha$ ,并且CDR3 $\alpha$ 包含序列:ATDP[3 $\alpha$ X1][3 $\alpha$ X2][3 $\alpha$ X3][3 $\alpha$ X4][3 $\alpha$ X5][3 $\alpha$ X6]KLT,其中,[3 $\alpha$ X1]、[3 $\alpha$ X2]、[3 $\alpha$ X3]、[3 $\alpha$ X4]、[3 $\alpha$ X5]和[3 $\alpha$ X6]各独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0205] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X1]为R或A或S或D或E或Q或V或T。

[0206] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X2]为T或M或R或L或A或N或S。

[0207] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X3]为G或A或Q或S或E或N。

[0208] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X4]为A或S或G或P或W。

[0209] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X5]为N或S或T。

[0210] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X6]为S或A或N或T或P。

[0211] 在另一优选例中,所述[3 $\alpha$ X1]为R或A或S或D或E或Q或V或T,[3 $\alpha$ X2]为T或M或R或L或A或N或S,[3 $\alpha$ X3]为G或A或Q或S或E或N,[3 $\alpha$ X4]为A或S或G或P或W,[3 $\alpha$ X5]为N或S或T,并且[3 $\alpha$ X6]为S或A或N或T或P。

[0212] 在另一优选例中,所述CDR3 $\alpha$ 包含选自下组的序列:ATDPSMSPNSKLT、ATDPSLSPNSKLT和ATDPSLQSNKLT。

[0213] 在本发明地一个较佳地实施方式中,所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域,所述TCR $\beta$ 链可变域包含CDR1 $\beta$ 、CDR2 $\beta$ 和CDR3 $\beta$ ,其中所述CDR3 $\beta$ 包含序列:ASEGLAYEQY。

[0214] 在另一优选例中,所述CDR1 $\beta$ 包含序列:[1 $\beta$ X1][1 $\beta$ X2][1 $\beta$ X3][1 $\beta$ X4]R,

[0215] 其中,[1 $\beta$ X1]、[1 $\beta$ X2]、[1 $\beta$ X3]、[1 $\beta$ X4]各自独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0216] 在另一优选例中,所述[1 $\beta$ X1]为S或A或Q或G。

[0217] 在另一优选例中,所述[1 $\beta$ X2]为E或G或T或R或L。

[0218] 在另一优选例中,所述[1 $\beta$ X3]为H或W或R。

[0219] 在另一优选例中,所述[1 $\beta$ X4]为N或A或P。

[0220] 在另一优选例中,所述CDR2 $\beta$ 包含序列:

[0221] F[2βX1][2βX2][2βX3][2βX4][2βX5], 其中, [2βX1]、[2βX2]、[2βX3]、[2βX4]、[2βX5]各自独立地选自任意的天然氨基酸残基。

[0222] 在另一优选例中, 所述[2βX1]为Q或H。

[0223] 在另一优选例中, 所述[2βX2]为N或G。

[0224] 在另一优选例中, 所述[2βX3]为E或D。

[0225] 在另一优选例中, 所述[2βX4]为A或M或L。

[0226] 在另一优选例中, 所述[2βX5]为Q或E。

[0227] 在另一优选例中, 所述CDR2β包含选自下组的序列: FQGDME、FQGDLE和FHGDLE。

[0228] 在另一优选例中, 所述TCR包含TCRα链可变域和TCRβ链可变域, 所述TCRβ链可变域包含CDR1β、CDR2β和CDR3β, 其中所述CDR2β的氨基酸序列选自下组: FQGDME、FQGDLE和FHGDLE。

[0229] 在另一优选例中, 所述TCR的TCRα链可变域不同时包含如下CDR:

[0230] CDR1α: TSINN; CDR2α: IRSNERE; 和CDR3α: ATDPRTGANSKLT。

[0231] 在另一优选例中, 所述TCR的TCRβ链可变域不同时包含如下CDR:

[0232] CDR1β: SEHNR; CDR2β: FQNEAQ; 和CDR3β: ASEGLAYEQY。

[0233] 更详细地, 所述TCRα链CDR区的突变个数可以为3个、4个、5个、6个、7个或8个; 和/或所述TCRβ链CDR区的突变个数可以为4个、5个、6个、7个或8个。

[0234] 进一步, 本发明所述TCR是αβ异质二聚TCR, 所述TCR的α链可变域包含与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列有至少90%; 优选地, 至少92%; 更优选地, 至少94% (如, 可以是至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同源性的) 的序列同源性的氨基酸序列; 和/或所述TCR的β链可变域包含与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列有至少90%, 优选地, 至少92%; 更优选地, 至少94% (如, 可以是至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同源性的) 的序列同源性的氨基酸序列。

[0235] 进一步, 本发明所述TCR是单链TCR, 所述TCR的α链可变域包含与SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列有至少85%, 优选地, 至少90%; 更优选地, 至少92%; 最优选地, 至少94% (如, 可以是至少88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同源性的) 的序列同源性的氨基酸序列; 和/或所述TCR的β链可变域包含与SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列有至少85%, 优选地, 至少90%; 更优选地, 至少92%; 最优选地, 至少94%; (如, 可以是至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同源性的) 的序列同源性的氨基酸序列。

[0236] 优选地, 所述TCR包含 (i) 除其跨膜结构域以外的全部或部分TCRα链, 和 (ii) 除其跨膜结构域以外的全部或部分TCRβ链, 其中 (i) 和 (ii) 均包含TCR链的可变域和至少一部分恒定域。

[0237] 本发明中野生型TCRα链可变域SEQ ID NO:1的3个CDR即CDR1、CDR2和CDR3分别位于SEQ ID NO:1的第27-31位、第49-55位和第90-102位。据此, 氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:1所示的编号, 28S即为CDR1α的第2位S, 29I即为CDR1α的第3位I, 30N即为CDR1α的第4位N, 31N即为CDR1α的第5位N, 94R即为CDR3α的第5位R, 95T即为CDR3α的第6位T, 96G即为CDR3α的第7位G, 97A即为CDR3α的第8位A, 98N即为CDR3α的第9位N, 99S即为CDR3α的第10位S。

[0238] 同理, 本发明中野生型TCRβ链可变域SEQ ID NO:2的3个CDR即CDR1、CDR2和CDR3分

别位于SEQ ID NO:2的第27-31位、第49-54位和第93-102位。因此,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:2所示的编号,27S即为CDR1 $\beta$ 的第1位S,28E即为CDR1 $\beta$ 的第2位E,29H即为CDR1 $\beta$ 的第3位H,30N即为CDR1 $\beta$ 的第4位N,50Q即为CDR2 $\beta$ 的第2位Q,51N即为CDR2 $\beta$ 的第3位N,52E即为CDR2 $\beta$ 的第4位E,53A即为CDR2 $\beta$ 的第5位A,54Q即为CDR2 $\beta$ 的第6位Q。

[0239] 本发明提供具有结合FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的特性的TCR,并包含 $\alpha$ 链可变域和 $\beta$ 链可变域,其特征在于,所述TCR在SEQ ID NO:1所示的 $\alpha$ 链可变域中发生突变,所述突变的氨基酸残基位点包括28S、29I、30N、31N、94R、95T、96G、97A、98N和99S中的一个或多个,其中,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:1所示的编号;和/或所述TCR在SEQ ID NO:2所示的 $\beta$ 链可变域中发生突变,所述突变的氨基酸残基位点包括27S、28E、29H、30N、50Q、51N、52E、53A和54Q中的一个或多个,其中,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:2所示的编号;

[0240] 优选地,突变后的所述TCR $\alpha$ 链可变域包括选自下组的一个或多个氨基酸残基:28D或28P或28A或28E;29V;30S或30Y或30D;31S或31K、94A或94S或94V或94D或94E或94Q或94T、95M或95R或95L或95A或95N或95S、96A或96Q或96S或96E或96N、97S或97G或97P或97W、98S或98T、99A或99N或99T或99P,其中,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:1所示的编号;和/或突变后的所述TCR $\beta$ 链可变域包括选自下组的一个或多个氨基酸残基:27A或27Q或27G、28G或28T或28R或28L、29W或29R、30A或30P、50H、51G、52D、53M或53L、54E,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:2所示的编号。

[0241] 更具体地, $\alpha$ 链可变域中所述突变的具体形式包括S28D/P/A/E、I29V、N30S/Y/D、N31S/K、R94A/S/V/D/E/Q/T、T95M/R/L/A/N/S、G96A/Q/S/E/N、A97S/G/P/W、N98S/T、S99A/N/T/P中的一组或几组; $\beta$ 链可变域中所述突变的具体形式包括S27A/Q/G、E28G/T/R/L、H29W/R、N30A/P、Q50H、N51G、E52D、A53M/L、Q54E中的一组或几组。

[0242] 根据本领域技术人员熟知的定点突变的方法,将野生型TCR $\alpha$ 链恒定区TRAC\*01外显子1的Thr48突变为半胱氨酸, $\beta$ 链恒定区TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser57突变为半胱氨酸,即得到可溶性参比TCR,其氨基酸序列分别如图8a和8b所示,突变后的半胱氨酸残基以加粗字母表示。上述半胱氨酸取代能使参比TCR的 $\alpha$ 与 $\beta$ 链的恒定区之间形成人工链间二硫键,以形成更加稳定的可溶性TCR,从而能够更加方便地评估TCR与FMNKFIYEI-HLA A2复合物之间的结合亲和力和/或结合半衰期。应理解,TCR可变区的CDR区决定了其与pMHC复合物之间的亲和力,因此,上述TCR恒定区的半胱氨酸取代并不会对TCR的结合亲和力和/或结合半衰期产生影响。所以,在本发明中,测得的参比TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物之间的结合亲和力即认为是野生型TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物之间的结合亲和力。同样地,如果测得本发明TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物之间的结合亲和力是参比TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物之间的结合亲和力的至少10倍,即等同于本发明TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物之间的结合亲和力是野生型TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物之间的结合亲和力的至少10倍。

[0243] 可通过任何合适的方法测定结合亲和力(与解离平衡常数 $K_D$ 成反比)和结合半衰期(表示为 $T_{1/2}$ )。如采用表面等离子共振技术进行检测。应了解,TCR的亲和力翻倍将导致 $K_D$ 减半。 $T_{1/2}$ 计算为 $\ln 2$ 除以解离速率( $K_{off}$ )。因此, $T_{1/2}$ 翻倍会导致 $K_{off}$ 减半。优选采用相同的试验方案检测给定TCR的结合亲和力或结合半衰期数次,例如3次或更多,取结果的平均值。在优选的实施方式中,采用本文实施例中的表面等离子共振(BIAcore)方法检测可溶性TCR

的亲合力。条件为：温度25℃，PH值为7.1-7.5。该方法检测到参比TCR对FMNKFIYEI-HLA A2复合物的解离平衡常数 $K_D$ 为4.3E-05M，即43μM，本发明中即认为野生型TCR对FMNKFIYEI-HLA A2复合物的解离平衡常数 $K_D$ 也为43μM。由于TCR的亲合力翻倍将导致 $K_D$ 减半，所以若检测到高亲合力TCR对FMNKFIYEI-HLA A2复合物的解离平衡常数 $K_D$ 为4.3E-06M，即4.3μM，则说明该高亲合力TCR对FMNKFIYEI-HLA A2复合物的亲合力是野生型TCR对FMNKFIYEI-HLA A2复合物的亲和力的10倍。本领域技术人员熟知 $K_D$ 值单位间的换算关系，即1M=10<sup>6</sup>μM，1μM=1000nM，1nM=1000pM。

[0244] 在本发明的一个优选例中，所述TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲合力是野生型TCR的至少2倍；优选地，至少5倍；更优选地，至少10倍。

[0245] 在另一优选例中，所述TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲合力是野生型TCR的至少50倍；优选地，至少100倍；更优选地，至少500倍；最优选地，至少1000倍。

[0246] 在另一优选例中，所述TCR与FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的亲合力是野生型TCR的至少10<sup>4</sup>倍；优选地，至少10<sup>5</sup>倍；更优选地，至少10<sup>6</sup>倍；

[0247] 具体地，所述TCR对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的解离平衡常数 $K_D \leq 20\mu\text{M}$ ；

[0248] 在另一优选例中，所述TCR对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的解离平衡常数 $5\mu\text{M} \leq K_D \leq 10\mu\text{M}$ ；优选地， $0.1\mu\text{M} \leq K_D \leq 1\mu\text{M}$ ；更优选地， $1\text{nM} \leq K_D \leq 100\text{nM}$ ；

[0249] 在另一优选例中，所述TCR对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物的解离平衡常数 $100\text{pM} \leq K_D \leq 1000\text{pM}$ ；优选地， $10\text{pM} \leq K_D \leq 100\text{pM}$ 。

[0250] 可采用任何合适的方法进行突变，包括但不限于依据聚合酶链式反应(PCR)的那些、依据限制性酶的克隆或不依赖连接的克隆(LIC)方法。许多标准分子生物学教材详述了这些方法。聚合酶链式反应(PCR)诱变和依据限制性酶的克隆的更多细节可参见Sambrook和Russell, (2001)分子克隆-实验室手册(Molecular Cloning-A Laboratory Manual) (第三版) CSHL出版社。LIC方法的更多信息可见(Rashtchian, (1995) Curr Opin Biotechnol 6 (1) :30-6)。

[0251] 产生本发明的TCR的方法可以是但不限于从展示此类TCR的噬菌体颗粒的多样性文库中筛选出对FMNKFIYEI-HLA-A2复合物具有高亲和性的TCR，如文献(Li, et al (2005) Nature Biotech 23 (3) :349-354)中所述。

[0252] 应理解，表达野生型TCRα和β链可变域氨基酸的基因或者表达略作修饰的野生型TCR的α和β链可变域氨基酸的基因都可用来制备模板TCR。然后在编码该模板TCR的可变域DNA中引入产生本发明的高亲合力TCR所需的改变。

[0253] 本发明的高亲和性TCR包含α链可变域氨基酸序列SEQ ID NO:51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、91、92之一和/或β链可变域氨基酸序列SEQ ID NO:78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、93、94、95、96、97、98、99、100、101之一。因此，含有野生型TCR的α链可变域氨基酸序列(SEQ ID NO:1)的TCRα链可与包含SEQ ID NO:78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、93、94、95、96、97、98、99、100、101之一的TCRβ链组合形成异质二聚TCR或单链TCR分子。或者，含有野生型TCR的β可变域氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的TCRβ链可与包含SEQ ID NO:51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、91、92之一的TCRα链组合形成异质二聚TCR或单链TCR分子。又或者，包含TCRα链可变域氨基酸序列SEQ ID NO:

51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、91、92之一的TCR $\alpha$ 链可与包含TCR $\beta$ 链可变域氨基酸序列SEQ ID NO:78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、93、94、95、96、97、98、99、100、101之一的TCR $\beta$ 链组合形成异质二聚TCR或单链TCR分子。本发明中,形成异质二聚TCR分子的 $\alpha$ 链可变域与 $\beta$ 链可变域的氨基酸序列优选自下表1:

[0254] 表1

[0255]

TCR 编号	$\alpha$ 链可变域序列 SEQ ID NO:	$\beta$ 链可变域序列 SEQ ID NO:
1	54	2
2	52	2
3	51	2
4	53	2
5	55	2
6	56	2
7	57	2
8	58	2
9	59	2
10	60	2
11	61	2
12	62	2
13	63	2
14	1	78
15	64	79
16	65	80
17	66	81
18	67	81
19	68	81
20	68	80
21	69	79
22	70	82
23	71	79
24	71	83
25	72	84
26	73	83
27	74	85
28	68	86
29	75	82
30	66	84
31	68	79
32	72	87
33	76	79
34	72	81
35	74	88

	36	77	84
	37	1	93
	38	1	94
	39	1	95
	40	1	96
[0256]	41	1	97
	42	1	98
	43	1	99
	44	1	100
	45	91	101
	46	92	101

[0257] 基于本发明的目的,本发明TCR是具有至少一个TCR $\alpha$ 和/或TCR $\beta$ 链可变域的部分。它们通常同时包含TCR $\alpha$ 链可变域和TCR $\beta$ 链可变域。它们可以是 $\alpha\beta$ 异源二聚体或是单链形式或是其他任何能够稳定存在的形式。在过继性免疫治疗中,可将 $\alpha\beta$ 异源二聚TCR的全长链(包含胞质和跨膜结构域)进行转染。本发明TCR可用作将治疗剂递送至抗原呈递细胞的靶向剂或与其他分子结合制备双功能多肽来定向效应细胞,此时TCR优选为可溶形式。

[0258] 对于稳定性而言,现有技术中公开了在TCR的 $\alpha$ 与 $\beta$ 链恒定域之间引入人工链间二硫键能够获得可溶且稳定的TCR分子,如专利文献PCT/CN2015/093806中所述。因此,本发明TCR可以是在其 $\alpha$ 和 $\beta$ 链恒定域的残基之间引入人工链间二硫键的TCR。半胱氨酸残基在所述TCR的 $\alpha$ 和 $\beta$ 链恒定域间形成人工链间二硫键。半胱氨酸残基可以取代在天然TCR中合适位点的其他氨基酸残基以形成人工链间二硫键。例如,取代TRAC\*01外显子1的Thr48和取代TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser57来形成二硫键。引入半胱氨酸残基以形成二硫键的其他位点还可以是:TRAC\*01外显子1的Thr45和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser77;TRAC\*01外显子1的Tyr10和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser17;TRAC\*01外显子1的Thr45和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Asp59;TRAC\*01外显子1的Ser15和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Glu15;TRAC\*01外显子1的Arg53和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ser54;TRAC\*01外显子1的Pro89和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Ala19;或TRAC\*01外显子1的Tyr10和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的Glu20。即半胱氨酸残基取代了上述 $\alpha$ 与 $\beta$ 链恒定域中任一组合位点。可在本发明TCR恒定域的一个或多个C末端截短最多15个、或最多10个、或最多8个或更少的氨基酸,以使其不包括半胱氨酸残基来达到缺失天然链间二硫键的目的,也可通过将形成天然链间二硫键的半胱氨酸残基突变为另一氨基酸来达到上述目的。

[0259] 如上所述,本发明的TCR可以包含在其 $\alpha$ 和 $\beta$ 链恒定域的残基间引入的人工链间二硫键。应注意,恒定域间含或不含上文所述的引入的人工二硫键,本发明的TCR均可含有TRAC恒定域序列和TRBC1或TRBC2恒定域序列。TCR的TRAC恒定域序列和TRBC1或TRBC2恒定域序列可通过存在于TCR中的天然链间二硫键连接。

[0260] 另外,对于稳定性而言,专利文献PCT/CN2016/077680还公开了在TCR的 $\alpha$ 链可变区与 $\beta$ 链恒定区之间引入人工链间二硫键能够使TCR的稳定性显著提高。因此,本发明的高亲和力和TCR的 $\alpha$ 链可变区与 $\beta$ 链恒定区之间还可以含有人工链间二硫键。具体地,在所述TCR的 $\alpha$ 链可变区与 $\beta$ 链恒定区之间形成人工链间二硫键的半胱氨酸残基取代了:TRAV的第46位氨基酸和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第60位氨基酸;TRAV的第47位氨基酸和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第61位氨基酸;TRAV的第46位氨基酸和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第

61位氨基酸;或TRAV的第47位氨基酸和TRBC1\*01或TRBC2\*01外显子1的第60位氨基酸。优选地,这样的TCR可以包含(i)除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\alpha$ 链,和(ii)除其跨膜结构域以外的全部或部分TCR $\beta$ 链,其中(i)和(ii)均包含TCR链的可变域和至少一部分恒定域, $\alpha$ 链与 $\beta$ 链形成异质二聚体。更优选地,这样的TCR可以包含 $\alpha$ 链可变域和 $\beta$ 链可变域以及除跨膜结构域以外的全部或部分 $\beta$ 链恒定域,但其不包含 $\alpha$ 链恒定域,所述TCR的 $\alpha$ 链可变域与 $\beta$ 链形成异质二聚体。

