

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-514031

(P2005-514031A)

(43) 公表日 平成17年5月19日(2005.5.19)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	4 B O 2 4
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/15	4 B O 5 0
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19	4 B O 6 4
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21	4 B O 6 5
C 1 2 N 5/10	C 1 2 N 9/02	4 C O 7 1
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 108 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-558132 (P2003-558132)	(71) 出願人	391015708
(86) (22) 出願日	平成14年12月17日 (2002.12.17)		ブリストル・マイヤーズ スクイブ カン
(85) 翻訳文提出日	平成16年8月24日 (2004.8.24)		パニー
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/040359		B R I S T O L - M Y E R S S Q U I B
(87) 国際公開番号	W02003/057830		B C O M P A N Y
(87) 国際公開日	平成15年7月17日 (2003.7.17)		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 0 1
(31) 優先権主張番号	60/344, 271		5 4 ニューヨーク パーク アペニュー
(32) 優先日	平成13年12月26日 (2001.12.26)		3 4 5
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100068526
			弁理士 田村 恭生
		(74) 代理人	100076521
			弁理士 坪井 有四郎
		(74) 代理人	100126778
			弁理士 品川 永敏
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 エポチロンをヒドロキシ化するための組成物および方法

(57) 【要約】

エポチロン B ヒドロキシラーゼおよびその突然変異体および変異体およびエポチロン B ヒドロキシラーゼ遺伝子の下流に位置するフェレドキシンの単離核酸配列および該配列によってコードされるポリペプチドが提供される。ベクターおよび該ベクターを含む細胞もまた提供される。さらに、組換え微生物の製造方法、ヒドロキシアシル含有エポチロンを生成するためにこれら組換え微生物を使用する方法、およびエポチロン B ヒドロキシラーゼの突然変異体によって生成したエポチロンアナログも提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

エポチロン B ヒドロキシラーゼまたはその突然変異体または変異体をコードする単離核酸配列。

【請求項 2】

配列番号 1、30、32、34、36、37、38、39、40、41、42、60、62、64、66、68、72 または 74 を含む、請求項 1 に記載の単離核酸配列。

【請求項 3】

配列番号 1 を含む、請求項 1 に記載の単離核酸配列。

【請求項 4】

エポチロン B ヒドロキシラーゼ酵素の活性部位に少なくとも一つのアミノ酸置換を有する突然変異体をコードする、請求項 1 に記載の単離核酸配列。

【請求項 5】

配列番号 2 のアミノ酸 GLU 31、ARG 67、ARG 88、ILE 92、ALA 93、VAL 106、ILE 130、ALA 140、MET 176、PHE 190、GLU 231、SER 294、PHE 237、または ILE 365 に少なくとも一つのアミノ酸置換を有する突然変異体をコードする、請求項 1 に記載の単離核酸配列。

【請求項 6】

配列番号 2 のアミノ酸 LEU 39、GLN 43、ALA 45、MET 57、LEU 58、HIS 62、PHE 63、SER 64、SER 65、ASP 66、ARG 67、GLN 68、SER 69、LEU 74、MET 75、VAL 76、ALA 77、ARG 78、GLN 79、ILE 80、ASP 84、LYS 85、PRO 86、PHE 87、ARG 88、PRO 89、SER 90、LEU 91、ILE 92、ALA 93、MET 94、ASP 95、HIS 99、ARG 103、PHE 110、ILE 155、PHE 169、GLN 170、CYS 172、SER 173、SER 174、ARG 175、MET 176、LEU 177、SER 178、ARG 179、ARG 186、PHE 190、LEU 193、VAL 233、GLY 234、LEU 235、ALA 236、PHE 237、LEU 238、LEU 239、LEU 240、ILE 241、ALA 242、GLY 243、HIS 244、GLU 245、THR 246、THR 247、ALA 248、ASN 249、MET 250、LEU 283、THR 287、ILE 288、ALA 289、GLU 290、THR 291、ALA 292、THR 293、SER 294、ARG 295、PHE 296、ALA 297、THR 298、GLU 312、GLY 313、VAL 314、VAL 315、GLY 316、VAL 344、ALA 345、PHE 346、GLY 347、PHE 348、VAL 350、HIS 351、GLN 352、CYS 353、LEU 354、GLY 355、GLN 356、LEU 358、ALA 359、GLU 362、LYS 389、ASP 391、SER 392、THR 393、ILE 394、または TYR 395 に少なくとも一つのアミノ酸置換を有する突然変異体をコードする、請求項 1 に記載の単離核酸配列。