[0261] 对于稳定性而言,另一方面,本发明TCR还包括在其疏水芯区域发生突变的TCR,这些疏水芯区域的突变优选为能够使本发明TCR的稳定性提高的突变,如在公开号为W02014/206304的专利文献中所述。这样的TCR可在其下列可变域疏水芯位置发生突变:( $\alpha$ 和/或 $\beta$ 链)可变区氨基酸第11,13,19,21,53,76,89,91,94位,和/或 $\alpha$ 链J基因(TRAJ)短肽氨基酸位置倒数第3,5,7位,和/或 $\beta$ 链J基因(TRBJ)短肽氨基酸位置倒数第2,4,6位,其中氨基酸序列的位置编号按国际免疫遗传学信息系统(IMG)中列出的位置编号。本领域技术人员知晓上述国际免疫遗传学信息系统,并可根据该数据库得到不同TCR的氨基酸残基在IMG中的位置编号。

[0262] 更具体地,本发明中疏水芯区域发生突变的TCR可以是由一柔性肽链连接TCR的 $\alpha$ 与 $\beta$ 链的可变域而构成的高稳定性单链TCR。TCR可变区的CDR区决定了其与短肽-HLA复合物之间的亲和力,疏水芯的突变能够使TCR更加稳定,但并不会影响其与短肽-HLA复合物之间的亲和力。应注意,本发明中柔性肽链可以是任何适合连接TCR $\alpha$ 与 $\beta$ 链可变域的肽链。本发明实施例1中构建的用于筛选高亲和性TCR的模板链即为上述含有疏水芯突变的高稳定性单链TCR。采用稳定性较高的TCR,能够更方便的评估TCR与FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物之间的亲和力。

[0263] 该单链模板TCR的 $\alpha$ 链可变域及 $\beta$ 链可变域的CDR区与野生型TCR的CDR区完全相同。即 $\alpha$ 链可变域的3个CDR分别为CDR1 $\alpha$ :TSINN,CDR2 $\alpha$ :IRSNERE,

[0264] CDR3 $\alpha$ :ATDPRTGANSKLT和 $\beta$ 链可变域的3个CDR分别为CDR1 $\beta$ :SEHNR,CDR2 $\beta$ :FQNEAQ,CDR3 $\beta$ :ASEGLAYEQY。该单链模板TCR的氨基酸序列(SEQ ID NO:47)及核苷酸序列(SEQ ID NO:48)分别如图7a和7b所示。以此筛选出对FMNKFIYEI-HLA A0201复合物具有高亲和性的由 $\alpha$ 链可变域和 $\beta$ 链可变域构成的单链TCR。

[0265] 本发明中单链模板TCR $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:3的3个CDR即CDR1、CDR2和CDR3分别位于SEQ ID NO:3的第27-31位、第49-55位和第90-102位。据此,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:3所示的编号,28S即为CDR1 $\alpha$ 的第2位S,29I即为CDR1 $\alpha$ 的第3位I,30N即为CDR1 $\alpha$ 的第4位N,31N即为CDR1 $\alpha$ 的第5位N,94R即为CDR3 $\alpha$ 的第5位R,95T即为CDR3 $\alpha$ 的第6位T,96G即为CDR3 $\alpha$ 的第7位G,97A即为CDR3 $\alpha$ 的第8位A,98N即为CDR3 $\alpha$ 的第9位N,99S即为CDR3 $\alpha$ 的第10位S。

[0266] 同理,本发明中单链模板TCR $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:4的3个CDR即CDR1、CDR2和CDR3分别位于SEQ ID NO:2的第27-31位、第49-54位和第93-102位。因此,氨基酸残基编号采用SEQ ID NO:4所示的编号,27S即为CDR1 $\beta$ 的第1位S,28E即为CDR1 $\beta$ 的第2位E,29H即为CDR1 $\beta$ 的第3位H,30N即为CDR1 $\beta$ 的第4位N,50Q即为CDR2 $\beta$ 的第2位Q,51N即为CDR2 $\beta$ 的第3位N,52E即为CDR2 $\beta$ 的第4位E,53A即为CDR2 $\beta$ 的第5位A,54Q即为CDR2 $\beta$ 的第6位Q。

[0267] 本发明的对FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物具有高亲和性的 $\alpha\beta$ 异质二聚体的获得是

通过将筛选出的高亲和性单链TCR的 $\alpha$ 与 $\beta$ 链可变域的CDR区转移到野生型TCR $\alpha$ 链可变域 (SEQ ID NO:1) 与 $\beta$ 链可变域 (SEQ ID NO:2) 的相应位置而得到。还有一部分是根据筛选得到的CDR区的突变位点进行人工组合而得到。

[0268] 本发明的高亲和性TCR还包含 $\alpha$ 链可变域氨基酸序列SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34和35之一和/或 $\beta$ 链可变域氨基酸序列SEQ ID NO:36、37、38、39、40、41、42、43、44、45和46之一。因此,上述作为模板链的高稳定性单链TCR $\alpha$ 链可变域 (SEQ ID NO:3) 可与氨基酸序列为SEQ ID NO:36、37、38、39、40、41、42、43、44、45或46的TCR $\beta$ 链可变域组合形成所述单链TCR分子。或者,上述作为模板链的高稳定性单链TCR $\beta$ 链可变域 (SEQ ID NO:4) 可与氨基酸序列为SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35的TCR $\alpha$ 链可变域组合形成所述单链TCR分子。又或者,TCR $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34和35之一与TCR $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:36、37、38、39、40、41、42、43、44、45和46之一组合形成所述单链TCR分子。本发明中,高亲和力单链TCR分子的 $\alpha$ 链可变域与 $\beta$ 链可变域的氨基酸序列优选自下表2:

[0269] 表2

TCR 编号	$\alpha$ 链可变域序列 SEQ ID NO:	$\beta$ 链可变域序列 SEQ ID NO:
s-1	12	4
s-2	10	4
[0270] s-3	9	4
s-4	11	4
s-5	13	4
s-6	14	4
s-7	15	4

	s-8	16	4
	s-9	17	4
	s-10	18	4
	s-11	19	4
	s-12	20	4
	s-13	21	4
	s-14	3	36
	s-15	22	37
	s-16	23	38
	s-17	24	39
	s-18	25	39
	s-19	26	39
	s-20	26	38
	s-21	27	37
[0271]	s-22	28	40
	s-23	29	37
	s-24	29	41
	s-25	30	42
	s-26	31	41
	s-27	32	43
	s-28	26	44
	s-29	33	40
	s-30	24	42
	s-31	26	37
	s-32	30	45
	s-33	34	37
	s-34	30	39
	s-35	32	46
	s-36	35	42

[0272] 本发明的TCR也可以多价复合体的形式提供。本发明的多价TCR复合体包含两个、三个、四个或更多个本发明TCR相结合而形成的多聚物,如可以用p53的四聚结构域来产生四聚体,或多个本发明TCR与另一分子结合而形成的复合物。本发明的TCR复合物可用于体外或体内追踪或靶向呈递特定抗原的细胞,也可用于产生具有此类应用的其他多价TCR复合物的中间体。

[0273] 本发明的TCR可以单独使用,也可与偶联物以共价或其他方式结合,优选以共价方式结合。所述偶联物包括可检测标记物(为诊断目的,其中所述TCR用于检测呈递FMNKFIYEI-HLA-A2复合物的细胞的存在)、治疗剂、PK(蛋白激酶)修饰部分或任何以上这些物质的组合结合或偶联。

[0274] 用于诊断目的的可检测标记物包括但不限于:荧光或发光标记物、放射性标记物、MRI(磁共振成像)或CT(电子计算机X射线断层扫描技术)造影剂、或能够产生可检测产物的酶。

[0275] 可与本发明TCR结合或偶联的治疗剂包括但不限于:1.放射性核素(Koppe等,2005,癌转移评论(Cancer metastasis reviews)24,539);2.生物毒(Chaudhary等,1989,自然(Nature)339,394;Epel等,2002,癌症免疫学和免疫治疗(Cancer Immunology and Immunotherapy)51,565);3.细胞因子如IL-2等(Gillies等,1992,美国国家科学院院刊(PNAS)89,1428;Card等,2004,癌症免疫学和免疫治疗(Cancer Immunology and Immunotherapy)53,345;Halin等,2003,癌症研究(Cancer Research)63,3202);4.抗体Fc片段(Mosquera等,2005,免疫学杂志(The Journal Of Immunology)174,4381);5.抗体scFv片段(Zhu等,1995,癌症国际期刊(International Journal of Cancer)62,319);6.金纳米颗粒/纳米棒(Lapotko等,2005,癌症通信(Cancer letters)239,36;Huang等,2006,美国化学学会杂志(Journal of the American Chemical Society)128,2115);7.病毒颗粒(Peng等,2004,基因治疗(Gene therapy)11,1234);8.脂质体(Mamot等,2005,癌症研究(Cancer research)65,11631);9.纳米磁粒;10.前药激活酶(例如,DT-心肌黄酶(DTD)或联苯基水解酶-样蛋白质(BPHL));11.化疗剂(例如,顺铂)或任何形式的纳米颗粒等。

[0276] 与本发明TCR结合的抗体或其片段包括抗-T细胞或NK-细胞决定抗体,如抗-CD3或抗-CD28或抗-CD16抗体,上述抗体或其片段与TCR的结合能够对效应细胞进行定向来更好地靶向靶细胞。一个优选的实施方式是本发明TCR与抗-CD3抗体或所述抗-CD3抗体的功能片段或变体结合。具体地,本发明的TCR与抗CD3单链抗体的融合分子包括选自下组的TCR $\alpha$ 链可变域氨基酸序列SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、91、92和选自下组的TCR $\beta$ 链可变域氨基酸序列SEQ ID NO:36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、93、94、95、96、97、98、99、100、101。

[0277] 本发明还涉及编码本发明TCR的核酸分子。本发明的核酸分子可以是DNA形式或RNA形式。DNA可以是编码链或非编码链。例如,编码本发明TCR的核酸序列可以与本发明附图中所示的核酸序列相同或是简并的变异体。举例说明“简并的变异体”的含义,如本文所用,“简并的变异体”在本发明中是指编码具有SEQ ID NO:47的蛋白序列,但与SEQ ID NO:48的序列有差别的核酸序列。

[0278] 本发明的核酸分子全长序列或其片段通常可以用但不限于PCR扩增法、重组法或人工合成的方法获得。目前,已经可以完全通过化学合成来得到编码本发明TCR(或其片段,或其衍生物)的DNA序列。然后可将该DNA序列引入本领域中已知的各种现有的DNA分子(或如载体)和细胞中。

[0279] 本发明也涉及包含本发明的核酸分子的载体,以及用本发明的载体或编码序列经基因工程产生的宿主细胞。

[0280] 本发明还包括表达本发明TCR的分离细胞,特别是T细胞。有许多方法适合于用编码本发明的高亲和力TCR的DNA或RNA进行T细胞转染(如,Robbins等.,(2008)J.Immunol.180:6116-6131)。表达本发明高亲和性TCR的T细胞可以用于过继免疫治疗。本领域技术人员能够知晓进行过继性治疗的许多合适方法(如,Rosenberg等.,(2008)Nat Rev Cancer8(4):299-308)。

[0281] 本发明还提供一种药物组合物,所述药物组合物含有药学上可接受的载体以及本

发明TCR、或本发明TCR复合物、或呈递本发明TCR的细胞。

[0282] 本发明还提供了一种治疗疾病的方法,包括给需要治疗的对象施用适量的本发明TCR、或本发明TCR复合物、或呈递本发明TCR的细胞、或本发明的药物组合物。

[0283] 应理解,本文中氨基酸名称采用国际通用的单英文字母标识,与其相对应的氨基酸名称三英文字母简写分别是:Ala (A)、Arg (R)、Asn (N)、Asp (D)、Cys (C)、Gln (Q)、Glu (E)、Gly (G)、His (H)、Ile (I)、Leu (L)、Lys (K)、Met (M)、Phe (F)、Pro (P)、Ser (S)、Thr (T)、Trp (W)、Tyr (Y)、Val (V);

[0284] 本发明中,Pro60或者60P均表示第60位脯氨酸。另外,本发明中所述突变的具体形式的表述方式如“T27G”代表第27位的T被G取代,同理,“I29A/V”代表第29位的I被A取代或被V取代。其他以此类推。

[0285] 在本领域中,用性能相近或相似的氨基酸进行取代时,通常不会改变蛋白质的功能。在C末端和/或N末端添加一个或数个氨基酸通常也不会改变蛋白质的结构和功能。因此,本发明TCR还包括本发明TCR的至多5个,较佳地至多3个,更佳地至多2个,最佳地1个氨基酸(尤其是位于CDR区之外的氨基酸),被性质相似或相近的氨基酸所替换,并仍能够保持其功能性的TCR。

[0286] 本发明还包括对本发明TCR略作修饰后的TCR。修饰(通常不改变一级结构)形式包括:本发明TCR的化学衍生形式如乙酰化或羧基化。修饰还包括糖基化,如那些在本发明TCR的合成和加工中或进一步加工步骤中进行糖基化修饰而产生的TCR。这种修饰可以通过将TCR暴露于进行糖基化的酶(如哺乳动物的糖基化酶或去糖基化酶)而完成。修饰形式还包括具有磷酸化氨基酸残基(如磷酸酪氨酸,磷酸丝氨酸,磷酸苏氨酸)的序列。还包括被修饰从而提高了其抗蛋白水解性能或优化了溶解性能的TCR。

[0287] 本发明的TCR、TCR复合物或本发明TCR转染的T细胞可与药学上可接受的载体一起在药物组合物中提供。本发明的TCR、多价TCR复合物或细胞通常作为无菌药物组合物的一部分提供,所述组合物通常包括药学上可接受的载体。该药物组合物可以是任何合适的形式(取决于给予患者的所需方法)。其可采用单位剂型提供,通常在密封的容器中提供,可作为试剂盒的一部分提供。此类试剂盒(但非必需)包括使用说明书。其可包括多个所述单位剂型。

[0288] 此外,本发明的TCR可以单用,也可与其他治疗剂结合或偶联在一起使用(如配制在同一药物组合物中)。

[0289] 药物组合物还可含有药学上可接受的载体。术语“药学上可接受的载体”指用于治疗剂给药的载体。该术语指这样一些药剂载体:它们本身不诱导产生对接受该组合物的个体有害的抗体,且给药后没有过分的毒性。这些载体是本领域普通技术人员所熟知的。在雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub.Co., N.J.1991))中可找到关于药学上可接受的赋形剂的充分讨论。这类载体包括(但并不限于):盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、佐剂、及其组合。

[0290] 治疗性组合物中药学上可接受的载体可含有液体,如水、盐水、甘油和乙醇。另外,这些载体中还可能存在辅助性的物质,如润湿剂或乳化剂、pH缓冲物质等。

[0291] 通常,可将治疗性组合物制成可注射剂,例如液体溶液或悬液;还可制成在注射前适合配入溶液或悬液中、液体载体的固体形式。

[0292] 一旦配成本发明的组合物,可将其通过常规途径进行给药,其中包括(但并不限于):眼内、肌内、静脉内、皮下、皮内、或局部给药,优选为胃肠外包括皮下、肌肉内或静脉内。待预防或治疗的对象可以是动物;尤其是人。

[0293] 当本发明的药物组合物被用于实际治疗时,可根据使用情况而采用各种不同剂型的药物组合物。较佳地,可以例举的有针剂、口服剂等。

[0294] 这些药物组合物可根据常规方法通过混合、稀释或溶解而进行配制,并且偶尔添加合适的药物添加剂,如赋形剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂、稀释剂、缓冲剂、等渗剂(isotonicities)、防腐剂、润湿剂、乳化剂、分散剂、稳定剂和助溶剂,而且该配制过程可根据剂型用惯常方式进行。

[0295] 本发明的药物组合物还可以缓释剂形式给药。例如,本发明TCR可被掺入以缓释聚合物为载体的药丸或微囊中,然后将该药丸或微囊通过手术植入待治疗的组织。作为缓释聚合物的例子,可例举的有乙烯-乙烯基乙酸酯共聚物、聚羟基甲基丙烯酸酯(polyhydrometaacrylate)、聚丙烯酰胺、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、乳酸聚合物、乳酸-乙醇酸共聚物等,较佳地可例举的是可生物降解的聚合物如乳酸聚合物和乳酸-乙醇酸共聚物。

[0296] 当本发明的药物组合物被用于实际治疗时,作为活性成分的本发明TCR或TCR复合物或呈递本发明TCR的细胞,可根据待治疗的每个病人的体重、年龄、性别、症状程度而合理地加以确定,最终由医师决定合理的用量。

[0297] 本发明的主要优点在于:

[0298] (1) 本发明的TCR对所述FMNKFIYEI-HLA-A2复合物的亲和力和/或结合半衰期是野生型TCR的至少2倍,优选地,至少10倍。

[0299] (2) 本发明的TCR对所述FMNKFIYEI-HLA-A2复合物的亲和力和/或结合半衰期是野生型TCR的至少100倍,优选地,至少1000倍,更优选地,可达 $10^4$ - $10^7$ 倍。

[0300] (3) 转导本发明的高亲和力TCR的效应细胞对靶细胞有很强的杀伤作用。

[0301] 下面的具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,例如(Sambrook和Russell等人,分子克隆:实验室手册(Molecular Cloning-A Laboratory Manual)(第三版)(2001)CSHL出版社)中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数按重量计算。

[0302] 材料和方法

[0303] 本发明实施例中所用的实验材料如无特殊说明均可从市售渠道获得,其中,E.coli DH5 $\alpha$ 购自Tiangen、E.coli BL21(DE3)购自Tiangen、E.coli Tuner(DE3)购自Novagen、质粒pET28a购自Novagen。

[0304] 实施例1疏水芯突变的稳定性单链TCR模板链的产生

[0305] 本发明利用定点突变的方法,根据专利文献W02014/206304中所述,构建了一个柔性短肽(linker)连接TCR $\alpha$ 与 $\beta$ 链可变域而构成的稳定性单链TCR分子,其氨基酸及DNA序列分别为SEQ ID NO:47和SEQ ID NO:48,如图7a和图7b所示。并以该单链TCR分子为模板进行高亲和性TCR分子的筛选。该模板链的 $\alpha$ 可变域(SEQ ID NO:3)及 $\beta$ 可变域(SEQ ID NO:4)的氨基酸序列如图2a和2b所示;其对应的DNA序列分别为SEQ ID NO:5和6,如图3a和3b所

示;柔性短肽(linker)的氨基酸序列及DNA序列分别为SEQ ID NO:7和8,如图4a和4b所示。

[0306] 将携带模板链的目的基因经NcoI和NotI双酶切,与经过NcoI和NotI双酶切的pET28a载体连接。连接产物转化至E.coli DH5 $\alpha$ ,涂布含卡那霉素的LB平板,37 $^{\circ}$ C倒置培养过夜,挑取阳性克隆进行PCR筛选,对阳性重组子进行测序,确定序列正确后抽提重组质粒转化至E.coli BL21 (DE3),用于表达。

[0307] 实施例2实施例1中构建的稳定性单链TCR的表达、复性和纯化

[0308] 将实施例1中制备的含有重组质粒pET28a-模板链的BL21 (DE 3) 菌落全部接种于含有卡那霉素的LB培养基中,37 $^{\circ}$ C培养至OD<sub>600</sub>为0.6-0.8,加入IPTG至终浓度为0.5mM,37 $^{\circ}$ C继续培养4h。5000rpm离心15min收获细胞沉淀物,用Bugbuster Master Mix (Merck) 裂解细胞沉淀物,6000rpm离心15min回收包涵体,再用Bugbuster (Merck) 进行洗涤以除去细胞碎片和膜组分,6000rpm离心15min,收集包涵体。将包涵体溶解在缓冲液(20mM Tris-HCl pH 8.0,8M尿素)中,高速离心去除不溶物,上清液用BCA法定量后进行分装,于-80 $^{\circ}$ C保存备用。

[0309] 向5mg溶解的单链TCR包涵体蛋白中,加入2.5mL缓冲液(6M Gua-HCl,50mM Tris-HCl pH 8.1,100mM NaCl,10mM EDTA),再加入DTT至终浓度为10mM,37 $^{\circ}$ C处理30min。用注射器向125mL复性缓冲液(100mM Tris-HCl pH 8.1,0.4M L-精氨酸,5M尿素,2mM EDTA,6.5mM  $\beta$ -mercapthoethylamine,1.87mM Cystamine)中滴加上述处理后的单链TCR,4 $^{\circ}$ C搅拌10min,然后将复性液装入截留量为4kDa的纤维素膜透析袋,透析袋置于1L预冷的水中,4 $^{\circ}$ C缓慢搅拌过夜。17小时后,将透析液换成1L预冷的缓冲液(20mM Tris-HCl pH 8.0),4 $^{\circ}$ C继续透析8h,然后将透析液换成相同的新鲜缓冲液继续透析过夜。17小时后,样品经0.45 $\mu$ m滤膜过滤,真空脱气后通过阴离子交换柱(HiTrap Q HP,GE Healthcare),用20mM Tris-HCl pH 8.0配制的0-1M NaCl线性梯度洗脱液纯化蛋白,收集的洗脱组分进行SDS-PAGE分析,包含单链TCR的组分浓缩后进一步用凝胶过滤柱(Superdex 75 10/300,GE Healthcare)进行纯化,目标组分也进行SDS-PAGE分析。

[0310] 用于BIAcore分析的洗脱组分进一步采用凝胶过滤法测试其纯度。条件为:色谱柱Agilent Bio SEC-3 (300A,  $\phi$ 7.8 $\times$ 300 mm),流动相为150mM磷酸盐缓冲液,流速0.5mL/min,柱温25 $^{\circ}$ C,紫外检测波长214nm。

[0311] 实施例3结合表征

[0312] BIAcore分析

[0313] 使用BIAcore T200实时分析系统检测TCR分子与FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的结合活性。将抗链霉亲和素的抗体(GenScript)加入偶联缓冲液(10mM醋酸钠缓冲液,pH 4.77),然后将抗体流过预先用EDC和NHS活化过的CM5芯片,使抗体固定在芯片表面,最后用乙醇胺的盐酸溶液封闭未反应的活化表面,完成偶联过程,偶联水平约为15,000RU。条件为:温度25 $^{\circ}$ C,PH值为7.1-7.5。

[0314] 使低浓度的链霉亲和素流过已包被抗体的芯片表面,然后将FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物流过检测通道,另一通道作为参比通道,再将0.05mM的生物素以10 $\mu$ L/min的流速流过芯片2min,封闭链霉亲和素剩余的结合位点。采用单循环动力学分析方法测定其亲和力和,将TCR用HEPES-EP缓冲液(10mM HEPES,150mM NaCl,3mM EDTA,0.005%P20,pH 7.4)稀释成几个不同的浓度,以30 $\mu$ L/min的流速,依次流过芯片表面,每次进样的结合时间为120s,最后一次进样结束后让其解离600s。每一轮测定结束后用pH 1.75的10mM Gly-HCl再

生芯片。利用BIAcore Evaluation软件计算动力学参数。

[0315] 上述FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的制备过程如下：

[0316] a. 纯化

[0317] 收集100ml诱导表达重链或轻链的E.coli菌液，于4℃8000g离心10min后用10ml PBS洗涤菌体一次，之后用5ml BugBuster Master Mix Extraction Reagents (Merck) 剧烈震荡重悬菌体，并于室温旋转孵育20min，之后于4℃，6000g离心15min，弃去上清，收集包涵体。

[0318] 将上述包涵体重悬于5ml BugBuster Master Mix中，室温旋转孵育5min；加30ml 稀释10倍的BugBuster，混匀，4℃6000g离心15min；弃去上清，加30ml 稀释10倍的BugBuster重悬包涵体，混匀，4℃6000g离心15min，重复两次，加30ml 20mM Tris-HCl pH 8.0重悬包涵体，混匀，4℃6000g离心15min，最后用20mM Tris-HCl 8M尿素溶解包涵体，SDS-PAGE检测包涵体纯度，BCA试剂盒测浓度。

[0319] b. 复性

[0320] 将合成的短肽FMNKFIYEI (北京赛百盛基因技术有限公司) 溶解于DMSO至20mg/ml的浓度。轻链和重链的包涵体用8M尿素、20mM Tris pH 8.0、10mM DTT来溶解，复性前加入3M盐酸胍、10mM醋酸钠、10mM EDTA进一步变性。将FMNKFIYEI肽以25mg/L (终浓度) 加入复性缓冲液 (0.4M L-精氨酸、100mM Tris pH 8.3、2mM EDTA、0.5mM氧化性谷胱甘肽、5mM还原型谷胱甘肽、0.2mM PMSF，冷却至4℃)，然后依次加入20mg/L的轻链和90mg/L的重链 (终浓度，重链分三次加入，8h/次)，复性在4℃进行至少3天至完成，SDS-PAGE检测能否复性成功。

[0321] c. 复性后纯化

[0322] 用10体积的20mM Tris pH 8.0作透析来更换复性缓冲液，至少更换缓冲液两次来充分降低溶液的离子强度。透析后用0.45μm醋酸纤维素滤膜过滤蛋白质溶液，然后加载到HiTrap Q HP (GE通用电气公司) 阴离子交换柱上 (5ml床体积)。利用Akta纯化仪 (GE通用电气公司)，20mM Tris pH 8.0配制的0-400mM NaCl线性梯度液洗脱蛋白，pMHC约在250mM NaCl处洗脱，收集诸峰组分，SDS-PAGE检测纯度。

[0323] d. 生物素化

[0324] 用Millipore超滤管将纯化的pMHC分子浓缩，同时将缓冲液置换为20mM Tris pH8.0，然后加入生物素化试剂0.05M Bicine pH 8.3、10mM ATP、10mM MgOAc、50μM D-Biotin、100μg/ml BirA酶 (GST-BirA)，室温孵育混合物过夜，SDS-PAGE检测生物素化是否完全。

[0325] e. 纯化生物素化后的复合物

[0326] 用Millipore超滤管将生物素化标记后的pMHC分子浓缩至1ml，采用凝胶过滤层析纯化生物素化的pMHC，利用Akta纯化仪 (GE通用电气公司)，用过滤过的PBS预平衡HiPrep™ 16/60S200 HR柱 (GE通用电气公司)，加载1ml浓缩过的生物素化pMHC分子，然后用PBS以1ml/min流速洗脱。生物素化的pMHC分子在约55ml时作为单峰洗脱出现。合并含有蛋白质的组分，用Millipore超滤管浓缩，BCA法 (Thermo) 测定蛋白质浓度，加入蛋白酶抑制剂cocktail (Roche) 将生物素化的pMHC分子分装保存在-80℃。

[0327] 实施例4高亲和性单链TCR的产生

[0328] 噬菌体展示技术是产生TCR高亲和力变体文库以筛选高亲和力变体的一种手段。

将Li等((2005) Nature Biotech 23 (3) :349-354)描述的TCR噬菌体展示和筛选方法应用于实施例1中的单链TCR模板。通过突变该模板链的CDR区来建立高亲和性TCR的文库并进行淘选。经过几轮淘选后的噬菌体文库均和相应抗原有特异性结合,从中挑取单克隆,并进行序列分析。

[0329] 采用实施例3中BIAcore方法分析TCR分子与FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的相互作用,筛选出了亲和力和/或结合半衰期是野生型TCR的至少2倍的高亲和性TCR,即筛选出的高亲和性TCR结合FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的解离平衡常数 $K_D$ 小于等于野生型TCR结合FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的解离平衡常数 $K_D$ 的二分之一,结果如下表3所示。利用上述方法检测到可溶性参比TCR与FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物相互作用的 $K_D$ 值为 $43\mu\text{M}$ ,其相互作用曲线如图12所示,即野生型TCR与FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物相互作用的 $K_D$ 值也为 $43\mu\text{M}$ ,即 $4.3\text{E}-05\text{M}$ 。

[0330] 具体地,采用SEQ ID NO:1中所示的编号,这些高亲和力TCR突变体的 $\alpha$ 链可变域在下列一个或多个位点的氨基酸发生突变:28S、29I、30N、31N、94R、95T、96G、97A、98N和99S和/或采用SEQ ID NO:2中所示的编号,这些高亲和力TCR突变体的 $\beta$ 链可变域在下列一个或多个位点27S、28E、29H、30N、50Q、51N、52E、53A和54Q中发生突变。

[0331] 更具体地,采用SEQ ID NO:1所示的编号,这些高亲和力TCR的 $\alpha$ 链可变域包含选自下组的一个或多个氨基酸残基28D或28P或28A或28E、29V、30S或30Y或30D、31S或31K、94A或94S或94V或94D或94E或94Q或94T、95M或95R或95L或95A或95N或95S、96A或96Q或96S或96E或96N、97S或97G或97P或97W、98S或98T、99A或99N或99T或99P;和/或采用SEQ ID NO:2所示的编号,这些高亲和力TCR的 $\beta$ 链可变域包含选自下组的一个或多个氨基酸残基27A或27Q或27G、28G或28T或28R或28L、29W或29R、30A或30P、50H、51G、52D、53M或53L、54E。

[0332] 高亲和性单链TCR的 $\alpha$ 链可变域(SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34和35)和 $\beta$ 链可变域(SEQ ID NO:36、37、38、39、40、41、42、43、44、45和46)的具体氨基酸序列分别如图5(1)-(27)和图6(1)-(11)所示。

[0333] 表3

单链 TCR 编号	单链 TCR 可变域 (SEQ ID NO.)		K <sub>D</sub> (M)
	α	β	
s-1	12	4	2.53E-08
s-2	10	4	2.11E-05
s-3	9	4	8.87E-08
s-4	11	4	2.04E-06
s-5	13	4	5.46E-06
s-6	14	4	1.90E-07
s-7	15	4	1.01E-06
s-8	16	4	4.11E-08
s-9	17	4	2.57E-07
s-10	18	4	1.56E-06
s-11	19	4	2.96E-08
s-12	20	4	8.60E-09
s-13	21	4	5.72E-08
s-14	3	36	2.26E-06
s-15	22	37	2.01E-09
s-16	23	38	3.14E-09
s-17	24	39	3.88E-09
s-18	25	39	2.82E-09
s-19	26	39	2.35E-09
s-20	26	38	1.91E-09

[0334]

[0335]

s-21	27	37	1.75E-09
s-22	28	40	1.44E-09
s-23	29	37	1.59E-09
s-24	29	41	3.65E-09
s-25	30	42	2.43E-09
s-26	31	41	2.72E-09
s-27	32	43	2.33E-09
s-28	26	44	1.95E-09
s-29	33	40	2.07E-09
s-30	24	42	3.46E-09
s-31	26	37	1.91E-09
s-32	30	45	3.51E-09
s-33	34	37	2.47E-09
s-34	30	39	2.40E-09
s-35	32	46	2.12E-09
s-36	35	42	3.40E-09

[0336] 实施例5高亲和力αβ异质二聚TCR的产生

[0337] 将实施例4中筛选到的高亲和力的单链TCR的CDR区突变引入到αβ异质二聚TCR的可变域的相应位点中,并通过BIAcore来检测其与FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的亲和力。上述CDR区高亲和力突变点的引入采用本领域技术人员熟知的定点突变的方法。上述野生型TCR的α链与β链可变域氨基酸序列分别如图1a(SEQ ID NO:1)和1b(SEQ ID NO:2)所示。

[0338] 应注意,为获得更加稳定的可溶性TCR,以便更方便地评估TCR与FMNKFIYEI-HLA

A0201复合物之间的结合亲和力和/或结合半衰期,αβ异质二聚TCR可以是在α和β链的恒定区中分别引入了一个半胱氨酸残基以形成人工链间二硫键的TCR,本实施例中引入半胱氨酸残基后TCRα与β链的氨基酸序列分别如图8a (SEQ ID NO:49)和8b所示 (SEQ ID NO:50),引入的半胱氨酸残基以加粗字母表示。

[0339] 通过《分子克隆实验室手册》(Molecular Cloning a Laboratory Manual) (第三版, Sambrook和Russell) 中描述的标准方法将待表达的TCRα和β链的胞外序列基因经合成后分别插入到表达载体pET28a+ (Novagene), 上下游的克隆位点分别是NcoI和NotI。CDR区的突变通过本领域技术人员熟知的重叠PCR (overlap PCR) 引入。插入片段经过测序确认无误。

[0340] 实施例6αβ异质二聚TCR的表达、复性和纯化

[0341] 将TCRα和β链的表达载体分别通过化学转化法转化进入表达细菌BL21 (DE3), 细菌用LB培养液生长, 于 $OD_{600}=0.6$ 时用终浓度0.5mM IPTG诱导, TCR的α和β链表达后形成的包涵体通过BugBuster Mix (Novagene) 进行提取, 并且经BugBuster溶液反复多次洗涤, 包涵体最后溶解于6M盐酸胍, 10mM二硫苏糖醇 (DTT), 10mM乙二胺四乙酸 (EDTA), 20mM Tris (pH 8.1) 中。

[0342] 溶解后的TCRα和β链以1:1的质量比快速混合于5M尿素, 0.4M精氨酸, 20mM Tris (pH 8.1), 3.7mM cystamine, 6.6mMβ-mercaptoethylamine (4°C) 中, 终浓度为60mg/mL。混合后将溶液置于10倍体积的去离子水中透析 (4°C), 12小时后将去离子水换成缓冲液 (20mM Tris, pH 8.0) 继续于4°C透析12小时。透析完成后的溶液经0.45μm的滤膜过滤后, 通过阴离子交换柱 (HiTrap Q HP, 5ml, GE Healthcare) 纯化。洗脱峰含有复性成功的α和β二聚体的TCR通过SDS-PAGE胶确认。TCR随后通过凝胶过滤层析 (HiPrep16/60, Sephacryl S-100HR, GE Healthcare) 进一步纯化。纯化后的TCR纯度经过SDS-PAGE测定大于90%, 浓度由BCA法确定。

[0343] 实施例7 BIAcore分析结果

[0344] 采用实施例3中所述方法检测引入高亲和力CDR区的αβ异质二聚TCR与FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的亲和力。

[0345] 将高亲和性单链TCRα与β链中筛选出的CDR区分别转移到野生型TCRα链可变域SEQ ID NO:1和β链可变域SEQ ID NO:2的相应位置, 形成αβ异质二聚TCR; 另外, 还根据筛选得到的CDR区的突变位点进行人工组合来形成αβ异质二聚TCR, 得到的新的TCRα和β链可变域氨基酸序列, 分别如图9 (1) - (29) 和图10 (1) - (20) 所示。由于TCR分子的CDR区决定了其与相应的pMHC复合物的亲和力, 所以本领域技术人员能够预料引入高亲和力突变点的αβ异质二聚TCR也具有对FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的高亲和力。利用实施例5中所述方法构建表达载体, 利用实施例6中所述方法对上述引入高亲和力突变的αβ异质二聚TCR进行表达、复性和纯化, 然后利用BIAcore T200测定其与FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的亲和力, 如下表4所示。

[0346] 表4

[0347]

TCR 编号	$\alpha$ 链可变域序列 SEQ ID NO:	$\beta$ 链可变域序列 SEQ ID NO:	$K_D(M)$
1	54	2	6.3E-07
2	52	2	1.6E-06
3	51	2	6.2E-07
4	53	2	3.5E-07
5	55	2	1.4E-06
6	56	2	9.04E-07
7	57	2	4.65E-07
8	58	2	1.41E-06
9	59	2	2.34E-07
10	60	2	3.99E-07
11	61	2	7.87E-07
12	62	2	5.39E-07
13	63	2	9.99E-07
14	1	78	2.96E-06

	15	64	79	1.66E-10
	16	65	80	1.61E-10
	17	66	81	1.67E-10
	18	67	81	1.18E-10
	19	68	81	1.70E-10
	20	68	80	1.38E-10
	21	69	79	8.22E-11
	22	70	82	8.67E-11
	23	71	79	7.26E-11
	24	71	83	7.89E-11
	25	72	84	7.46E-11
	26	73	83	8.98E-11
	27	74	85	1.50E-10
	28	68	86	7.67E-11
	29	75	82	8.54E-11
[0348]	30	66	84	9.74E-11
	31	68	79	7.45E-11
	32	72	87	4.99E-11
	33	76	79	3.42E-11
	34	72	81	4.47E-11
	35	74	88	1.31E-09
	36	77	84	1.68E-10
	37	1	93	1.90E-05
	38	1	94	5.50E-06
	39	1	95	3.30E-07
	40	1	96	1.10E-05
	41	1	97	1.40E-05
	42	1	98	1.20E-05
	43	1	99	1.6E-06
	44	1	100	2.3E-06
	45	91	101	6.20E-11
	46	92	101	1.70E-10

[0349] 由上表4可知,引入CDR区突变点的 $\alpha\beta$ 异质二聚TCR保持了对FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的高亲和力。所述异质二聚TCR的亲和力是野生型TCR对FMNKFIYEI-HLA-A0201复合物的亲和力的至少2倍。

[0350] 实施例8抗-CD3抗体与高亲和性单链TCR的融合体的表达、复性和纯化

[0351] 将本发明的高亲和性单链TCR分子与抗CD3抗体的单链分子(scFv)进行融合,构建融合分子。通过重叠(overlap)PCR的方法,设计引物,连接抗-CD3抗体及高亲和性单链TCR分子的基因,设计中间的连接短肽(linker)为GGGGS,并且使融合分子的基因片段带上限制性内切酶位点NcoI和NotI。将PCR扩增产物经NcoI和NotI双酶切,与经过NcoI和NotI双酶切的pET28a载体连接。连接产物转化至E.coli DH5 $\alpha$ 感受态细胞,涂布含卡那霉素的LB平板,

37℃倒置培养过夜,挑取阳性克隆进行PCR筛选,对阳性重组子进行测序,确定序列正确后抽提重组质粒转化至E.coli BL21 (DE3) 感受态细胞,用于表达。

#### [0352] 融合蛋白的表达

[0353] 将含有目的基因的表达质粒转化入大肠杆菌菌株BL21 (DE3) 中,涂布LB平板(卡那霉素50µg/ml)置于37℃培养过夜。次日,挑克隆接种至10ml LB液体培养基(卡那霉素50µg/ml)培养2-3h,按体积比1:100接种至1L LB培养基(卡那霉素50µg/ml)中,继续培养至OD<sub>600</sub>为0.5-0.8,然后使用终浓度为0.5mM的IPTG诱导目的蛋白的表达。诱导4小时以后,以6000rpm离心10min收获细胞。PBS缓冲液洗涤菌体一次,并且分装菌体,取相当于200ml的细菌培养物的菌体用5ml BugBuster Master Mix (Novagen) 裂解细菌,以6000g离心15min收集包涵体。然后进行4次洗涤剂洗涤以去除细胞碎片和膜组分。然后,用缓冲液如PBS洗涤包涵体以除去洗涤剂和盐。最终,将包涵体用含8M尿素的Tris缓冲溶液溶解,并测定包涵体浓度,将其分装后置于-80℃冷冻保存。

#### [0354] 融合蛋白的重折叠

[0355] 从-80℃超低温冰箱中取出约10mg包涵体解冻,加二硫苏糖醇(DTT)至终浓度为10mM,在37℃中温育30min到1小时以确保二硫键完全打开。然后将包涵体样品溶液分别滴入200ml 4℃预冷重折叠缓冲液(100mM Tris pH 8.1,400mM L-精氨酸,2mM EDTA,5M尿素,6.5mMβ-mercapthoethylamine,1.87mM Cystamine),4℃缓慢搅拌约30分钟。复性溶液用8倍体积预冷的H<sub>2</sub>O透析16-20小时。再用8倍体积的10mM Tris pH8.0透析两次,4℃继续透析约8小时,透析后样品过滤后进行以下纯化。

#### [0356] 融合蛋白的第一步纯化

[0357] 经过透析的重折叠物(10mM Tris pH 8.0中)使用POROS HQ/20阴离子交换层析预装柱(Applied Biosystems),在AKTA纯化仪(GE Healthcare)用0-600mM NaCl进行梯度洗脱。通过考马斯亮蓝染色的SDS-PAGE分析各个组分,然后合并。