【請求項 7】

配列番号 43、44、45、46、47、48 または 49 を含む突然変異体をコードする、請求項 1 に記載の単離核酸配列。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の単離核酸配列によってコードされるポリペプチド。

【請求項 9】

請求項 2 に記載の核酸配列または該核酸配列の相補的配列に $3 \times \text{SSC}$ 、 65°C にて 16 時間のハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズすることのできる単離核酸分子であって、該核酸配列または該核酸配列の相補的配列に $0.5 \times \text{SSC}$ 、 55°C にて 30 分間の洗浄条件下でハイブリダイズしたままであることができることを特徴とする単離核酸分子。

【請求項 10】

10

20

30

40

50

配列番号 2 を含む単離ポリペプチド。

【請求項 1 1】

配列番号 2 のエポチロン B ヒドロキシラーゼ酵素の活性部位に少なくとも一つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む、配列番号 2 のエポチロン B ヒドロキシラーゼの単離した突然変異体ポリペプチド。

【請求項 1 2】

配列番号 2 のアミノ酸 G L U 3 1、A R G 6 7、A R G 8 8、I L E 9 2、A L A 9 3、V A L 1 0 6、I L E 1 3 0、A L A 1 4 0、M E T 1 7 6、P H E 1 9 0、G L U 2 3 1、S E R 2 9 4、P H E 2 3 7、または I L E 3 6 5 に少なくとも一つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む、配列番号 2 のエポチロン B ヒドロキシラーゼの単離した突然変異体ポリペプチド。 10

【請求項 1 3】

配列番号 2 のアミノ酸 L E U 3 9、G L N 4 3、A L A 4 5、M E T 5 7、L E U 5 8、H I S 6 2、P H E 6 3、S E R 6 4、S E R 6 5、A S P 6 6、A R G 6 7、G L N 6 8、S E R 6 9、L E U 7 4、M E T 7 5、V A L 7 6、A L A 7 7、A R G 7 8、G L N 7 9、I L E 8 0、A S P 8 4、L Y S 8 5、P R O 8 6、P H E 8 7、A R G 8 8、P R O 8 9、S E R 9 0、L E U 9 1、I L E 9 2、A L A 9 3、M E T 9 4、A S P 9 5、H I S 9 9、A R G 1 0 3、P H E 1 1 0、I L E 1 5 5、P H E 1 6 9、G L N 1 7 0、C Y S 1 7 2、S E R 1 7 3、S E R 1 7 4、A R G 1 7 5、M E T 1 7 6、L E U 1 7 7、S E R 1 7 8、A R G 1 7 9、A R G 1 8 6、P H E 1 9 0、L E U 1 9 3、V A L 2 3 3、G L Y 2 3 4、L E U 2 3 5、A L A 2 3 6、P H E 2 3 7、L E U 2 3 8、L E U 2 3 9、L E U 2 4 0、I L E 2 4 1、A L A 2 4 2、G L Y 2 4 3、H I S 2 4 4、G L U 2 4 5、T H R 2 4 6、T H R 2 4 7、A L A 2 4 8、A S N 2 4 9、M E T 2 5 0、L E U 2 8 3、T H R 2 8 7、I L E 2 8 8、A L A 2 8 9、G L U 2 9 0、T H R 2 9 1、A L A 2 9 2、T H R 2 9 3、S E R 2 9 4、A R G 2 9 5、P H E 2 9 6、A L A 2 9 7、T H R 2 9 8、G L U 3 1 2、G L Y 3 1 3、V A L 3 1 4、V A L 3 1 5、G L Y 3 1 6、V A L 3 4 4、A L A 3 4 5、P H E 3 4 6、G L Y 3 4 7、P H E 3 4 8、V A L 3 5 0、H I S 3 5 1、G L N 3 5 2、C Y S 3 5 3、L E U 3 5 4、G L Y 3 5 5、G L N 3 5 6、L E U 3 5 8、A L A 3 5 9、G L U 3 6 2、L Y S 3 8 9、A S P 3 9 1、S E R 3 9 2、T H R 3 9 3、I L E 3 9 4、または T Y R 3 9 5 に少なくとも一つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む、配列番号 2 のエポチロン B ヒドロキシラーゼの単離した突然変異体ポリペプチド。 20 30

【請求項 1 4】

配列番号 3 1、3 3、3 5、6 1、6 3、6 5、6 7、6 9、7 1、7 3 または 7 5 を含む、エポチロン B ヒドロキシラーゼの単離した突然変異体ポリペプチド。

【請求項 1 5】

配列番号 4 3、4 4、4 5、4 6、4 7、4 8 または 4 9 を含む、エポチロン B ヒドロキシラーゼの単離した変異体ポリペプチド。

【請求項 1 6】

フェレドキシンをコードする単離核酸配列。

40

【請求項 1 7】

配列番号 3 を含む、請求項 1 6 に記載の単離核酸配列。

【請求項 1 8】

請求項 1 6 に記載の単離核酸配列によってコードされるポリペプチド。

【請求項 1 9】

配列番号 3 に示す核酸配列または配列番号 3 に示す核酸配列の相補的配列に $3 \times \text{SSC}$ 、 65°C にて 16 時間のハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズすることのできる単離核酸分子であって、配列番号 3 に示す核酸配列または配列番号 3 に示す核酸配列の相補的配列に $0.5 \times \text{SSC}$ 、 55°C にて 30 分間の洗浄条件下でハイブリダイズしたままであることができることを特徴とする単離核酸分子。

50

【請求項 20】

請求項 1 に記載の単離核酸配列を含むベクター。

【請求項 21】

フェレドキシンをコードする単離核酸配列をさらに含む、請求項 20 に記載のベクター。

【請求項 22】

請求項 20 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 23】

請求項 21 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 24】

末端アルキル基を有するエポチロンをヒドロキシル化して末端ヒドロキシアルキル基を有するエポチロンを生成する組換え微生物を製造する方法であって、微生物を請求項 20 または 21 に記載のベクターでトランスフェクションすることを含む方法。

10

【請求項 25】

末端アルキル基を有するエポチロンをヒドロキシル化して末端ヒドロキシアルキル基を有するエポチロンを生成する組換えにより生成した微生物。

【請求項 26】

配列番号 1、30、32、34、36、37、38、39、40、41、42、60、62、64、66、68、72 または 74 の核酸配列を発現する、請求項 25 に記載の組換えにより生成した微生物。

20

【請求項 27】

下記式 I :



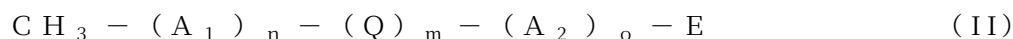
(式中、 A_1 および A_2 は、それぞれ独立に任意に置換された C_1-C_3 アルキルおよびアルケニルよりなる群から選ばれる；

Q は、1～3 の環および少なくとも 1 の環中に少なくとも一つの炭素-炭素二重結合を含む任意に置換された環系；

n 、 m および o は、0 および 1 よりなる群から選ばれた整数、その際、 m または n または o の少なくとも一つは 1 である；および

E はエポチロンコアである) で示される少なくとも 1 のエポチロンを製造する方法であって、下記式 II :

30

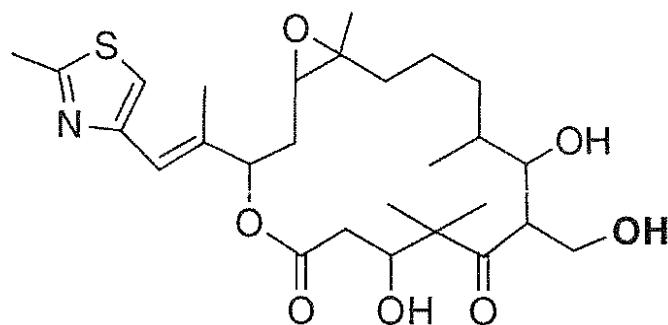


(式中、 A_1 、 Q 、 A_2 、 E 、 n 、 m 、および o は前記と同じ) で示される少なくとも 1 のエポチロンを、式 II の化合物のヒドロキシル化を選択的に触媒することができる組換えにより生成した微生物または該微生物からの酵素と接触させ、ついで該ヒドロキシル化を行うことを含む方法。