#### [0358] 融合蛋白的第二步纯化

[0359] 将第一步纯化合并的样品溶液浓缩以供此步纯化,利用在PBS缓冲液中预平衡的Superdex 75 10/300GL凝胶过滤层析预装柱(GE Healthcare)纯化融合蛋白,考马斯亮蓝染色的SDS-PAGE分析出峰的组分,然后合并。

#### [0360] 实施例9抗-CD3抗体与高亲和性αβ异质二聚TCR的融合体的表达、复性和纯化

[0361] 将抗-CD3的单链抗体(scFv)与αβ异质二聚TCR融合,制备融合分子。抗-CD3的scFv与TCR的β链融合,该TCRβ链可以包含任一上述高亲和性αβ异质二聚TCR的β链可变域,融合分子的TCRα链可以包含任一上述高亲和性αβ异质二聚TCR的α链可变域。

#### [0362] 融合分子表达载体的构建

##### [0363] 1. α链表达载体的构建

[0364] 将携带αβ异质二聚TCR的α链的目的基因经NcoI和NotI双酶切,与经过NcoI和NotI双酶切的pET28a载体连接。连接产物转化至E.coli DH5α,涂布于含卡那霉素的LB平板,37℃倒置培养过夜,挑取阳性克隆进行PCR筛选,对阳性重组子进行测序,确定序列正确后抽提重组质粒转化至E.coli Tuner (DE3),用于表达。

##### [0365] 2. 抗-CD3(scFv)-β链表达载体的构建

[0366] 通过重叠(overlap)PCR的方法,设计引物将抗-CD3 scFv和高亲和性异质二聚TCR

$\beta$ 链基因连接起来,中间的连接短肽(linker)为GGGGS,并且使抗-CD3的scFv与高亲和性异质二聚TCR $\beta$ 链的融合蛋白的基因片段带上限制性内切酶位点NcoI (CCATGG) 和NotI (GCGGCCGC)。将PCR扩增产物经NcoI和NotI双酶切,与经过NcoI和NotI双酶切的pET28a载体连接。连接产物转化至E.coli DH5 $\alpha$ 感受态细胞,涂布含卡那霉素的LB平板,37 $^{\circ}$ C倒置培养过夜,挑取阳性克隆进行PCR筛选,对阳性重组子进行测序,确定序列正确后抽提重组质粒转化至E.coli Tuner (DE3) 感受态细胞,用于表达。

[0367] 融合蛋白的表达、复性及纯化

[0368] 将表达质粒分别转化进入E.coli Tuner (DE3) 感受态细胞,涂布LB平板(卡那霉素50 $\mu$ g/mL)置于37 $^{\circ}$ C培养过夜。次日,挑克隆接种至10mL LB液体培养基(卡那霉素50 $\mu$ g/mL)培养2-3h,按体积比1:100接种至1L LB培养基中,继续培养至OD<sub>600</sub>为0.5-0.8,加入终浓度为1mM IPTG诱导目的蛋白的表达。诱导4小时以后,以6000rpm离心10min收获细胞。PBS缓冲液洗涤菌体一次,并且分装菌体,取相当于200mL的细菌培养物的菌体用5mL BugBuster Master Mix (Merck) 裂解细菌,以6000g离心15min收集包涵体。然后进行4次洗涤剂洗涤以去除细胞碎片和膜组分。然后,用缓冲液如PBS洗涤包涵体以除去洗涤剂和盐。最终,将包涵体用含6M盐酸胍,10mM二硫苏糖醇(DTT),10mM乙二胺四乙酸(EDTA),20mM Tris,pH 8.1缓冲液溶解,并测定包涵体浓度,将其分装后置于-80 $^{\circ}$ C冷冻保存。

[0369] 溶解后的TCR $\alpha$ 链和抗-CD3(scFv)- $\beta$ 链以2:5的质量比快速混合于5M尿素(urea),0.4M L-精氨酸(L-arginine),20mM Tris pH 8.1,3.7mM cystamine,6.6mM $\beta$ -mercapoethylamine(4 $^{\circ}$ C),终浓度 $\alpha$ 链和抗-CD3(scFv)- $\beta$ 链分别为0.1mg/mL,0.25mg/mL。

[0370] 混合后将溶液置于10倍体积的去离子水中透析(4 $^{\circ}$ C),12小时后将去离子水换成缓冲液(10mM Tris,pH 8.0)继续于4 $^{\circ}$ C透析12小时。透析完成后的溶液经0.45 $\mu$ m的滤膜过滤后,通过阴离子交换柱(HiTrap Q HP 5ml,GE healthcare)纯化。洗脱峰含有复性成功的TCR $\alpha$ 链与抗-CD3(scFv)- $\beta$ 链二聚体的TCR通过SDS-PAGE胶确认。TCR融合分子随后通过尺寸排阻色谱法(S-100 16/60,GE healthcare)进一步纯化,以及阴离子交换柱(HiTrap Q HP 5ml,GE healthcare)再次纯化。纯化后的TCR融合分子纯度经过SDS-PAGE测定大于90%,浓度由BCA法测定。

[0371] 实施例10转染本发明高亲和力TCR的效应细胞的激活功能实验

[0372] 本实施例验证了转染本发明高亲和力TCR的效应细胞对靶细胞有很好的特异性激活作用。

[0373] 通过ELISPOT实验检测本发明高亲和力TCR在细胞中的功能及特异性。本领域技术人员熟知利用ELISPOT实验检测细胞功能的方法。本实施例IFN- $\gamma$  ELISPOT实验用从健康志愿者的血液中分离到的CD8 $^{+}$ T细胞经慢病毒转染本发明高亲和力TCR作为效应细胞。

[0374] 随机选择本发明TCR,分两组进行实验,所述TCR以及其编号从表4获悉:

[0375] 第一组为TCR3( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:51, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)、TCR2( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:52, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)、TCR4( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:53, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)和TCR1( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:54, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2),对照组效应细胞标号为WT-TCR(转染野生型TCR)和A6(转染非本发明其他TCR)。靶细胞系为HepG2、Huh-7、Huh-1、HCCC9810和SK-HEP-1细胞。其中,靶细胞系HepG2表达相关抗原并且基因型也符合为阳性细胞系,Huh-7、Huh-1、HCCC9810和SK-HEP-1为阴性细胞系作为对照。

[0376] 第二组为TCR7( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:57, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)、TCR11( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:61, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)和TCR13( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:63, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)。对照组效应细胞标号为WT-TCR(转染野生型TCR)和A6(转染非本发明其他TCR)。靶细胞系为HCCC9810-AFP、PLCPRF5-A2、SNU398和HCCC9810,其中,靶细胞系HCCC9810-AFP和PLCPRF5-A2表达相关抗原并且基因型也符合为阳性细胞系;SNU398和HCCC9810为阴性细胞系,作为对照。

[0377] 首先准备ELISPOT平板。ELISPOT平板乙醇活化包被,4℃过夜。实验第1天,去掉包被液,洗涤封闭,室温下孵育两个小时,去除封闭液,按以下顺序将试验的各个组分加入ELISPOT平板:培养基调整效应细胞至 $1 \times 10^4$ 个细胞/毫升,培养基调整各靶细胞系至 $2 \times 10^5$ 个细胞/毫升。混合均匀后取100 $\mu$ L靶细胞(即20,000个细胞/孔)、100 $\mu$ L效应细胞(即1000个细胞/孔)加入对应孔中,并设置二个复孔。温育过夜(37℃,5%CO<sub>2</sub>)。实验第2天,洗涤平板并进行二级检测和显色,干燥平板,再利用免疫斑点平板读数计(ELISPOT READER system;AID20公司)计数膜上形成的斑点。

[0378] 第一组和第二组的实验结果分别如图13a和13b所示,转染本发明高亲和力TCR的效应细胞对阴性靶细胞基本没有激活作用,对阳性靶细胞有很好的特异性激活作用,其效果远远好于转染野生型TCR的效应细胞。

[0379] 实施例11转染本发明高亲和力TCR的效应细胞的杀伤功能实验

[0380] 本实施例通过非放射性细胞毒性实验,测定LDH的释放,从而验证转导本发明TCR的细胞的杀伤功能。该试验是<sup>51</sup>Cr释放细胞毒性试验的比色替代试验,定量测定细胞裂解后释放的乳酸脱氢酶(LDH)。采用30分钟偶联的酶反应来检测释放在培养基中的LDH,在酶反应中LDH可使一种四唑盐(INT)转化为红色的甲臞(formazan)。生成的红色产物的量与裂解的细胞数成正比。可以用标准的96孔读板计收集490nm可见光吸光值数据。

[0381] 本领域技术人员熟知利用LDH的释放实验检测细胞功能的方法。本实施例LDH实验用从健康志愿者的血液中分离到的PBL细胞经慢病毒转染TCR作为效应细胞。靶细胞系为HepG2、HCCC9810和SNU-398,其中HepG2为阳性靶细胞系;HCCC9810和SNU-398为阴性靶细胞系,作为对照。

[0382] 随机选择本发明TCR,分两组进行实验,所述TCR以及其编号从表4获悉:第一组为TCR3( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:51, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)、TCR2( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:52, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)和TCR1( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:54, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2);第二组为TCR7( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:57, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)和TCR13( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:63, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:2)。对照组效应细胞标号为WT-TCR(转染野生型TCR)和A6(转染非本发明其他TCR)。

[0383] 首先准备LDH平板。实验第1天,按以下顺序将试验的各个组分加入平板:培养基调整效应细胞至 $3 \times 10^5$ 个细胞/毫升,培养基调整各靶细胞系至 $3 \times 10^5$ 个细胞/毫升。混合均匀后取100 $\mu$ L靶细胞(即30,000个细胞/孔)、100 $\mu$ L效应细胞(即30,000个细胞/孔)加入对应孔中,并设置三个复孔。同时设置效应细胞自发孔,靶细胞自发孔,靶细胞最大孔,体积校正对照孔及培养基背景对照孔,均为200 $\mu$ L。温育过夜(37℃,5%CO<sub>2</sub>)。实验第2天,检测显色,终止反应后用酶标仪(Biotek)在490nm记录吸光值。

[0384] 第一、二组的实验结果分别如图14a、14b所示,转导本发明TCR的细胞对表达相关

抗原的靶细胞具有很强的杀伤作用,而对不表达相关抗原的靶细胞基本没有杀伤作用;转导其他TCR的细胞对表达相关抗原的靶细胞无杀伤作用。

[0385] 实施例12本发明高亲和力TCR与抗-CD3抗体的融合蛋白的功能验证-激活实验

[0386] 本实施例验证了本发明高亲和力TCR与抗-CD3抗体的融合蛋白能够重定向效应细胞,并使其具有很好的激活作用。

[0387] 本领域技术人员熟知利用ELISPOT实验检测细胞功能的方法。本实施例IFN- $\gamma$  ELISPOT实验中所用的效应细胞为从健康志愿者的血液中分离到的CD8+T细胞,

[0388] 靶细胞系为HEPG2、HCCC9810和SNU-398,其中HEPG2为阳性靶细胞系,HCCC9810和SNU-398为阴性靶细胞系。随机选择本发明的高亲和力TCR,按实施例9中所述制备融合蛋白,具体地,所选的高亲和力TCR及其编号从表4获悉,分别为TCR21( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:69, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:79)、TCR24( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:71, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:83)、TCR25( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:72, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:84)、TCR17( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:66, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:81)、TCR23( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:71, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:79)、TCR33( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:76, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:79)和TCR34( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:72, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:81)。

[0389] 首先准备ELISPOT平板。ELISPOT平板乙醇活化包被,4 $^{\circ}$ C过夜。实验第1天,去掉包被液,洗涤封闭,室温下孵育两个小时,去除封闭液,将试验的各个组分加入ELISPOT平板。靶细胞为20000个细胞/孔,效应细胞为4000个细胞/孔,融合蛋白浓度为0.04 $\mu$ M,逐一10倍梯度稀释,共6个浓度梯度。设置二个复孔。温育过夜(37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>)。实验第2天,洗涤平板并进行二级检测和显色,干燥平板,再利用免疫斑点平板读数计(ELISPOT READER system; AID20公司)计数膜上形成的斑点。

[0390] 实验结果如图15a、15b、15c、15d、15e、15f和15g所示,结果表明,本发明高亲和力TCR与抗-CD3抗体的融合蛋白能够重定向效应细胞,针对阳性靶细胞,效应细胞展示出很强的激活作用,而对阴性靶细胞,效应细胞基本没有激活,展示出很好的特异性。

[0391] 实施例13本发明高亲和力TCR与抗-CD3抗体的融合蛋白的功能验证-杀伤实验

[0392] 本实施例采用非放射性细胞毒性试验来验证杀伤作用。该试验是<sup>51</sup>Cr释放细胞毒性试验的比色替代试验,定量测定细胞裂解后释放的乳酸脱氢酶(LDH)。采用30-分钟偶联的酶试验检测培养上清液中释放的LDH,其将四唑盐(INT)转化成红色甲臞产物。形成的颜色量与裂解细胞的数量成比例。利用标准96孔平板读数计收集490nm的吸光度数据。

[0393] 本实验所用的靶细胞系为HEPG2、HCCC9810和SNU-398,其中HEPG2为阳性靶细胞系,HCCC9810和SNU-398为阴性靶细胞系。效应细胞为CD8阳性T细胞。随机选择本发明的高亲和力TCR,所述TCR及其编号从表4可知为TCR23( $\alpha$ 链可变域SEQ ID NO:71, $\beta$ 链可变域SEQ ID NO:79)按实施例9中所述制备融合蛋白,并通过实验培养基稀释至不同的浓度(10<sup>-13</sup>-10<sup>-8</sup>M)。采用以下顺序将实验的诸组分加入平板:50 $\mu$ l靶细胞,5x10<sup>4</sup>个细胞/孔;100 $\mu$ l效应细胞,5x10<sup>4</sup>个细胞/孔;50 $\mu$ l融合蛋白加入各孔。

[0394] 如下所述制备几个对照:靶细胞自发释放:仅有200 $\mu$ l靶细胞;靶细胞最大释放:仅有200 $\mu$ l靶细胞。培养基对照组:仅有200 $\mu$ l培养基;体积校正对照组:200 $\mu$ l培养基和20 $\mu$ l细胞裂解液。所有孔一式三份制备,终体积为200 $\mu$ l。以250x g离心平板4分钟,然后在37 $^{\circ}$ C温育20小时。将20 $\mu$ l裂解溶液加入靶细胞最大释放对照孔和体积校正对照孔,45分钟后收集

上清液。以250x g离心平板4分钟。将试验平板各孔的50 $\mu$ l清液转移至平底96孔Nunc Vlnxisorb板的相应孔。利用试验缓冲液(12ml)重建底物混合物。然后将50 $\mu$ l重建的底物混合物加入平板的各孔。平板盖上铝箔,室温下温育30分钟。将50 $\mu$ l终止溶液加入平板的各孔以终止反应。加入终止溶液后1小时内用Elisa平板读数计记录490nm的吸光度。

[0395] 实验结果如图16所示,本发明高亲和力TCR与抗-CD3抗体的融合蛋白能够重定向效应细胞,并杀伤阳性靶细胞,对阴性靶细胞没有杀伤作用,展示出良好的特异性。

[0396] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。



[0039]	35	40	45
[0040]	Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg		
[0041]	50	55	60
[0042]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln		
[0043]	65	70	75
[0044]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly		
[0045]	85	90	95
[0046]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr		
[0047]	100	105	110
[0048]	<210> 3		
[0049]	<211> 113		
[0050]	<212> PRT		
[0051]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0052]	<400> 3		
[0053]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[0054]	1	5	10
[0055]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu		
[0056]	20	25	30
[0057]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[0058]	35	40	45
[0059]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr		
[0060]	50	55	60
[0061]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[0062]	65	70	75
[0063]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Gly		
[0064]	85	90	95
[0065]	Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[0066]	100	105	110
[0067]	Pro		
[0068]	<210> 4		
[0069]	<211> 112		
[0070]	<212> PRT		
[0071]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0072]	<400> 4		
[0073]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly		
[0074]	1	5	10
[0075]	Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu		
[0076]	20	25	30
[0077]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr		

[0078]	35	40	45	
[0079]	Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg			
[0080]	50	55	60	
[0081]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln			
[0082]	65	70	75	80
[0083]	Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly			
[0084]	85	90	95	
[0085]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr			
[0086]	100	105	110	
[0087]	<210>	5		
[0088]	<211>	339		
[0089]	<212>	DNA		
[0090]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
[0091]	<400>	5		
[0092]	tctcaacaag gtgaagaaga tccgcaggca ctgagcattc aggaaggcga aaatgtgacc	60		
[0093]	attaattgta gctataagac cagtattaac aacctgcagt ggtatcgcca gaatagcggc	120		
[0094]	cgcggtctgg ttcattctgat tctgattcgt agcaatgaac gtgaaaaaca tagcggccgt	180		
[0095]	ctgcgtgtga ccctggatac cagtaaaaaa tctagcagcc tggaaattac cgatgtgcgc	240		
[0096]	ccgagcgata ccgcaagtta tttttgtgca accgatccgc gcaccggcgc aaatagcaaa	300		
[0097]	ctgacctttg gtaaaggcat taccctgagt gttcgtccg	339		
[0098]	<210>	6		
[0099]	<211>	336		
[0100]	<212>	DNA		
[0101]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
[0102]	<400>	6		
[0103]	gataccggtg ttagtcagga tccgcgccat ctgagcgtta aacgtggcca gaatgttacc	60		
[0104]	ctgcgctgtg atccgattag tgaacataat cgtctgtatt ggtatcgcca gaccccggt	120		
[0105]	cagggtccgg aatttctgac ctattttcag aatgaagcac agctggaaaa aagccgtctg	180		
[0106]	ctgagtgatc gtttttagcgc cgaacgtccg aaaggcagtt ttagtaccct ggaaattcag	240		
[0107]	cgcgtggaac cgggtgacag cgcaatgtat ctgtgcgcca gcgaaggtct ggcctatgaa	300		
[0108]	cagtattttg gcccgggtac ccgcctgacc gttacc	336		
[0109]	<210>	7		
[0110]	<211>	20		
[0111]	<212>	PRT		
[0112]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
[0113]	<400>	7		
[0114]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly			
[0115]	1	5	10	15
[0116]	Gly Gly Gly Ser			

[0117] 20  
 [0118] <210> 8  
 [0119] <211> 60  
 [0120] <212> DNA  
 [0121] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0122] <400> 8  
 [0123] ggcggtggtg gcagcggcgg tgggtggttca ggcggtggtg gaagcgggtg tggcggtagt 60  
 [0124] <210> 9  
 [0125] <211> 113  
 [0126] <212> PRT  
 [0127] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0128] <400> 9  
 [0129] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0130] 1 5 10 15  
 [0131] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu  
 [0132] 20 25 30  
 [0133] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0134] 35 40 45  
 [0135] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0136] 50 55 60  
 [0137] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0138] 65 70 75 80  
 [0139] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Ala  
 [0140] 85 90 95  
 [0141] Ser Ser Ala Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0142] 100 105 110  
 [0143] Pro  
 [0144] <210> 10  
 [0145] <211> 113  
 [0146] <212> PRT  
 [0147] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0148] <400> 10  
 [0149] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0150] 1 5 10 15  
 [0151] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu  
 [0152] 20 25 30  
 [0153] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0154] 35 40 45  
 [0155] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr

[0156]	50	55	60
[0157]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[0158]	65	70	75 80
[0159]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Gly		
[0160]	85	90	95
[0161]	Ser Ser Asn Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[0162]	100	105	110
[0163]	Pro		
[0164]	<210> 11		
[0165]	<211> 113		
[0166]	<212> PRT		
[0167]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0168]	<400> 11		
[0169]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[0170]	1 5 10 15		
[0171]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu		
[0172]	20 25 30		
[0173]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[0174]	35 40 45		
[0175]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr		
[0176]	50 55 60		
[0177]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[0178]	65 70 75 80		
[0179]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ala Met Gln		
[0180]	85 90 95		
[0181]	Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[0182]	100 105 110		
[0183]	Pro		
[0184]	<210> 12		
[0185]	<211> 113		
[0186]	<212> PRT		
[0187]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0188]	<400> 12		
[0189]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[0190]	1 5 10 15		
[0191]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu		
[0192]	20 25 30		
[0193]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[0194]	35 40 45		

[0195] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0196] 50 55 60  
 [0197] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0198] 65 70 75 80  
 [0199] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Arg Gln  
 [0200] 85 90 95  
 [0201] Ser Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0202] 100 105 110  
 [0203] Pro  
 [0204] <210> 13  
 [0205] <211> 113  
 [0206] <212> PRT  
 [0207] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0208] <400> 13  
 [0209] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0210] 1 5 10 15  
 [0211] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu  
 [0212] 20 25 30  
 [0213] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0214] 35 40 45  
 [0215] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0216] 50 55 60  
 [0217] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0218] 65 70 75 80  
 [0219] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Val Leu Ser  
 [0220] 85 90 95  
 [0221] Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0222] 100 105 110  
 [0223] Pro  
 [0224] <210> 14  
 [0225] <211> 113  
 [0226] <212> PRT  
 [0227] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0228] <400> 14  
 [0229] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0230] 1 5 10 15  
 [0231] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu  
 [0232] 20 25 30  
 [0233] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu

[0234]	35	40	45
[0235]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr		
[0236]	50	55	60
[0237]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[0238]	65	70	75
[0239]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Ser		
[0240]	85	90	95
[0241]	Gly Ser Thr Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[0242]	100	105	110
[0243]	Pro		
[0244]	<210> 15		
[0245]	<211> 113		
[0246]	<212> PRT		
[0247]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
[0248]	<400> 15		
[0249]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[0250]	1	5	10
[0251]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu		
[0252]	20	25	30
[0253]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[0254]	35	40	45
[0255]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr		
[0256]	50	55	60
[0257]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[0258]	65	70	75
[0259]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Asp Arg Ser		
[0260]	85	90	95
[0261]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[0262]	100	105	110
[0263]	Pro		
[0264]	<210> 16		
[0265]	<211> 113		
[0266]	<212> PRT		
[0267]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
[0268]	<400> 16		
[0269]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[0270]	1	5	10
[0271]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu		
[0272]	20	25	30

[0273] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0274] 35 40 45  
 [0275] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0276] 50 55 60  
 [0277] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0278] 65 70 75 80  
 [0279] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Ala  
 [0280] 85 90 95  
 [0281] Ser Thr Pro Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0282] 100 105 110  
 [0283] Pro  
 [0284] <210> 17  
 [0285] <211> 113  
 [0286] <212> PRT  
 [0287] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0288] <400> 17  
 [0289] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0290] 1 5 10 15  
 [0291] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu  
 [0292] 20 25 30  
 [0293] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0294] 35 40 45  
 [0295] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0296] 50 55 60  
 [0297] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0298] 65 70 75 80  
 [0299] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Glu Ala Gln  
 [0300] 85 90 95  
 [0301] Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0302] 100 105 110  
 [0303] Pro  
 [0304] <210> 18  
 [0305] <211> 113  
 [0306] <212> PRT  
 [0307] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0308] <400> 18  
 [0309] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0310] 1 5 10 15  
 [0311] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu

[0312]		20		25		30													
[0313]	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His	Leu	Ile	Leu			
[0314]		35		40		45													
[0315]	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Val	Thr			
[0316]		50		55		60													
[0317]	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Glu	Ile	Thr	Asp	Val	Arg			
[0318]	65			70		75													
[0319]	Pro	Ser	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Pro	Arg	Thr	Glu			
[0320]				85		90													
[0321]	Ser	Thr	Thr	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys	Gly	Ile	Thr	Leu	Ser	Val	Arg			
[0322]				100		105													
[0323]	Pro																		
[0324]	<210>	19																	
[0325]	<211>	113																	
[0326]	<212>	PRT																	
[0327]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																	
[0328]	<400>	19																	
[0329]	Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Ile	Gln	Glu	Gly			
[0330]	1			5		10													
[0331]	Glu	Asn	Val	Thr	Ile	Asn	Cys	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ser	Ile	Asn	Asn	Leu			
[0332]				20		25													
[0333]	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His	Leu	Ile	Leu			
[0334]		35		40		45													
[0335]	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Val	Thr			
[0336]		50		55		60													
[0337]	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Glu	Ile	Thr	Asp	Val	Arg			
[0338]	65			70		75													
[0339]	Pro	Ser	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Pro	Ser	Leu	Gln			
[0340]				85		90													
[0341]	Ser	Asn	Ser	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys	Gly	Ile	Thr	Leu	Ser	Val	Arg			
[0342]				100		105													
[0343]	Pro																		
[0344]	<210>	20																	
[0345]	<211>	113																	
[0346]	<212>	PRT																	
[0347]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																	
[0348]	<400>	20																	
[0349]	Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Ile	Gln	Glu	Gly			
[0350]	1			5		10													

[0351]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu
[0352]	20 25 30
[0353]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[0354]	35 40 45
[0355]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[0356]	50 55 60
[0357]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[0358]	65 70 75 80
[0359]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Gln Asn Ser
[0360]	85 90 95
[0361]	Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[0362]	100 105 110
[0363]	Pro
[0364]	<210> 21
[0365]	<211> 113
[0366]	<212> PRT
[0367]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0368]	<400> 21
[0369]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[0370]	1 5 10 15
[0371]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu
[0372]	20 25 30
[0373]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[0374]	35 40 45
[0375]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[0376]	50 55 60
[0377]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[0378]	65 70 75 80
[0379]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ala Ser Asn
[0380]	85 90 95
[0381]	Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[0382]	100 105 110
[0383]	Pro
[0384]	<210> 22
[0385]	<211> 113
[0386]	<212> PRT
[0387]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0388]	<400> 22
[0389]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly

[0390]	1	5	10	15
[0391]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Asp Val Ser Ser Leu			
[0392]	20	25	30	
[0393]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu			
[0394]	35	40	45	
[0395]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr			
[0396]	50	55	60	
[0397]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg			
[0398]	65	70	75	80
[0399]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ala Ala Gln			
[0400]	85	90	95	
[0401]	Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg			
[0402]	100	105	110	
[0403]	Pro			
[0404]	<210> 23			
[0405]	<211> 113			
[0406]	<212> PRT			
[0407]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0408]	<400> 23			
[0409]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly			
[0410]	1	5	10	15
[0411]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Pro Ile Ser Ser Leu			
[0412]	20	25	30	
[0413]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu			
[0414]	35	40	45	
[0415]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr			
[0416]	50	55	60	
[0417]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg			
[0418]	65	70	75	80
[0419]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ala Ala Gln			
[0420]	85	90	95	
[0421]	Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg			
[0422]	100	105	110	
[0423]	Pro			
[0424]	<210> 24			
[0425]	<211> 113			
[0426]	<212> PRT			
[0427]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0428]	<400> 24			



[0468] <400> 26  
 [0469] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0470] 1 5 10 15  
 [0471] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ala Val Asp Ser Leu  
 [0472] 20 25 30  
 [0473] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0474] 35 40 45  
 [0475] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0476] 50 55 60  
 [0477] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0478] 65 70 75 80  
 [0479] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Leu Ser  
 [0480] 85 90 95  
 [0481] Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0482] 100 105 110  
 [0483] Pro  
 [0484] <210> 27  
 [0485] <211> 113  
 [0486] <212> PRT  
 [0487] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0488] <400> 27  
 [0489] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0490] 1 5 10 15  
 [0491] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Glu Ile Ser Ser Leu  
 [0492] 20 25 30  
 [0493] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0494] 35 40 45  
 [0495] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0496] 50 55 60  
 [0497] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0498] 65 70 75 80  
 [0499] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Leu Ser  
 [0500] 85 90 95  
 [0501] Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0502] 100 105 110  
 [0503] Pro  
 [0504] <210> 28  
 [0505] <211> 113  
 [0506] <212> PRT

[0507]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0508]	<400>	28
[0509]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly	
[0510]	1	5 10 15
[0511]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ala Val Asp Ser Leu	
[0512]		20 25 30
[0513]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu	
[0514]		35 40 45
[0515]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr	
[0516]		50 55 60
[0517]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg	
[0518]		65 70 75 80
[0519]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Met Ser	
[0520]		85 90 95
[0521]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg	
[0522]		100 105 110
[0523]	Pro	
[0524]	<210>	29
[0525]	<211>	113
[0526]	<212>	PRT
[0527]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0528]	<400>	29
[0529]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly	
[0530]	1	5 10 15
[0531]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Glu Ile Ser Ser Leu	
[0532]		20 25 30
[0533]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu	
[0534]		35 40 45
[0535]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr	
[0536]		50 55 60
[0537]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg	
[0538]		65 70 75 80
[0539]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Met Ser	
[0540]		85 90 95
[0541]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg	
[0542]		100 105 110
[0543]	Pro	
[0544]	<210>	30
[0545]	<211>	113

[0546] <212> PRT  
 [0547] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0548] <400> 30  
 [0549] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0550] 1 5 10 15  
 [0551] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Asp Val Ser Ser Leu  
 [0552] 20 25 30  
 [0553] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0554] 35 40 45  
 [0555] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0556] 50 55 60  
 [0557] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0558] 65 70 75 80  
 [0559] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Met Ser  
 [0560] 85 90 95  
 [0561] Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0562] 100 105 110  
 [0563] Pro  
 [0564] <210> 31  
 [0565] <211> 113  
 [0566] <212> PRT  
 [0567] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0568] <400> 31  
 [0569] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0570] 1 5 10 15  
 [0571] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Asp Val Ser Ser Leu  
 [0572] 20 25 30  
 [0573] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0574] 35 40 45  
 [0575] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0576] 50 55 60  
 [0577] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0578] 65 70 75 80  
 [0579] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Thr Met Ser  
 [0580] 85 90 95  
 [0581] Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0582] 100 105 110  
 [0583] Pro  
 [0584] <210> 32

[0585]	<211>	113
[0586]	<212>	PRT
[0587]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0588]	<400>	32
[0589]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly	
[0590]	1	5 10 15
[0591]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ala Val Asp Ser Leu	
[0592]		20 25 30
[0593]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu	
[0594]		35 40 45
[0595]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr	
[0596]		50 55 60
[0597]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg	
[0598]		65 70 75 80
[0599]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Thr Met Ser	
[0600]		85 90 95
[0601]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg	
[0602]		100 105 110
[0603]	Pro	
[0604]	<210>	33
[0605]	<211>	113
[0606]	<212>	PRT
[0607]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0608]	<400>	33
[0609]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly	
[0610]	1	5 10 15
[0611]	Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Glu Ile Ser Ser Leu	
[0612]		20 25 30
[0613]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu	
[0614]		35 40 45
[0615]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr	
[0616]		50 55 60
[0617]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg	
[0618]		65 70 75 80
[0619]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ala Thr Ser	
[0620]		85 90 95
[0621]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg	
[0622]		100 105 110
[0623]	Pro	

[0624] <210> 34  
 [0625] <211> 113  
 [0626] <212> PRT  
 [0627] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0628] <400> 34  
 [0629] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0630] 1 5 10 15  
 [0631] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Pro Ile Ser Ser Leu  
 [0632] 20 25 30  
 [0633] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0634] 35 40 45  
 [0635] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0636] 50 55 60  
 [0637] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0638] 65 70 75 80  
 [0639] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Met Ser  
 [0640] 85 90 95  
 [0641] Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0642] 100 105 110  
 [0643] Pro  
 [0644] <210> 35  
 [0645] <211> 113  
 [0646] <212> PRT  
 [0647] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0648] <400> 35  
 [0649] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0650] 1 5 10 15  
 [0651] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ala Val Asp Ser Leu  
 [0652] 20 25 30  
 [0653] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0654] 35 40 45  
 [0655] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0656] 50 55 60  
 [0657] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0658] 65 70 75 80  
 [0659] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Thr Ser Ser  
 [0660] 85 90 95  
 [0661] Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0662] 100 105 110

[0663] Pro  
 [0664] <210> 36  
 [0665] <211> 112  
 [0666] <212> PRT  
 [0667] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0668] <400> 36  
 [0669] Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly  
 [0670] 1 5 10 15  
 [0671] Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu  
 [0672] 20 25 30  
 [0673] Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr  
 [0674] 35 40 45  
 [0675] Phe Gln Gly Asp Met Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg  
 [0676] 50 55 60  
 [0677] Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln  
 [0678] 65 70 75 80  
 [0679] Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly  
 [0680] 85 90 95  
 [0681] Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr  
 [0682] 100 105 110  
 [0683] <210> 37  
 [0684] <211> 112  
 [0685] <212> PRT  
 [0686] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0687] <400> 37  
 [0688] Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly  
 [0689] 1 5 10 15  
 [0690] Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ala Gly His Ala Arg Leu  
 [0691] 20 25 30  
 [0692] Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr  
 [0693] 35 40 45  
 [0694] Phe Gln Gly Asp Met Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg  
 [0695] 50 55 60  
 [0696] Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln  
 [0697] 65 70 75 80  
 [0698] Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly  
 [0699] 85 90 95  
 [0700] Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr  
 [0701] 100 105 110

[0702]	<210>	38
[0703]	<211>	112
[0704]	<212>	PRT
[0705]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0706]	<400>	38
[0707]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly	
[0708]	1	5 10 15
[0709]	Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Gln Gly His Ala Arg Leu	
[0710]		20 25 30
[0711]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr	
[0712]		35 40 45
[0713]	Phe Gln Gly Asp Met Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg	
[0714]		50 55 60
[0715]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln	
[0716]		65 70 75 80
[0717]	Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly	
[0718]		85 90 95
[0719]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr	
[0720]		100 105 110
[0721]	<210>	39
[0722]	<211>	112
[0723]	<212>	PRT
[0724]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0725]	<400>	39
[0726]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly	
[0727]	1	5 10 15
[0728]	Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Gly Thr Trp Pro Arg Leu	
[0729]		20 25 30
[0730]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr	
[0731]		35 40 45
[0732]	Phe Gln Gly Asp Met Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg	
[0733]		50 55 60
[0734]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln	
[0735]		65 70 75 80
[0736]	Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly	
[0737]		85 90 95
[0738]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr	
[0739]		100 105 110
[0740]	<210>	40

[0741]	<211>	112
[0742]	<212>	PRT
[0743]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0744]	<400>	40
[0745]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly	
[0746]	1	5 10 15
[0747]	Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ala Gly His Ala Arg Leu	
[0748]		20 25 30
[0749]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr	
[0750]		35 40 45
[0751]	Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg	
[0752]		50 55 60
[0753]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln	
[0754]	65	70 75 80
[0755]	Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly	
[0756]		85 90 95
[0757]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr	
[0758]		100 105 110
[0759]	<210>	41
[0760]	<211>	112
[0761]	<212>	PRT
[0762]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0763]	<400>	41
[0764]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly	
[0765]	1	5 10 15
[0766]	Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Gly Thr Trp Pro Arg Leu	
[0767]		20 25 30
[0768]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr	
[0769]		35 40 45
[0770]	Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg	
[0771]		50 55 60
[0772]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln	
[0773]	65	70 75 80
[0774]	Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly	
[0775]		85 90 95
[0776]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr	
[0777]		100 105 110
[0778]	<210>	42
[0779]	<211>	112

[0780] <212> PRT  
 [0781] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0782] <400> 42  
 [0783] Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly  
 [0784] 1 5 10 15  
 [0785] Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Gly Arg Trp Pro Arg Leu  
 [0786] 20 25 30  
 [0787] Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr  
 [0788] 35 40 45  
 [0789] Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg  
 [0790] 50 55 60  
 [0791] Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln  
 [0792] 65 70 75 80  
 [0793] Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly  
 [0794] 85 90 95  
 [0795] Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr  
 [0796] 100 105 110  
 [0797] <210> 43  
 [0798] <211> 112  
 [0799] <212> PRT  
 [0800] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0801] <400> 43  
 [0802] Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly  
 [0803] 1 5 10 15  
 [0804] Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Gln Gly His Ala Arg Leu  
 [0805] 20 25 30  
 [0806] Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr  
 [0807] 35 40 45  
 [0808] Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg  
 [0809] 50 55 60  
 [0810] Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln  
 [0811] 65 70 75 80  
 [0812] Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly  
 [0813] 85 90 95  
 [0814] Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr  
 [0815] 100 105 110  
 [0816] <210> 44  
 [0817] <211> 112  
 [0818] <212> PRT

[0819]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)
[0820]	<400>	44
[0821]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly	
[0822]	1	5 10 15
[0823]	Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ala Arg His Ala Arg Leu	
[0824]		20 25 30
[0825]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr	
[0826]		35 40 45
[0827]	Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg	
[0828]		50 55 60
[0829]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln	
[0830]	65	70 75 80
[0831]	Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly	
[0832]		85 90 95
[0833]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr	
[0834]		100 105 110
[0835]	<210>	45
[0836]	<211>	112
[0837]	<212>	PRT
[0838]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)
[0839]	<400>	45
[0840]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly	
[0841]	1	5 10 15
[0842]	Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Gly Leu Trp Pro Arg Leu	
[0843]		20 25 30
[0844]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr	
[0845]		35 40 45
[0846]	Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg	
[0847]		50 55 60
[0848]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln	
[0849]	65	70 75 80
[0850]	Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly	
[0851]		85 90 95
[0852]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr	
[0853]		100 105 110
[0854]	<210>	46
[0855]	<211>	112
[0856]	<212>	PRT
[0857]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)

[0858] <400> 46  
 [0859] Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu Ser Val Lys Arg Gly  
 [0860] 1 5 10 15  
 [0861] Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Gln Gly Arg Ala Arg Leu  
 [0862] 20 25 30  
 [0863] Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr  
 [0864] 35 40 45  
 [0865] Phe Gln Gly Asp Met Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg  
 [0866] 50 55 60  
 [0867] Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln  
 [0868] 65 70 75 80  
 [0869] Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly  
 [0870] 85 90 95  
 [0871] Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr  
 [0872] 100 105 110  
 [0873] <210> 47  
 [0874] <211> 245  
 [0875] <212> PRT  
 [0876] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0877] <400> 47  
 [0878] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [0879] 1 5 10 15  
 [0880] Glu Asn Val Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu  
 [0881] 20 25 30  
 [0882] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [0883] 35 40 45  
 [0884] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [0885] 50 55 60  
 [0886] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [0887] 65 70 75 80  
 [0888] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Gly  
 [0889] 85 90 95  
 [0890] Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [0891] 100 105 110  
 [0892] Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 [0893] 115 120 125  
 [0894] Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Leu  
 [0895] 130 135 140  
 [0896] Ser Val Lys Arg Gly Gln Asn Val Thr Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser

[0897]	145	150	155	160
[0898]	Glu His Asn Arg Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Gln Gly Pro			
[0899]		165	170	175
[0900]	Glu Phe Leu Thr Tyr Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg			
[0901]		180	185	190
[0902]	Leu Leu Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser			
[0903]		195	200	205
[0904]	Thr Leu Glu Ile Gln Arg Val Glu Pro Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu			
[0905]		210	215	220
[0906]	Cys Ala Ser Glu Gly Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr			
[0907]	225	230	235	240
[0908]	Arg Leu Thr Val Thr			
[0909]		245		
[0910]	<210>	48		
[0911]	<211>	735		
[0912]	<212>	DNA		
[0913]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
[0914]	<400>	48		
[0915]	tctcaacaag gtgaagaaga tccgcaggca ctgagcattc aggaaggcga aaatgtgacc	60		
[0916]	attaattgta gctataagac cagtattaac aacctgcagt ggtatcgcca gaatagcggc	120		
[0917]	cgcggtctgg ttcattctgat tctgattcgt agcaatgaac gtgaaaaaca tagcggccgt	180		
[0918]	ctgcgtgtga ccctggatac cagtaaaaaa tctagcagcc tggaaattac cgatgtgcgc	240		
[0919]	ccgagcgata ccgcaagtta tttttgtgca accgatccgc gcaccggcgc aaatagcaaa	300		
[0920]	ctgacctttg gtaaaggcat taccctgagt gttcgtccgg gcggtggtgg cagcggcggc	360		
[0921]	ggtggttcag gcggtggtgg aagcgggtgt ggcggtagt ataccggtgt tagtcaggat	420		
[0922]	ccgcgccatc tgagcgtaa acgtggccag aatgttacc tgcgctgtga tccgattagt	480		
[0923]	gaacataatc gtctgtattg gtatcgtcag acccgggtc aggggtccgga atttctgacc	540		
[0924]	tattttcaga atgaagcaca gctggaaaaa agccgtctgc tgagtgatcg ttttagcgcc	600		
[0925]	gaacgtccga aaggcagttt tagtaccctg gaaattcagc gcgtggaacc ggggtgacagc	660		
[0926]	gcaatgtatc tgtgcgccag cgaaggtctg gcctatgaac agtatcttgg cccgggtacc	720		
[0927]	cgcctgaccg ttacc			735
[0928]	<210>	49		
[0929]	<211>	208		
[0930]	<212>	PRT		
[0931]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
[0932]	<400>	49		
[0933]	Met Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu			
[0934]	1	5	10	15
[0935]	Gly Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn			