【請求項 28】

式 A :

【化 1】



40

で示されるエポチロンアナログの製造方法であって、配列番号 31 を含む突然変異体エポ

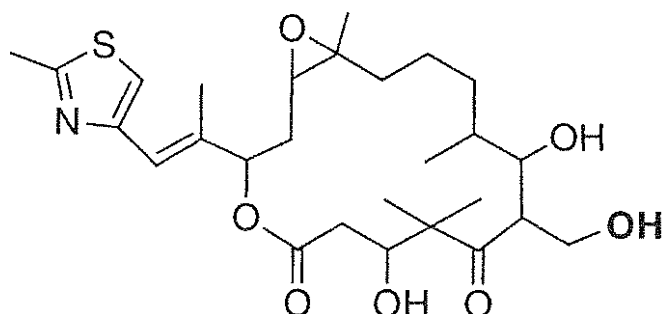
50

チロン B ヒドロキシラーゼ 酵素とともにインキュベートすることによってエポチロン B を式 A で示されるエポチロン アナログ にバイオトランスフォーメーションすることを含む方法。

【請求項 29】

式 A :

【化 2】



10

で示される化合物または薬理学的に許容しうるその塩。

【請求項 30】

付表 1 に列挙した構造座標によって記載された対応骨格原子上で重ね合わせたときに、保存された残基骨格原子の二乗平均偏差が約 4.0 オングストローム未満である、エポチロン B ヒドロキシラーゼ のホモロジーモデル。

20

【請求項 31】

エポチロン B ヒドロキシラーゼ と比較して変化した生物学的特性、機能、所望の生成物の収量、反応速度、基質特異性、または活性を有する突然変異体の製造方法であって、突然変異すべき配列番号 2 中のアミノ酸を同定し、ついで該同定したアミノ酸を突然変異させて突然変異体タンパク質を生成することを含む方法。

【請求項 32】

付表 1 に列挙した構造座標によって記載された対応骨格原子上で重ね合わせたときに、保存された残基骨格原子の二乗平均偏差が約 4.0 オングストローム未満であるエポチロン B ヒドロキシラーゼ のホモロジーモデルを、突然変異すべき配列番号 2 中のアミノ酸を同定するために用いる、請求項 31 に記載の方法。

30

【請求項 33】

同定したアミノ酸が、配列番号 2 の LEU 39、GLN 43、ALA 45、MET 57、LEU 58、HIS 62、PHE 63、SER 64、SER 65、ASP 66、ARG 67、GLN 68、SER 69、LEU 74、MET 75、VAL 76、ALA 77、ARG 78、GLN 79、ILE 80、ASP 84、LYS 85、PRO 86、PHE 87、ARG 88、PRO 89、SER 90、LEU 91、ILE 92、ALA 93、MET 94、ASP 95、HIS 99、ARG 103、PHE 110、ILE 155、PHE 169、GLN 170、CYS 172、SER 173、SER 174、ARG 175、MET 176、LEU 177、SER 178、ARG 179、ARG 186、PHE 190、LEU 193、VAL 233、GLY 234、LEU 235、ALA 236、PHE 237、LEU 238、LEU 239、LEU 240、ILE 241、ALA 242、GLY 243、HIS 244、GLU 245、THR 246、THR 247、ALA 248、ASN 249、MET 250、LEU 283、THR 287、ILE 288、ALA 289、GLU 290、THR 291、ALA 292、THR 293、SER 294、ARG 295、PHE 296、ALA 297、THR 298、GLU 312、GLY 313、VAL 314、VAL 315、GLY 316、VAL 344、ALA 345、PHE 346、GLY 347、PHE 348、VAL 350、HIS 351、GLN 352、CYS 353、LEU 354、GLY 355、GLN 356、LEU 358、ALA 359、GLU 362、LYS 389、ASP 391、SER 392、THR 393、ILE 394、ま

40

50

たは T Y R 3 9 5 である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 4】

同定したアミノ酸が、配列番号 2 の G L U 3 1、A R G 6 7、A R G 8 8、I L E 9 2、A L A 9 3、V A L 1 0 6、I L E 1 3 0、A L A 1 4 0、M E T 1 7 6、P H E 1 9 0、G L U 2 3 1、S E R 2 9 4、P H E 2 3 7、または I L E 3 6 5 である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 5】

該突然変異体タンパク質の所望の生成物の収量が、エポチロン B ヒドロキシラーゼを用いて得られる所望の生成物の収量と比較して改善されている、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 6】

該所望の生成物がエポチロン F である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

該突然変異体の反応速度が、エポチロン B ヒドロキシラーゼを用いて得られる反応速度と比較して改善されている、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 8】

該突然変異体が、エポチロン B ヒドロキシラーゼの基質特異性と比較して変化した基質特異性を示す、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 9】

アミノ酸 S E R 2 9 4 が突然変異している、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

該突然変異体が、エポチロン B ヒドロキシラーゼと本質的に同様の生物学的活性または機能を示す、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 4 1】

付表 1 に示す構造座標でコードしたデータ記憶材料を含む機械読み取り可能なデータ記憶媒体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、エポチロン B ヒドロキシラーゼおよびその突然変異体および変異体およびエポチロン B ヒドロキシラーゼ遺伝子の下流に位置するフェレドキシンの単離核酸配列およびそれによってコードされるポリペプチドに関する。本発明はまた、エポチロンなどの末端アルキル基を有する小さな有機分子化合物をヒドロキシ化して末端ヒドロキシアルキル基を有する化合物を生成することのできる、エポチロン B ヒドロキシラーゼまたはその突然変異体または変異体および／またはフェレドキシンを発現する組換え微生物に関する。そのような微生物を組換えにより製造する方法並びに末端ヒドロキシアルキル基を有する化合物の合成にこれら組換え微生物を用いる方法もまた提供される。本発明の組成物および方法は、医薬の分野で様々な有用性を有するエポチロンを製造するのに有用である。本発明のエポチロン B ヒドロキシラーゼの突然変異体を用いて製造した新規なエポチロンアナログも記載する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

エポチロンは、医薬の分野で有用性が見出されたマクロライド系化合物である。たとえば、構造：

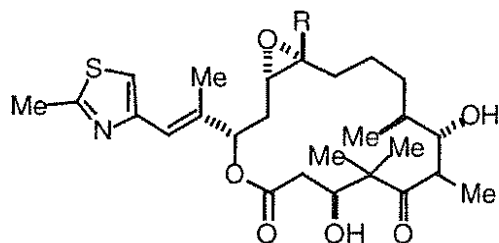
10

20

30

40

【化 1】



エポチロン A R=H

エポチロン B R=Me

10

を有するエポチロン A および B は、パクリタキセル（タキソール^R）と類似の微小管安定化作用を発揮し、それゆえ腫瘍細胞などの迅速に増殖する細胞や他の過剰増殖細胞性疾患に関連する細胞に対して細胞障害作用を発揮することがわかっている（Bollag ら、*Cancer Res.*, Vol. 55, No. 11, 2325-2333 (1995) を参照）。

【0003】

エポチロン A および B は、Hofle らによって初めて単離および特徴付けられたソランジウム・セルロスム（*Sorangium cellulosum*）によって産生される天然の抗癌剤である（DE 4 1 3 8 0 4 2；WO 9 3 / 1 0 1 2 1；*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* Vol. 35, No. 3/14, 1567-1569 (1996)；および *J. Antibiot.*, Vol. 49, No. 6, 560-563 (1996)）。その後、エポチロン A および B の全合成が、Balog ら、*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* Vol. 35, No. 23/24, 2801-2803, 1996；Meng ら、*J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 119, No. 42, 10073-10092 (1997)；Nicolaou ら、*J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 119, No. 34, 7974-7991 (1997)；Schinzer ら、*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* Vol. 36, No. 5, 523-524 (1997)；および Yang ら、*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, Vol. 36, No. 1/2, 166-168, 1997 によって刊行されている。WO 9 8 / 2 5 9 2 9 は、エポチロン A、エポチロン B、エポチロンのアナログおよびエポチロンアナログのライブラリーの化学合成法を開示している。エポチロン C、D、E および F の構造およびソランジウム・セルロスム DSM 6 7 7 3 からの産生が WO 9 8 / 2 2 4 6 1 に開示されている。図 1 は、WO 0 0 / 3 9 2 7 6 に記載されているように、アクチノミセス種株 SC 1 5 8 4 7（ATCC PT-1043）（その後、アミコラトプシス・オリエンタリス（*Amycolatopsis orientalis*）として同定された）におけるエポチロン B のエポチロン F へのバイオトランスフォーメーションの図解を示す。