[0936]		20		25		30										
[0937]	Leu	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His	Leu	Ile
[0938]		35		40		45										
[0939]	Leu	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Val
[0940]		50		55		60										
[0941]	Thr	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	Ile	Thr	Ala	Ser
[0942]	65			70		75										80
[0943]	Arg	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Pro	Arg	Thr
[0944]				85		90										95
[0945]	Gly	Ala	Asn	Ser	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys	Gly	Ile	Thr	Leu	Ser	Val
[0946]				100		105										110
[0947]	Arg	Pro	Asp	Ile	Gln	Asn	Pro	Asp	Pro	Ala	Val	Tyr	Gln	Leu	Arg	Asp
[0948]				115		120										125
[0949]	Ser	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Ser	Val	Cys	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Asp	Ser
[0950]		130				135										140
[0951]	Gln	Thr	Asn	Val	Ser	Gln	Ser	Lys	Asp	Ser	Asp	Val	Tyr	Ile	Thr	Asp
[0952]	145					150										160
[0953]	Lys	Cys	Val	Leu	Asp	Met	Arg	Ser	Met	Asp	Phe	Lys	Ser	Asn	Ser	Ala
[0954]						165										175
[0955]	Val	Ala	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Asp	Phe	Ala	Cys	Ala	Asn	Ala	Phe	Asn
[0956]						180										190
[0957]	Asn	Ser	Ile	Ile	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe	Phe	Pro	Ser	Pro	Glu	Ser	Ser
[0958]						195										205
[0959]	<210>	50														
[0960]	<211>	243														
[0961]	<212>	PRT														
[0962]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)														
[0963]	<400>	50														
[0964]	Met	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg
[0965]	1				5					10						15
[0966]	Gly	Gln	Asn	Val	Thr	Phe	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Glu	His	Asn	Arg
[0967]					20					25						30
[0968]	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Thr
[0969]					35					40						45
[0970]	Tyr	Phe	Gln	Asn	Glu	Ala	Gln	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Asp
[0971]		50								55						60
[0972]	Arg	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Gly	Ser	Phe	Ser	Thr	Leu	Glu	Ile
[0973]	65					70										80
[0974]	Gln	Arg	Thr	Glu	Gln	Gly	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Glu





[1053]		100		105		110										
[1054]	Pro															
[1055]	<210> 54															
[1056]	<211> 113															
[1057]	<212> PRT															
[1058]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1059]	<400> 54															
[1060]	Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Ile	Gln	Glu	Gly
[1061]	1			5					10					15		
[1062]	Glu	Asn	Ala	Thr	Met	Asn	Cys	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ser	Ile	Asn	Asn	Leu
[1063]				20					25					30		
[1064]	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His	Leu	Ile	Leu
[1065]				35					40					45		
[1066]	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Val	Thr
[1067]		50						55					60			
[1068]	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Glu	Ile	Thr	Asp	Val	Arg
[1069]	65					70					75				80	
[1070]	Pro	Ser	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Pro	Ser	Arg	Gln
[1071]					85					90				95		
[1072]	Ser	Asn	Ser	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys	Gly	Ile	Thr	Leu	Ser	Val	Arg
[1073]				100					105					110		
[1074]	Pro															
[1075]	<210> 55															
[1076]	<211> 113															
[1077]	<212> PRT															
[1078]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)															
[1079]	<400> 55															
[1080]	Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Ile	Gln	Glu	Gly
[1081]	1			5					10					15		
[1082]	Glu	Asn	Ala	Thr	Met	Asn	Cys	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ser	Ile	Asn	Asn	Leu
[1083]				20					25					30		
[1084]	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His	Leu	Ile	Leu
[1085]				35					40					45		
[1086]	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Val	Thr
[1087]		50						55					60			
[1088]	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Glu	Ile	Thr	Asp	Val	Arg
[1089]	65					70					75				80	
[1090]	Pro	Ser	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Pro	Val	Leu	Ser
[1091]					85					90				95		

[1092]	Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1093]	100                    105                    110
[1094]	Pro
[1095]	<210> 56
[1096]	<211> 113
[1097]	<212> PRT
[1098]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1099]	<400> 56
[1100]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[1101]	1                                    5                                    10                                    15
[1102]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu
[1103]	20                                    25                                    30
[1104]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1105]	35                                    40                                    45
[1106]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1107]	50                                    55                                    60
[1108]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[1109]	65                                    70                                    75                                    80
[1110]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Ser
[1111]	85                                    90                                    95
[1112]	Gly Ser Thr Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1113]	100                                    105                                    110
[1114]	Pro
[1115]	<210> 57
[1116]	<211> 113
[1117]	<212> PRT
[1118]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1119]	<400> 57
[1120]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[1121]	1                                    5                                    10                                    15
[1122]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu
[1123]	20                                    25                                    30
[1124]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1125]	35                                    40                                    45
[1126]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1127]	50                                    55                                    60
[1128]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[1129]	65                                    70                                    75                                    80
[1130]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Asp Arg Ser



[1170]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Glu Ala Gln
[1171]	85 90 95
[1172]	Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1173]	100 105 110
[1174]	Pro
[1175]	<210> 60
[1176]	<211> 113
[1177]	<212> PRT
[1178]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1179]	<400> 60
[1180]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[1181]	1 5 10 15
[1182]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu
[1183]	20 25 30
[1184]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1185]	35 40 45
[1186]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1187]	50 55 60
[1188]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[1189]	65 70 75 80
[1190]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Glu
[1191]	85 90 95
[1192]	Ser Thr Thr Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1193]	100 105 110
[1194]	Pro
[1195]	<210> 61
[1196]	<211> 113
[1197]	<212> PRT
[1198]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1199]	<400> 61
[1200]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[1201]	1 5 10 15
[1202]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu
[1203]	20 25 30
[1204]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1205]	35 40 45
[1206]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1207]	50 55 60
[1208]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg

[1209]	65	70	75	80
[1210]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Leu Gln			
[1211]		85	90	95
[1212]	Ser Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg			
[1213]		100	105	110
[1214]	Pro			
[1215]	<210> 62			
[1216]	<211> 113			
[1217]	<212> PRT			
[1218]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[1219]	<400> 62			
[1220]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly			
[1221]	1	5	10	15
[1222]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu			
[1223]		20	25	30
[1224]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu			
[1225]		35	40	45
[1226]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr			
[1227]		50	55	60
[1228]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg			
[1229]	65	70	75	80
[1230]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Gln Asn Ser			
[1231]		85	90	95
[1232]	Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg			
[1233]		100	105	110
[1234]	Pro			
[1235]	<210> 63			
[1236]	<211> 113			
[1237]	<212> PRT			
[1238]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[1239]	<400> 63			
[1240]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly			
[1241]	1	5	10	15
[1242]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu			
[1243]		20	25	30
[1244]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu			
[1245]		35	40	45
[1246]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr			
[1247]		50	55	60



[1287]	50	55	60
[1288]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[1289]	65	70	75 80
[1290]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ala Ala Gln		
[1291]	85	90	95
[1292]	Trp Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[1293]	100	105	110
[1294]	Pro		
[1295]	<210> 66		
[1296]	<211> 113		
[1297]	<212> PRT		
[1298]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
[1299]	<400> 66		
[1300]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[1301]	1 5 10 15		
[1302]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Pro Ile Ser Ser Leu		
[1303]	20 25 30		
[1304]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[1305]	35 40 45		
[1306]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr		
[1307]	50 55 60		
[1308]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[1309]	65 70 75 80		
[1310]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ala Thr Ser		
[1311]	85 90 95		
[1312]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[1313]	100 105 110		
[1314]	Pro		
[1315]	<210> 67		
[1316]	<211> 113		
[1317]	<212> PRT		
[1318]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
[1319]	<400> 67		
[1320]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[1321]	1 5 10 15		
[1322]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Asp Ile Tyr Lys Leu		
[1323]	20 25 30		
[1324]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[1325]	35 40 45		

[1326] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [1327] 50 55 60  
 [1328] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [1329] 65 70 75 80  
 [1330] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Ala  
 [1331] 85 90 95  
 [1332] Ser Ser Pro Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [1333] 100 105 110  
 [1334] Pro  
 [1335] <210> 68  
 [1336] <211> 113  
 [1337] <212> PRT  
 [1338] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1339] <400> 68  
 [1340] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [1341] 1 5 10 15  
 [1342] Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ala Val Asp Ser Leu  
 [1343] 20 25 30  
 [1344] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu  
 [1345] 35 40 45  
 [1346] Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr  
 [1347] 50 55 60  
 [1348] Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg  
 [1349] 65 70 75 80  
 [1350] Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Leu Ser  
 [1351] 85 90 95  
 [1352] Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg  
 [1353] 100 105 110  
 [1354] Pro  
 [1355] <210> 69  
 [1356] <211> 113  
 [1357] <212> PRT  
 [1358] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1359] <400> 69  
 [1360] Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly  
 [1361] 1 5 10 15  
 [1362] Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Glu Ile Ser Ser Leu  
 [1363] 20 25 30  
 [1364] Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu

[1365]	35	40	45
[1366]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr		
[1367]	50	55	60
[1368]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[1369]	65	70	75
[1370]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Leu Ser		
[1371]	85	90	95
[1372]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[1373]	100	105	110
[1374]	Pro		
[1375]	<210> 70		
[1376]	<211> 113		
[1377]	<212> PRT		
[1378]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1379]	<400> 70		
[1380]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[1381]	1	5	10
[1382]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ala Val Asp Ser Leu		
[1383]	20	25	30
[1384]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[1385]	35	40	45
[1386]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr		
[1387]	50	55	60
[1388]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg		
[1389]	65	70	75
[1390]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Met Ser		
[1391]	85	90	95
[1392]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[1393]	100	105	110
[1394]	Pro		
[1395]	<210> 71		
[1396]	<211> 113		
[1397]	<212> PRT		
[1398]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1399]	<400> 71		
[1400]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[1401]	1	5	10
[1402]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Glu Ile Ser Ser Leu		
[1403]	20	25	30

[1404]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1405]	35 40 45
[1406]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1407]	50 55 60
[1408]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[1409]	65 70 75 80
[1410]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Met Ser
[1411]	85 90 95
[1412]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1413]	100 105 110
[1414]	Pro
[1415]	<210> 72
[1416]	<211> 113
[1417]	<212> PRT
[1418]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1419]	<400> 72
[1420]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[1421]	1 5 10 15
[1422]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Asp Val Ser Ser Leu
[1423]	20 25 30
[1424]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1425]	35 40 45
[1426]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1427]	50 55 60
[1428]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[1429]	65 70 75 80
[1430]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Met Ser
[1431]	85 90 95
[1432]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1433]	100 105 110
[1434]	Pro
[1435]	<210> 73
[1436]	<211> 113
[1437]	<212> PRT
[1438]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1439]	<400> 73
[1440]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[1441]	1 5 10 15
[1442]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Asp Val Ser Ser Leu

[1443]		20		25		30												
[1444]	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His	Leu	Ile	Leu		
[1445]			35					40					45					
[1446]	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Val	Thr		
[1447]		50						55					60					
[1448]	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Glu	Ile	Thr	Asp	Val	Arg		
[1449]	65					70					75					80		
[1450]	Pro	Ser	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Pro	Thr	Met	Ser		
[1451]					85					90					95			
[1452]	Pro	Asn	Ser	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys	Gly	Ile	Thr	Leu	Ser	Val	Arg		
[1453]					100					105					110			
[1454]	Pro																	
[1455]	<210>	74																
[1456]	<211>	113																
[1457]	<212>	PRT																
[1458]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																
[1459]	<400>	74																
[1460]	Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Ile	Gln	Glu	Gly		
[1461]	1			5						10					15			
[1462]	Glu	Asn	Ala	Thr	Met	Asn	Cys	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ala	Val	Asp	Ser	Leu		
[1463]				20						25				30				
[1464]	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His	Leu	Ile	Leu		
[1465]			35							40				45				
[1466]	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Val	Thr		
[1467]		50								55				60				
[1468]	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Glu	Ile	Thr	Asp	Val	Arg		
[1469]	65					70					75					80		
[1470]	Pro	Ser	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Pro	Thr	Met	Ser		
[1471]					85					90					95			
[1472]	Pro	Asn	Ser	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys	Gly	Ile	Thr	Leu	Ser	Val	Arg		
[1473]					100					105					110			
[1474]	Pro																	
[1475]	<210>	75																
[1476]	<211>	113																
[1477]	<212>	PRT																
[1478]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																
[1479]	<400>	75																
[1480]	Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Ile	Gln	Glu	Gly		
[1481]	1			5						10					15			

[1482]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Glu Ile Ser Ser Leu
[1483]	20 25 30
[1484]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1485]	35 40 45
[1486]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1487]	50 55 60
[1488]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[1489]	65 70 75 80
[1490]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ala Thr Ser
[1491]	85 90 95
[1492]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1493]	100 105 110
[1494]	Pro
[1495]	<210> 76
[1496]	<211> 113
[1497]	<212> PRT
[1498]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1499]	<400> 76
[1500]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[1501]	1 5 10 15
[1502]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Pro Ile Ser Ser Leu
[1503]	20 25 30
[1504]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1505]	35 40 45
[1506]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1507]	50 55 60
[1508]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Glu Ile Thr Asp Val Arg
[1509]	65 70 75 80
[1510]	Pro Ser Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Ser Met Ser
[1511]	85 90 95
[1512]	Pro Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1513]	100 105 110
[1514]	Pro
[1515]	<210> 77
[1516]	<211> 113
[1517]	<212> PRT
[1518]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1519]	<400> 77
[1520]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly

[1521]	1	5	10	15															
[1522]	Glu	Asn	Ala	Thr	Met	Asn	Cys	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ala	Val	Asp	Ser	Leu			
[1523]			20						25					30					
[1524]	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His	Leu	Ile	Leu			
[1525]			35						40					45					
[1526]	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu	Arg	Val	Thr			
[1527]		50						55					60						
[1528]	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Glu	Ile	Thr	Asp	Val	Arg			
[1529]	65					70					75					80			
[1530]	Pro	Ser	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Pro	Thr	Ser	Ser			
[1531]					85					90					95				
[1532]	Trp	Asn	Ser	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys	Gly	Ile	Thr	Leu	Ser	Val	Arg			
[1533]				100						105					110				
[1534]	Pro																		
[1535]	<210>	78																	
[1536]	<211>	112																	
[1537]	<212>	PRT																	
[1538]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																	
[1539]	<400>	78																	
[1540]	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg	Gly			
[1541]	1				5					10					15				
[1542]	Gln	Asn	Val	Thr	Phe	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Glu	His	Asn	Arg	Leu			
[1543]				20						25					30				
[1544]	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Thr	Tyr			
[1545]			35							40					45				
[1546]	Phe	Gln	Gly	Asp	Met	Glu	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg			
[1547]		50								55					60				
[1548]	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Gly	Ser	Phe	Ser	Thr	Leu	Glu	Ile	Gln			
[1549]	65					70								75		80			
[1550]	Arg	Thr	Glu	Gln	Gly	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Glu	Gly			
[1551]					85					90					95				
[1552]	Leu	Ala	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr			
[1553]				100						105					110				
[1554]	<210>	79																	
[1555]	<211>	112																	
[1556]	<212>	PRT																	
[1557]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																	
[1558]	<400>	79																	
[1559]	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg	Gly			

[1560]	1	5	10	15																
[1561]	Gln	Asn	Val	Thr	Phe	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ala	Gly	His	Ala	Arg	Leu				
[1562]			20					25					30							
[1563]	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Thr	Tyr				
[1564]			35					40					45							
[1565]	Phe	Gln	Gly	Asp	Met	Glu	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg				
[1566]			50					55					60							
[1567]	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Gly	Ser	Phe	Ser	Thr	Leu	Glu	Ile	Gln				
[1568]	65						70					75				80				
[1569]	Arg	Thr	Glu	Gln	Gly	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Glu	Gly				
[1570]						85				90					95					
[1571]	Leu	Ala	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr				
[1572]						100				105					110					
[1573]	<210>	80																		
[1574]	<211>	112																		
[1575]	<212>	PRT																		
[1576]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																		
[1577]	<400>	80																		
[1578]	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg	Gly				
[1579]	1	5	10	15																
[1580]	Gln	Asn	Val	Thr	Phe	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Gln	Gly	His	Ala	Arg	Leu				
[1581]			20					25					30							
[1582]	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Thr	Tyr				
[1583]			35					40					45							
[1584]	Phe	Gln	Gly	Asp	Met	Glu	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg				
[1585]			50					55					60							
[1586]	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Gly	Ser	Phe	Ser	Thr	Leu	Glu	Ile	Gln				
[1587]	65						70					75				80				
[1588]	Arg	Thr	Glu	Gln	Gly	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Glu	Gly				
[1589]						85				90					95					
[1590]	Leu	Ala	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr				
[1591]						100				105					110					
[1592]	<210>	81																		
[1593]	<211>	112																		
[1594]	<212>	PRT																		
[1595]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																		
[1596]	<400>	81																		
[1597]	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg	Gly				
[1598]	1	5	10	15																

[1599]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Gly Thr Trp Pro Arg Leu
[1600]	20 25 30
[1601]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[1602]	35 40 45
[1603]	Phe Gln Gly Asp Met Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[1604]	50 55 60
[1605]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln
[1606]	65 70 75 80
[1607]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly
[1608]	85 90 95
[1609]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
[1610]	100 105 110
[1611]	<210> 82
[1612]	<211> 112
[1613]	<212> PRT
[1614]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1615]	<400> 82
[1616]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[1617]	1 5 10 15
[1618]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ala Gly His Ala Arg Leu
[1619]	20 25 30
[1620]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[1621]	35 40 45
[1622]	Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[1623]	50 55 60
[1624]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln
[1625]	65 70 75 80
[1626]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly
[1627]	85 90 95
[1628]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
[1629]	100 105 110
[1630]	<210> 83
[1631]	<211> 112
[1632]	<212> PRT
[1633]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1634]	<400> 83
[1635]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[1636]	1 5 10 15
[1637]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Gly Thr Trp Pro Arg Leu

[1638]		20		25		30													
[1639]	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Thr	Tyr			
[1640]			35					40					45						
[1641]	Phe	Gln	Gly	Asp	Leu	Glu	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg			
[1642]			50					55					60						
[1643]	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Gly	Ser	Phe	Ser	Thr	Leu	Glu	Ile	Gln			
[1644]	65					70						75				80			
[1645]	Arg	Thr	Glu	Gln	Gly	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Glu	Gly			
[1646]				85						90					95				
[1647]	Leu	Ala	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr			
[1648]				100						105					110				
[1649]	<210>	84																	
[1650]	<211>	112																	
[1651]	<212>	PRT																	
[1652]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																	
[1653]	<400>	84																	
[1654]	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg	Gly			
[1655]	1			5						10					15				
[1656]	Gln	Asn	Val	Thr	Phe	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Gly	Arg	Trp	Pro	Arg	Leu			
[1657]				20						25					30				
[1658]	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Thr	Tyr			
[1659]				35						40				45					
[1660]	Phe	Gln	Gly	Asp	Leu	Glu	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg			
[1661]				50						55				60					
[1662]	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Gly	Ser	Phe	Ser	Thr	Leu	Glu	Ile	Gln			
[1663]	65					70						75			80				
[1664]	Arg	Thr	Glu	Gln	Gly	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Glu	Gly			
[1665]				85						90					95				
[1666]	Leu	Ala	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr			
[1667]				100						105					110				
[1668]	<210>	85																	
[1669]	<211>	112																	
[1670]	<212>	PRT																	
[1671]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																	
[1672]	<400>	85																	
[1673]	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg	Gly			
[1674]	1			5						10					15				
[1675]	Gln	Asn	Val	Thr	Phe	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Gln	Gly	His	Ala	Arg	Leu			
[1676]				20						25					30				