20

30

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

シトクロム P 4 5 0 酵素は原核細胞および真核細胞において見出され、一酸化炭素と複合体を形成したときに 4 5 0 nm での吸収極大により区別することのできるヘム結合ドメインを共通して有する。シトクロム P 4 5 0 酵素は、芳香族およびベンジル環およびアルカンを含む主として疎水性の基質に対して広スペクトルの酸化反応を行う。原核細胞においては、シトクロム P 4 5 0 酵素は、解毒系として、およびトルエン、ベンゼンおよび樟脳などの基質を代謝する最初の酵素過程として見出されている。シトクロム P 4 5 0 遺伝子はまた、ストレプトミセス・テンダエ（*Streptomyces tendae*）における nikkomycin（Bruntnner, C. ら、1999, *Mol. Gen. Genet.* 262: 102-114）、ドキソルビシン（Dickens, M. L., Strohl, W. R., 1996, *J. Bacteriol.*, 178: 3389-3395）、およびソランジウム・セルロスムのエポチロン生合成クラスター（Julien, B. ら、2000, *Gene*, 249: 153-160）などの二次代謝産物の生合成経路で見出されている。幾つかの例外を除いて、原核生物におけるシトクロム P 4 5 0 系は 3 つのタンパク質、フェレドキシン NADH または NADPH 依存性レダクターゼ、鉄-硫黄フェレドキシンおよびシトクロム P 4 5 0 酵素からな

40

50

っている (Lewis, D. F., Hlavica, P., 2000, Biochim. Biophys. Acta., 1460: 353-374)。電子は分子状酸素の開裂のため、フェレドキシンレダクターゼからフェレドキシンへ、最終的にシトクロム P 4 5 0 酵素に輸送される。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明の目的は、エポチロン B ヒドロキシラーゼおよびその変異体または突然変異体をコードする単離核酸配列およびフェレドキシンまたはその変異体または突然変異体をコードする単離核酸配列を提供することである。

【0006】

本発明の他の目的は、エポチロン B ヒドロキシラーゼおよびその変異体または突然変異体のアミノ酸配列を含む単離ポリペプチドおよびフェレドキシンおよびその変異体または突然変異体のアミノ酸を含む単離ポリペプチドを提供することである。 10

【0007】

本発明の他の目的は、エポチロン B ヒドロキシラーゼのホモロジーモデルの構造座標を提供することである。構造座標は付表 1 に列挙してある。この本発明のモデルは、エポチロン B ヒドロキシラーゼの生物学的機能のモデュレーター並びに特異性の変化したエポチロン B ヒドロキシラーゼのさらなる突然変異体をデザインする手段を提供する。

【0008】

本発明の他の目的は、エポチロン B ヒドロキシラーゼまたはその変異体または突然変異体および／またはフェレドキシンまたはその変異体または突然変異体をコードする単離核酸配列を含むベクターを提供することである。好ましい態様において、これらベクターは、フェレドキシンをコードする核酸配列をさらに含む。 20

【0009】

本発明の他の目的は、エポチロン B ヒドロキシラーゼまたはその変異体または突然変異体および／またはフェレドキシンまたはその変異体または突然変異体をコードする単離核酸配列を含むベクターを含む宿主細胞を提供することである。

【0010】

本発明の他の目的は、末端アルキル基を有する化合物、とりわけエポチロンをヒドロキシル化して末端ヒドロキシアルキル基を有する化合物を生成することのできる組換え微生物の製造方法を提供することである。 30

【0011】

本発明の他の目的は、末端アルキル基を有する化合物、とりわけエポチロンをヒドロキシル化して末端ヒドロキシアルキル基を有する化合物を生成することのできる組換えにより生成した微生物を提供することである。

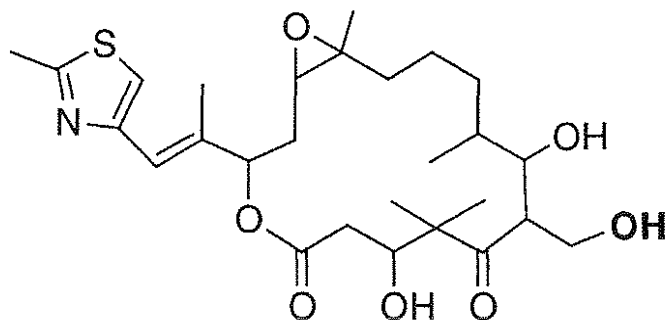
【0012】

本発明の他の目的は、これら組換え微生物において化合物をヒドロキシル化する方法を提供することである。とりわけ本発明は、ヒドロキシアルキル含有エポチロンの製造方法を提供するものであるが、該ヒドロキシアルキル含有エポチロンは、抗癌剤として、および他のエポチロンアナログの調製における出発物質として有用である。

【0013】

本発明の他の目的は、本明細書で 2 4 - O H エポチロン B または 2 4 - O H E p o B と称する、式 A : 40

【化 2】



10

で示される化合物、並びに式 A の化合物を含む組成物および該組成物の製造方法を提供することである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

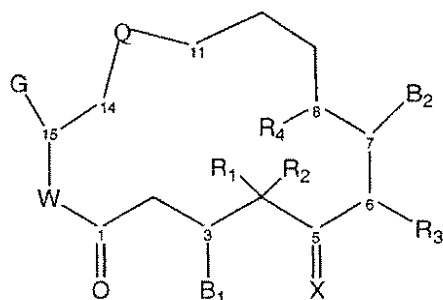
本発明は、単離核酸配列およびポリペプチドおよび末端炭素原子位置に所望の置換基を有する化合物を得る方法に関する。とりわけ本発明は、ヒドロキシアルキル含有エポチロンの組成物および製造方法を提供するものであるが、該ヒドロキシアルキル含有エポチロンは、抗癌剤として、および他のエポチロンアナログの調製における出発物質として有用である。

20

【0015】

本明細書において「エポチロン」とは、本明細書において定義するエポチロンコアと側鎖基とを含む化合物をいう。本明細書において「エポチロンコア」とは、コア構造（本明細書に用いた環系位置の番号付けを示す）：

【化 3】

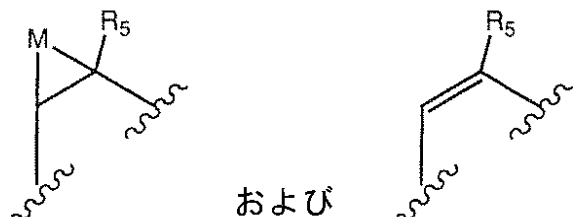


30

を含む残基をいい、上記式において置換基は以下のとおりである：

Q は、

【化 4】



40

よりなる群から選ばれる；

W は、O または NR_6 ；

X は、O、H および OR_7 よりなる群から選ばれる；

M は、O、S、 NR_8 、 CR_9 、 R_{10} ；

B_1 および B_2 は、 OR_{11} 、 OCOR_{12} よりなる群から選ばれる；

50

$R_1 - R_5$ および $R_{12} - R_{17}$ は、H、アルキル、置換アルキル、アリール、およびヘテロシクロよりなる群から選ばれ、 R_1 および R_2 がアルキルである場合はこれらは一緒になってシクロアルキルを形成することができる；

R_6 は、H、アルキル、および置換アルキルよりなる群から選ばれる；

R_7 および R_{11} は、H、アルキル、置換アルキル、トリアルキルシリル、アルキルジアリールシリルおよびジアルキルアリールシリルよりなる群から選ばれる；

R_8 は、H、アルキル、置換アルキル、 $R_{13} C=O$ 、 $R_{14} OC=O$ および $R_{15} SO_2$ よりなる群から選ばれる；および

R_9 および R_{10} は、H、ハロゲン、アルキル、置換アルキル、アリール、ヘテロシクロ、ヒドロキシ、 $R_{16} C=O$ 、および $R_{17} OC=O$ よりなる群から選ばれる。