[1677]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[1678]	35 40 45
[1679]	Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[1680]	50 55 60
[1681]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln
[1682]	65 70 75 80
[1683]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly
[1684]	85 90 95
[1685]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
[1686]	100 105 110
[1687]	<210> 86
[1688]	<211> 112
[1689]	<212> PRT
[1690]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1691]	<400> 86
[1692]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[1693]	1 5 10 15
[1694]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ala Arg His Ala Arg Leu
[1695]	20 25 30
[1696]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[1697]	35 40 45
[1698]	Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[1699]	50 55 60
[1700]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln
[1701]	65 70 75 80
[1702]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly
[1703]	85 90 95
[1704]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
[1705]	100 105 110
[1706]	<210> 87
[1707]	<211> 112
[1708]	<212> PRT
[1709]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1710]	<400> 87
[1711]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[1712]	1 5 10 15
[1713]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Gly Leu Trp Pro Arg Leu
[1714]	20 25 30
[1715]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr

[1716]	35	40	45
[1717]	Phe Gln Gly Asp Leu Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg		
[1718]	50	55	60
[1719]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln		
[1720]	65	70	75
[1721]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly		
[1722]	85	90	95
[1723]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr		
[1724]	100	105	110
[1725]	<210> 88		
[1726]	<211> 112		
[1727]	<212> PRT		
[1728]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1729]	<400> 88		
[1730]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly		
[1731]	1	5	10
[1732]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Gln Gly Arg Ala Arg Leu		
[1733]	20	25	30
[1734]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr		
[1735]	35	40	45
[1736]	Phe Gln Gly Asp Met Glu Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg		
[1737]	50	55	60
[1738]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln		
[1739]	65	70	75
[1740]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly		
[1741]	85	90	95
[1742]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr		
[1743]	100	105	110
[1744]	<210> 89		
[1745]	<211> 254		
[1746]	<212> PRT		
[1747]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[1748]	<400> 89		
[1749]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[1750]	1	5	10
[1751]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu		
[1752]	20	25	30
[1753]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[1754]	35	40	45

[1755]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1756]	50 55 60
[1757]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr Ala Ser Arg
[1758]	65 70 75 80
[1759]	Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Gly
[1760]	85 90 95
[1761]	Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1762]	100 105 110
[1763]	Pro Asp Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser
[1764]	115 120 125
[1765]	Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
[1766]	130 135 140
[1767]	Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys
[1768]	145 150 155 160
[1769]	Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val
[1770]	165 170 175
[1771]	Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn
[1772]	180 185 190
[1773]	Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
[1774]	195 200 205
[1775]	Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
[1776]	210 215 220
[1777]	Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
[1778]	225 230 235 240
[1779]	Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
[1780]	245 250
[1781]	<210> 90
[1782]	<211> 291
[1783]	<212> PRT
[1784]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1785]	<400> 90
[1786]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[1787]	1 5 10 15
[1788]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu
[1789]	20 25 30
[1790]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[1791]	35 40 45
[1792]	Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[1793]	50 55 60



[1833]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1834]	35 40 45
[1835]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1836]	50 55 60
[1837]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr Ala Ser Arg
[1838]	65 70 75 80
[1839]	Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro His Trp Ser
[1840]	85 90 95
[1841]	Thr Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1842]	100 105 110
[1843]	Pro
[1844]	<210> 92
[1845]	<211> 113
[1846]	<212> PRT
[1847]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1848]	<400> 92
[1849]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
[1850]	1 5 10 15
[1851]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Asp Ile Ala Ser Leu
[1852]	20 25 30
[1853]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
[1854]	35 40 45
[1855]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
[1856]	50 55 60
[1857]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr Ala Ser Arg
[1858]	65 70 75 80
[1859]	Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro His Trp Ser
[1860]	85 90 95
[1861]	Thr Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg
[1862]	100 105 110
[1863]	Pro
[1864]	<210> 93
[1865]	<211> 112
[1866]	<212> PRT
[1867]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1868]	<400> 93
[1869]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[1870]	1 5 10 15
[1871]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Val Asp Asn Ala Arg Leu

[1872]		20		25		30													
[1873]	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Thr	Tyr			
[1874]			35					40					45						
[1875]	Phe	Gln	Asn	Glu	Ala	Gln	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg			
[1876]			50					55					60						
[1877]	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Gly	Ser	Phe	Ser	Thr	Leu	Glu	Ile	Gln			
[1878]	65					70						75			80				
[1879]	Arg	Thr	Glu	Gln	Gly	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Glu	Gly			
[1880]					85					90					95				
[1881]	Leu	Ala	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr			
[1882]						100				105					110				
[1883]	<210>	94																	
[1884]	<211>	112																	
[1885]	<212>	PRT																	
[1886]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																	
[1887]	<400>	94																	
[1888]	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg	Gly			
[1889]	1				5					10				15					
[1890]	Gln	Asn	Val	Thr	Phe	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Leu	Gly	His	Ala	Arg	Leu			
[1891]						20				25				30					
[1892]	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Thr	Tyr			
[1893]																			
[1894]	Phe	Gln	Asn	Glu	Ala	Gln	Leu	Glu	Lys	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg			
[1895]																			
[1896]	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Gly	Ser	Phe	Ser	Thr	Leu	Glu	Ile	Gln			
[1897]	65					70						75			80				
[1898]	Arg	Thr	Glu	Gln	Gly	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Glu	Gly			
[1899]																			
[1900]	Leu	Ala	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr			
[1901]																			
[1902]	<210>	95																	
[1903]	<211>	112																	
[1904]	<212>	PRT																	
[1905]	<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																	
[1906]	<400>	95																	
[1907]	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	His	Lys	Ile	Thr	Lys	Arg	Gly			
[1908]	1				5					10				15					
[1909]	Gln	Asn	Val	Thr	Phe	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Gly	Trp	Trp	Pro	Arg	Leu			
[1910]																			

[1911]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[1912]	35 40 45
[1913]	Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[1914]	50 55 60
[1915]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln
[1916]	65 70 75 80
[1917]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly
[1918]	85 90 95
[1919]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
[1920]	100 105 110
[1921]	<210> 96
[1922]	<211> 112
[1923]	<212> PRT
[1924]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1925]	<400> 96
[1926]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[1927]	1 5 10 15
[1928]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu
[1929]	20 25 30
[1930]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[1931]	35 40 45
[1932]	Phe Gln Gly Glu Leu Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[1933]	50 55 60
[1934]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln
[1935]	65 70 75 80
[1936]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly
[1937]	85 90 95
[1938]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
[1939]	100 105 110
[1940]	<210> 97
[1941]	<211> 112
[1942]	<212> PRT
[1943]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1944]	<400> 97
[1945]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[1946]	1 5 10 15
[1947]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu
[1948]	20 25 30
[1949]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr

[1950]	35	40	45
[1951]	Phe Gln Gly Asp Met Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg		
[1952]	50	55	60
[1953]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln		
[1954]	65	70	75
[1955]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly		
[1956]	85	90	95
[1957]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr		
[1958]	100	105	110
[1959]	<210>	98	
[1960]	<211>	112	
[1961]	<212>	PRT	
[1962]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1963]	<400>	98	
[1964]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly		
[1965]	1	5	10
[1966]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu		
[1967]	20	25	30
[1968]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr		
[1969]	35	40	45
[1970]	Phe Gln Gly Asp Leu Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg		
[1971]	50	55	60
[1972]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln		
[1973]	65	70	75
[1974]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly		
[1975]	85	90	95
[1976]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr		
[1977]	100	105	110
[1978]	<210>	99	
[1979]	<211>	112	
[1980]	<212>	PRT	
[1981]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[1982]	<400>	99	
[1983]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly		
[1984]	1	5	10
[1985]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu		
[1986]	20	25	30
[1987]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr		
[1988]	35	40	45

[1989]	Phe His Tyr Thr Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[1990]	50 55 60
[1991]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln
[1992]	65 70 75 80
[1993]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly
[1994]	85 90 95
[1995]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
[1996]	100 105 110
[1997]	<210> 100
[1998]	<211> 112
[1999]	<212> PRT
[2000]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2001]	<400> 100
[2002]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[2003]	1 5 10 15
[2004]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu
[2005]	20 25 30
[2006]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[2007]	35 40 45
[2008]	Phe Ala Trp Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg
[2009]	50 55 60
[2010]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln
[2011]	65 70 75 80
[2012]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly
[2013]	85 90 95
[2014]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
[2015]	100 105 110
[2016]	<210> 101
[2017]	<211> 112
[2018]	<212> PRT
[2019]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2020]	<400> 101
[2021]	Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
[2022]	1 5 10 15
[2023]	Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Gly Trp Trp Pro Arg Leu
[2024]	20 25 30
[2025]	Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr
[2026]	35 40 45
[2027]	Phe Gln Gly Glu Leu Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg

[2028]	50	55	60
[2029]	Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln		
[2030]	65	70	75 80
[2031]	Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly		
[2032]	85	90	95
[2033]	Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr		
[2034]	100	105	110
[2035]	<210> 102		
[2036]	<211> 207		
[2037]	<212> PRT		
[2038]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[2039]	<400> 102		
[2040]	Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly		
[2041]	1 5 10 15		
[2042]	Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu		
[2043]	20 25 30		
[2044]	Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu		
[2045]	35 40 45		
[2046]	Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr		
[2047]	50 55 60		
[2048]	Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr Ala Ser Arg		
[2049]	65 70 75 80		
[2050]	Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Pro Arg Thr Gly		
[2051]	85 90 95		
[2052]	Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg		
[2053]	100 105 110		
[2054]	Pro Asp Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser		
[2055]	115 120 125		
[2056]	Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln		
[2057]	130 135 140		
[2058]	Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys		
[2059]	145 150 155 160		
[2060]	Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val		
[2061]	165 170 175		
[2062]	Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn		
[2063]	180 185 190		
[2064]	Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser		
[2065]	195 200 205		
[2066]	<210> 103		

[2067] <211> 242  
 [2068] <212> PRT  
 [2069] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [2070] <400> 103  
 [2071] Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly  
 [2072] 1 5 10 15  
 [2073] Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu  
 [2074] 20 25 30  
 [2075] Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr  
 [2076] 35 40 45  
 [2077] Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg  
 [2078] 50 55 60  
 [2079] Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln  
 [2080] 65 70 75 80  
 [2081] Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Glu Gly  
 [2082] 85 90 95  
 [2083] Leu Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr  
 [2084] 100 105 110  
 [2085] Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro  
 [2086] 115 120 125  
 [2087] Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu  
 [2088] 130 135 140  
 [2089] Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn  
 [2090] 145 150 155 160  
 [2091] Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys  
 [2092] 165 170 175  
 [2093] Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu  
 [2094] 180 185 190  
 [2095] Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys  
 [2096] 195 200 205  
 [2097] Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp  
 [2098] 210 215 220  
 [2099] Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg  
 [2100] 225 230 235 240  
 [2101] Ala Asp

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHL I LIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSLLITASRAADTASYFCATDPRTGANSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:1)

图1a

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRC D P I SEHNRLY WYR Q T L G Q G P E F L T Y F Q N E A Q L E K S R L L S D R F S  
AERP K G S F S T L E I Q R T E Q G D S A M Y L C A S E G L A Y E Q Y F G P G T R L T V T (SEQ ID NO:2)

图1b

SQQGEEDPQALS IQEGENV T I N C S Y K T S I N N L Q W Y R Q N S G R G L V H L I L I R S N E R E K H S G R L R V T L D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTGANSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:3)

图2a

DTGVSQDPRHLSV K R G Q N V T L R C D P I S E H N R L Y W Y R Q T P G Q G P E F L T Y F Q N E A Q L E K S R L L S D R F S  
AERP K G S F S T L E I Q R V E P G D S A M Y L C A S E G L A Y E Q Y F G P G T R L T V T (SEQ ID NO:4)

图2b

tctCAaCAaGGTGAAGAAGATCCGCAGGCACTGAGCATT CAGGAAGGCGAAAATGTGACCATTAAT  
TGTAGCTATAAGACCAGTATTAACAACCTGCAGTGGTATCGCCAGAATAGCGGTTCGCGGTCTGGTT  
CATCTGATTCTGATTTCGTAGCAATGAACGTGAAAAACATAGCGGCCGTCTGCGTGTGACCCTGGAT  
ACCAGTAAAAAATCTAGCAGCCTGAAATTACCGATGTGCGCCGAGCGATACCGCAAGTTATTTT  
TGTGCAACCGATCCGCGCACCGGCGCAAATAGCAAACCTGACCTTTGGTAAAGGCATTACCCTGAGT  
GTTCTCCG (SEQ ID NO:5)

图3a

GATACCGGTGTTAGTCAGGATCCGCGCCATCTGAGCGTTAAACGTGGCCAGAATGTTACCCTGCGC  
TGTGATCCGATTAGTGAACATAATCGTCTGTATTGGTATCGTCAGACCCCGGGTCAGGGTCCGGAA  
TTTCTGACCTATTTTCAGAATGAAGCACAGCTGGAAAAAAGCCGTCTGCTGAGTGATCGTTTTAGC  
GCCGAACGTCCGAAAGGCAGTTTTAGTACCCTGGAAATTCAGCGCGTGGAAACCGGGTACAGCGCA  
ATGTATCTGTGCGCCAGCGAAGGTCTGGCCTATGAACAGTATTTTGGCCCGGGTACCCGCCTGACC  
GTTACC (SEQ ID NO:6)

图3b

GGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:7)

图4a

GGCGGTGGTGGCAGCGGCGGTGGTGGTTCAGGCGGTGGTGGGAAGCGGTGGTGGCAGGTAGT  
(SEQ ID NO:8)

图4b

SQQGEEDPQALSIQEGENV<sup>T</sup>INCSYKTSINN<sup>L</sup>QWYRQNSGRGLVHLILIRSN<sup>E</sup>REKHSGR<sup>L</sup>LRVTLD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTASSAKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:9)

图5 (1)

SQQGEEDPQALSIQEGENV<sup>T</sup>INCSYKTSINN<sup>L</sup>QWYRQNSGRGLVHLILIRSN<sup>E</sup>REKHSGR<sup>L</sup>LRVTLD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTGSSNKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:10)

图5 (2)

SQQGEEDPQALSIQEGENV<sup>T</sup>INCSYKTSINN<sup>L</sup>QWYRQNSGRGLVHLILIRSN<sup>E</sup>REKHSGR<sup>L</sup>LRVTLD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPPAMQANSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:11)

图5 (3)

SQQGEEDPQALSIQEGENV<sup>T</sup>INCSYKTSINN<sup>L</sup>QWYRQNSGRGLVHLILIRSN<sup>E</sup>REKHSGR<sup>L</sup>LRVTLD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSRQNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:12)

图5 (4)

SQQGEEDPQALSIQEGENV<sup>T</sup>INCSYKTSINN<sup>L</sup>QWYRQNSGRGLVHLILIRSN<sup>E</sup>REKHSGR<sup>L</sup>LRVTLD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPVLSANSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:13)

图5 (5)

SQQGEEDPQALSIQEGENV<sup>T</sup>INCSYKTSINN<sup>L</sup>QWYRQNSGRGLVHLILIRSN<sup>E</sup>REKHSGR<sup>L</sup>LRVTLD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTSGSTKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:14)

图5 (6)

SQQGEEDPQALSIQEGENV<sup>T</sup>INCSYKTSINN<sup>L</sup>QWYRQNSGRGLVHLILIRSN<sup>E</sup>REKHSGR<sup>L</sup>LRVTLD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPDRSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:15)

图5 (7)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTSINNLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLTD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTASTPKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:16)

图5 (8)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTSINNLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLTD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPEAQWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:17)

图5 (9)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTSINNLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLTD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTTESTTKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:18)

图5 (10)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTSINNLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLTD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSSLQNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:19)

图5 (11)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTSINNLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLTD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPQNSWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:20)

图5 (12)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTSINNLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLTD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPASNWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:21)

图5 (13)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTDVSSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLTD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPAAQWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:22)

图5 (14)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTPISSLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLTD  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPAAQWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:23)

图5 (15)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTPISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPPATSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:24)

图5 (16)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTDIYKLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTASSPKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:25)

图5 (17)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTAVDS LQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSLSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:26)

图5 (18)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTEISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSLSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:27)

图5 (19)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTAVDS LQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:28)

图5 (20)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTEISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:29)

图5 (21)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTDVSSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:30)

图5 (22)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTDVSSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPTMSNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:31)

图5 (23)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTAVDSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPTMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:32)

图5 (24)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTEISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPATSPNKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:33)

图5 (25)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTPISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:34)

图5 (26)

SQQGEEDPQALS IQEGENVTINCSYKTAVDSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPTSSWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:35)

图5 (27)

DTGVSQDPRHLSVVRGQNVTLRCDPISEHNRLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS AERPKGFSSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRTLTVT (SEQ ID NO:36)

图6 (1)

DTGVSQDPRHLSVVRGQNVTLRCDPIAGHARLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS AERPKGFSSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRTLTVT (SEQ ID NO:37)

图6 (2)

DTGVSQDPRHLSVVRGQNVTLRCDPIQGHARLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS AERPKGFSSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRTLTVT (SEQ ID NO:38)

图6 (3)

DTGVSQDPRHLSVVRGQNVTLRCDPIGTWPRLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS AERPKGFSSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRTLTVT (SEQ ID NO:39)

图6 (4)

DTGVSQDPRHLSV~~K~~RGQNVTLRCDPIAGHARLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERPKGSFSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:40)

图6 (5)

DTGVSQDPRHLSV~~K~~RGQNVTLRCDPIGTWPRLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERPKGSFSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:41)

图6 (6)

DTGVSQDPRHLSV~~K~~RGQNVTLRCDPIGRWPRLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERPKGSFSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:42)

图6 (7)

DTGVSQDPRHLSV~~K~~RGQNVTLRCDPIQGHARLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERPKGSFSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:43)

图6 (8)

DTGVSQDPRHLSV~~K~~RGQNVTLRCDPIARHARLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERPKGSFSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:44)

图6 (9)

DTGVSQDPRHLSV~~K~~RGQNVTLRCDPIGLWPRLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERPKGSFSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:45)

图6 (10)

DTGVSQDPRHLSV~~K~~RGQNVTLRCDPIQGRARLYWYRQTPGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS  
AERPKGSFSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:46)

图6 (11)

SQQGEEDPQALS IQEGENV TINC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
 TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTGANSKLTFGKGITLSVRPGGGGSGGGSGGGSGGGG  
 SDTGVSQDPRHLSVKRQNVTLRCDPISEHNRLYWYRQTPGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRF  
 SAERP KGSFSTLEIQRVEPGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRRLTVT (SEQ ID NO:47)

图7a

tctCAaCAaGGTGAAGAAGATCCGCAGGCACTGAGCATT CAGGAAGGCGAAAATGTGACCATTAAT  
 TGTAGCTATAAGACCAGTATTAACAACCTGCAGTGGTATCGCCAGAATAGCGGTTCGCGGTCTGGTT  
 CATCTGATTCTGATTTCGTAGCAATGAACGTGAAAAACATAGCGGCCGTCTGCGTGTGACCCTGGAT  
 ACCAGTAAAAAATCTAGCAGCCTGGAAATTACCGATGTGCGCCCGAGCGATACCGCAAGTTATTTT  
 TGTGCAACCGATCCGCGCACCGGCGCAAATAGCAAAC T GACCTTTGGTAAAGGCATTACCCTGAGT  
 GTTCGTCCGGGCGGTGGTGGCAGCGGCGGTGGTGGTT CAGGCGGTGGTGGAAAGCGGTGGTGGCGGT  
 AGTGATAACCGGTGTTAGTCAGGATCCGCGCCATCTGAGCGTTAAACGTGGCCAGAATGTTACCCTG  
 CGCTGTGATCCGATTAGTGAACATAATCGTCTGTATTGGTATCGTCAGACCCCGGGTCAGGGTCCG  
 GAATTTCTGACCTATTTTCAGAATGAAGCACAGCTGGAAAAAGCCGTCTGCTGAGTGATCGTTTT  
 AGCGCCGAACGTCCGAAAGGCAGTTTTAGTACCCTGGAAATTCAGCGCGTGGAACCGGGTGACAGC  
 GCAATGTATCTGTGCGCCAGCGAAGGTCTGGCCTATGAACAGTATTTTGGCCCGGGTACCCGCCTG  
 ACCGTTACC (SEQ ID NO:48)

图7b

MSQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL  
 DTSKKSSSLLITASRAADTASYFCATDPRTGANSKLTFGKGITLSVRPDIQNPDPVYQLRDSKSS  
 DKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDK**C**VLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSI IPE  
 DTFPSPPESS (SEQ ID NO:49)

图8a

MDTGVSQDPRHKITKRQNVTFRC DPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRF  
 SAERP KGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEA  
 EISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWVWNGKEVHSGV**C**TDPQPLKEQPALNDSRYALSRLRVSAT  
 FWQDPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRAD (SEQ ID NO:50)

图8b

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
 TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTASSAKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:51)

图9(1)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTGSSNKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:52)

图9(2)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPAMQANSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:53)

图9(3)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSRQNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:54)

图9(4)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPVLSANSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:55)

图9(5)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTSGSTKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:56)

图9(6)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPDRSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:57)

图9(7)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRTASTPKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:58)

图9(8)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPEAQWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:59)

图9(9)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INNLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPRESTTKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:60)

图9(10)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INNLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSLOSNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:61)

图9(11)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INNLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPQNSWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:62)

图9(12)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INNLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPPASNWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:63)

图9(13)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTDVSSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPPAAQWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:64)

图9(14)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTPISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPPAAQWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:65)

图9(15)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTPISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPPATSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:66)

图9(16)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTDIYKLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTL D  
TSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPPRTASSPKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:67)

图9(17)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTAVDSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSLSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:68)

图9 (18)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTEISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSLSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:69)

图9 (19)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTAVDSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:70)

图9 (20)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTEISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:71)

图9 (21)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTDVSSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:72)

图9 (22)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTDVSSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPTMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:73)

图9 (23)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTAVDSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPTMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:74)

图9 (24)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTEISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPATSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:75)

图9 (25)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTP ISSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPSMSPNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:76)

图9 (26)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTAVDSLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLEITDVRPSDTASYFCATDPTSSWNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:77)

图9 (27)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INNLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLLITASRAADTASYFCATDPHWSTNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:91)

图9 (28)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTD IASLOWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLLITASRAADTASYFCATDPHWSTNSKLTFGKGITLSVRP (SEQ ID NO:92)

图9 (29)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRC DPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS AERP KGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL CASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:78)

图10 (1)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRC DPIAGHARLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS AERP KGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL CASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:79)

图10 (2)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRC DPIQG HARLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS AERP KGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL CASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:80)

图10 (3)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRC DPIGTWPRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS AERP KGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL CASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:81)

图10 (4)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIAGHARLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERP~~K~~GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:82)

图10(5)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIGTWPRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERP~~K~~GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:83)

图10(6)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIGRWPRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERP~~K~~GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:84)

图10(7)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIQGHARLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERP~~K~~GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:85)

图10(8)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIARHARLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERP~~K~~GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:86)

图10(9)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIGLWPRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDLELEKSRLLSDRFS  
AERP~~K~~GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:87)

图10(10)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIQGRARLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDMELEKSRLLSDRFS  
AERP~~K~~GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:88)

图10(11)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIVDNARLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFS  
AERP~~K~~GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:93)

图10(12)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPILGHARLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFS  
AERPKGFSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:94)

图10 (13)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIGWWPRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFS  
AERPKGFSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:95)

图10 (14)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGELOLEKSRLLSDRFS  
AERPKGFSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:96)

图10 (15)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDMOLEKSRLLSDRFS  
AERPKGFSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:97)

图10 (16)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGDLQLEKSRLLSDRFS  
AERPKGFSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:98)

图10 (17)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFHYYTAQLEKSRLLSDRFS  
AERPKGFSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:99)

图10 (18)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFAWEAQLEKSRLLSDRFS  
AERPKGFSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:100)

图10 (19)

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPIGWWPRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQGELOLEKSRLLSDRFS  
AERPKGFSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVT (SEQ ID NO:101)

图10 (20)

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTLDTSKKSSLLITASRAADTASYFCATDPRTGANSKLTFGKGITLSVRPDIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS  
(SEQ ID NO:89)

图11a

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDP ISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFS AERP KGSFSTLEIQRTEQGD SAMYLCASEGLAYEQYFGPGTRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAE ISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATF WQNPRNHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLV SALVLMAMV KRKDSRG (SEQ ID NO:90)

图11b

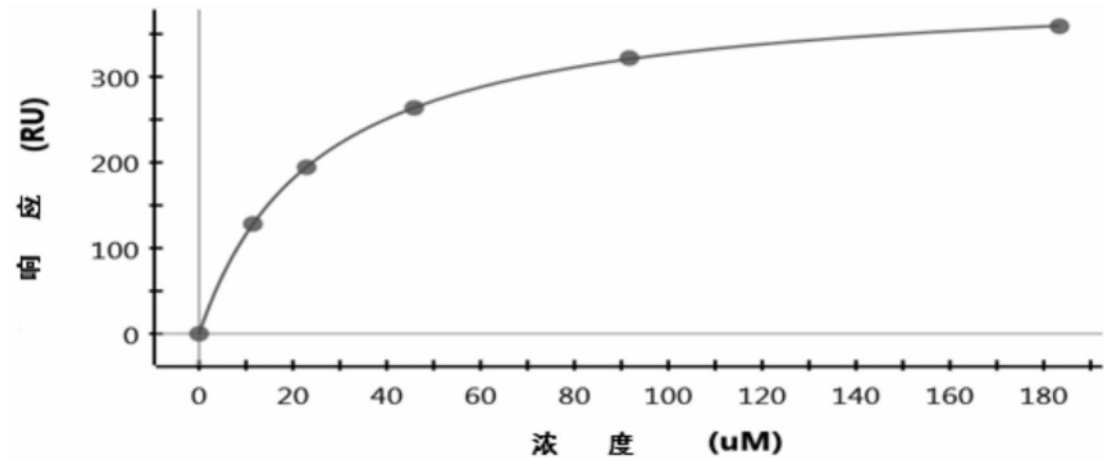


图12

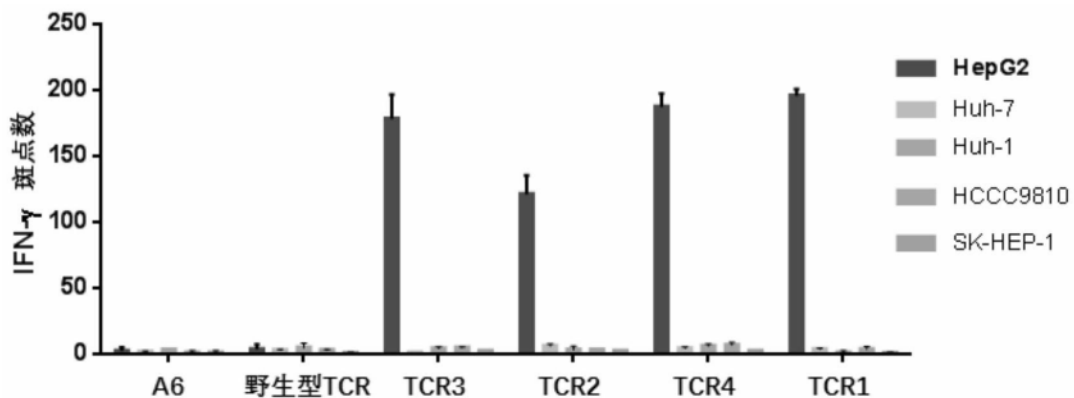


图13a

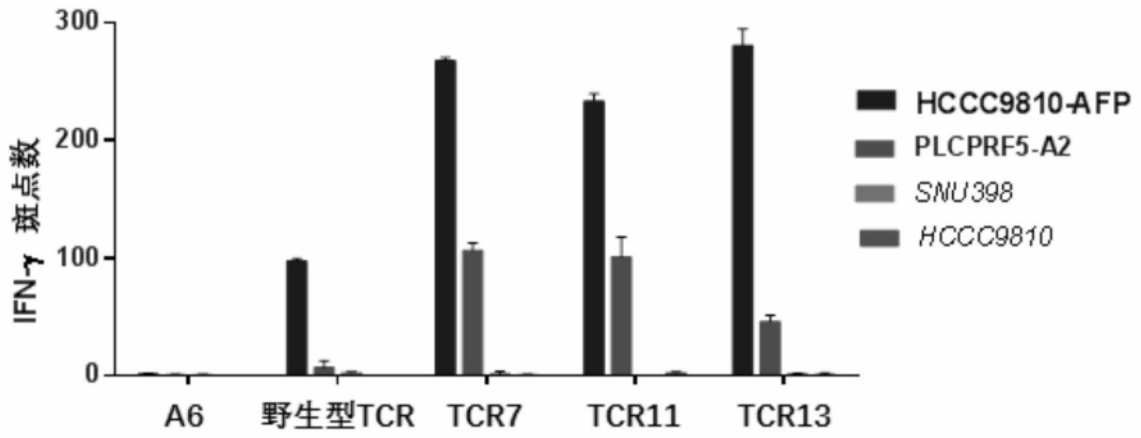


图13b

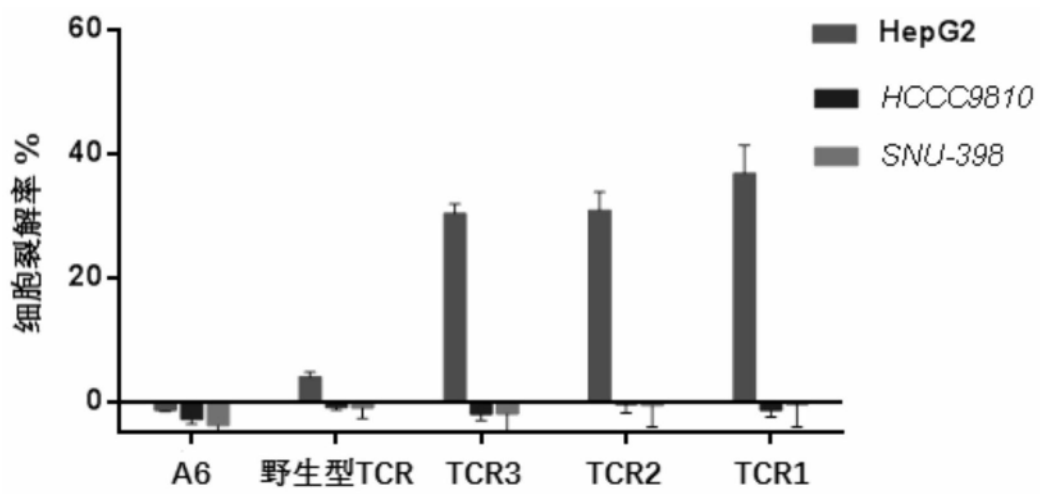


图14a

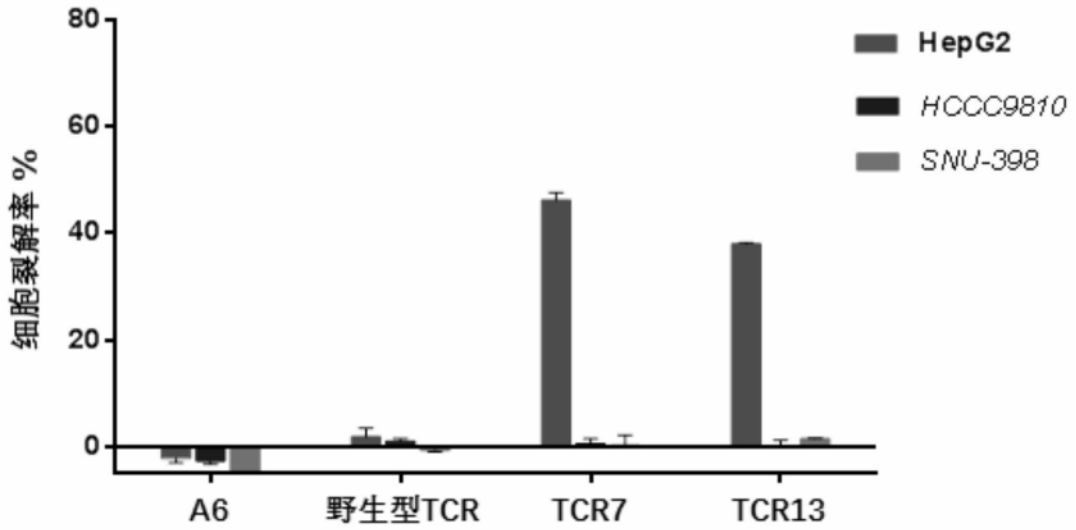


图14b

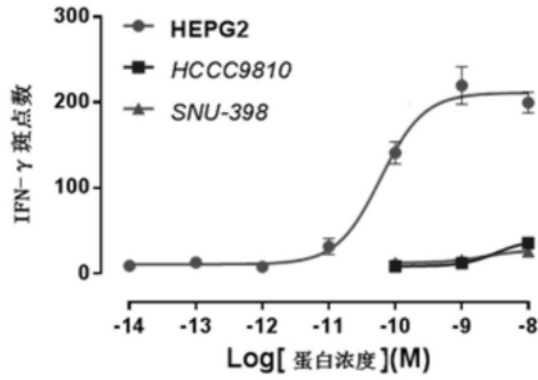


图15a

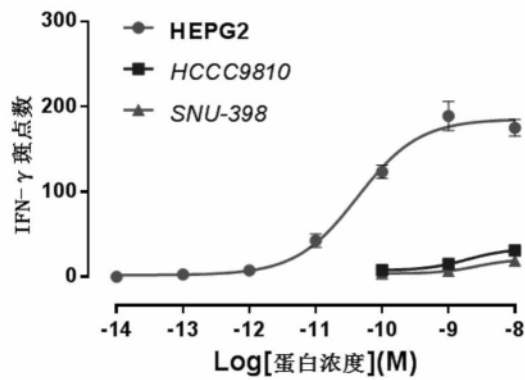


图15b

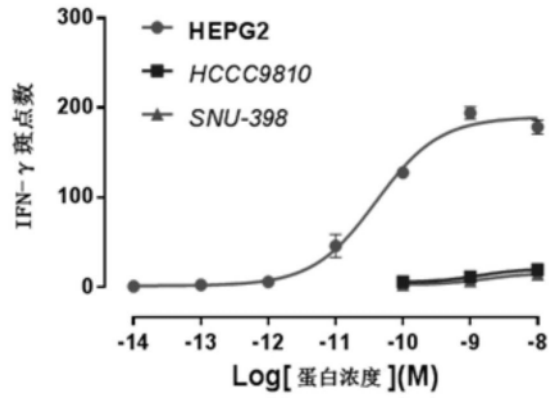


图15c

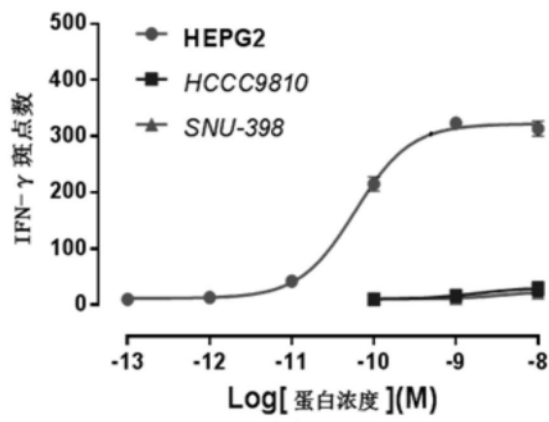


图15d

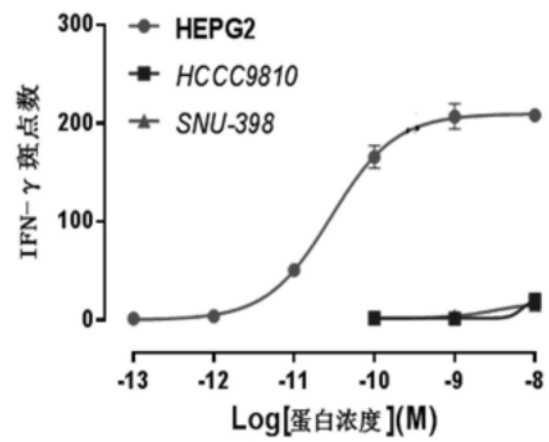


图15e

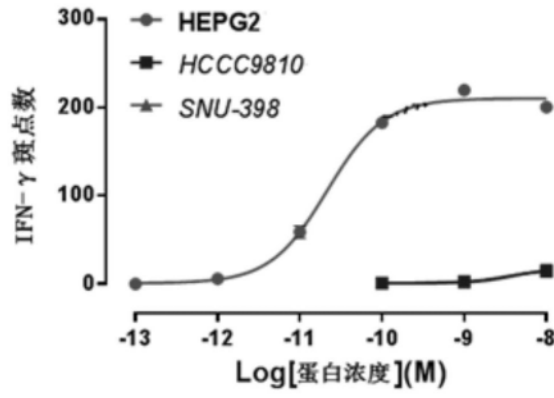


图15f

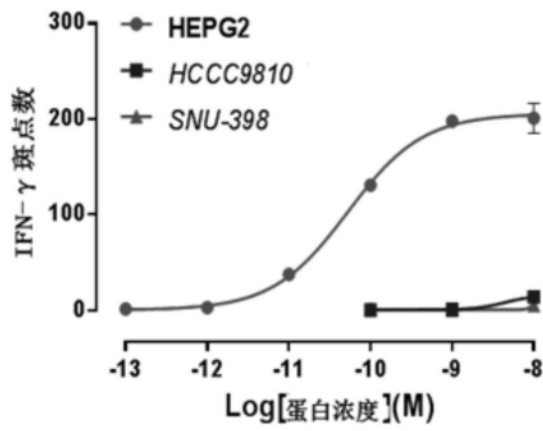


图15g

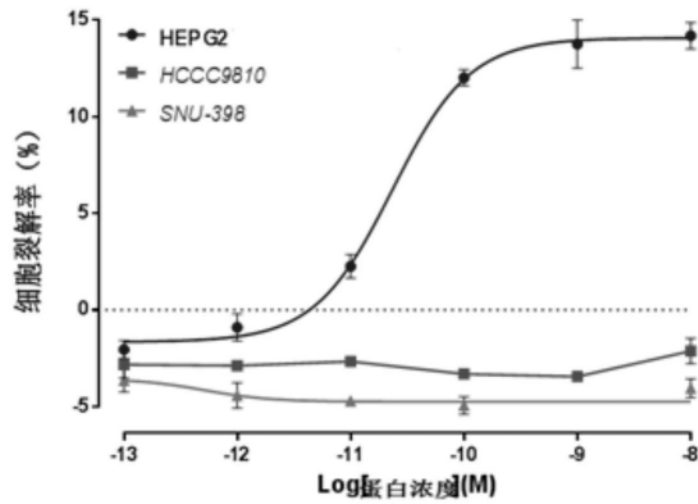


图16

SQQGEEDPQALS IQEGENATMNC SYKTS INN LQWYR QNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGR LRVTL D  
TSKKSSLLITASRAADTASYFCATDPRTGANSKLTFGKGITLSVRPDIQNPDPAVYQLRDSKSSD  
KSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPED  
TFFPSPESS (SEQ ID NO:102)

图17a

DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDP ISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFS  
AERP KGSFSTLEIQ RTEQGDSAMYL CASEGLAYEQYFGPGTRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAE  
ISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATF  
WQNPRNHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAKPV TQIVSAEAWGRAD (SEQ ID NO:103)

图17b