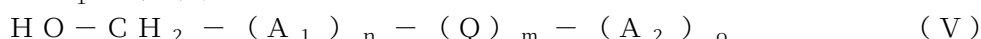
10

【0016】

「側鎖基」とは、エポチロンAまたはBについて上記で定義した置換基Gまたは以下に示す G_1 および G_2 をいう。

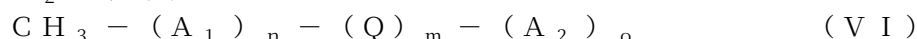
【0017】

G_1 は、下記式V：



であり、

G_2 は、下記式VI：



(上記式中、 A_1 および A_2 は、任意に置換された $C_1 - C_3$ アルキルおよびアルケニルよりなる群から独立に選ばれる；

20

Q は、1～3の環および少なくとも一つの環中に少なくとも一つの炭素-炭素二重結合を含む任意に置換された環であり；

n 、 m および o は、0 および 1 よりなる群から独立に選ばれた整数であり、 n 、 m または o の少なくとも一つが 1 である)

である。

【0018】

「末端炭素原子」または「末端アルキル基」とは、エポチロンコアに 15 位にて直接結合している残基の末端炭素原子または末端アルキル基あるいは 15 位に結合した側鎖基の末端炭素原子または末端アルキル基をいう。「アルキル基」は、本明細書に記載のアルキルおよび置換アルキルを包含することが理解されなければならない。

30

【0019】

「アルキル」とは、炭素数が 1～20、好ましくは炭素数が 1～7 の、任意に置換された直鎖または分枝鎖の飽和炭化水素基をいう。「低級アルキル」なる語は、炭素数 1～4 の任意に置換されたアルキル基をいう。

【0020】

「置換アルキル」とは、たとえば、ハロ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ヒドロキシ、アルコキシ、シクロアルキルオキシ、ヘテロシクロオキシ、オキソ、アルカノイル、アリールオキシ、アルカノイルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アラルキルアミノ、シクロアルキルアミノ、ヘテロシクロアミノ、二置換アミン（二つのアミノ置換基はアルキル、アリールまたはアラルキルから選ばれる）、アルカノイルアミノ、アロイルアミノ、アラルカノイルアミノ、置換アルカノイルアミノ、置換アリールアミノ、置換アラルカノイルアミノ、チオール、アルキルチオ、アリールチオ、アラルキルチオ、シクロアルキルチオ、ヘテロシクロチオ、アルキルチオノ、アリールチオノ、アラルキルチオノ、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、スルホンアミド（たとえば、 SO_2NH_2 ）、置換スルホンアミド、ニトロ、シアノ、カルボキシ、カルバミル（たとえば、 $CONH_2$ ）、置換カルバミル（たとえば、 $CONH$ アルキル、 $CONH$ アリール、 $CONH$ アラルキル、または窒素原子上にアルキル、アリールまたはアラルキルから選ばれる 2 つの置換基が存在する場合）、アルコキシカルボニル、アリール、置換アリール、グアニジノおよびヘテロシクロ（たとえば、インドリル

40

50

、イミダゾリル、フリル、チエニル、チアゾリル、ピロリジル、ピリジル、ピリミジルなど)などの1ないし4の置換基で置換されたアルキル基をいう。上記において置換基がさらに置換されている場合、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、アリールまたはアラルキルで置換されているであろう。

【0021】

本発明の一つの側面によれば、末端アルキル基を有するエポチロンをヒドロキシ化して末端ヒドロキシアルキル基を有するエポチロンを生成できる酵素であるエポチロンBヒドロキシラーゼをコードする単離ポリヌクレオチドが提供される。

【0022】

本発明の他の側面によれば、エポチロンBヒドロキシラーゼ遺伝子の下流に位置する遺伝子であるフェレドキシンをコードする単離ポリヌクレオチドが提供される。フェレドキシンは、シトクロムP450系のタンパク質である。

【0023】

本明細書において使用する「ポリヌクレオチド」とは、これら酵素またはその活性断片をコードするあらゆる形態のDNAまたはRNA、たとえば、それぞれcDNAまたはゲノムDNAまたはmRNAを包含することを意味し、かかるポリヌクレオチドはクローニングにより得られ、またはよく知られた化学的方法により合成して製造される。DNAは二本鎖であっても一本鎖であってもよい。一本鎖DNAは、コードすなわちセンス鎖かまたは非コードすなわちアンチセンス鎖のいずれを含んでいてもよい。それゆえ、ポリヌクレオチドなる語はまた、本明細書に開示する配列に対して少なくとも60%またはそれ以上、好ましくは少なくとも80%のホモロジーを示し、上記ポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドをも包含する。本明細書において「ストリンジェントな条件」なる語は、2×SSC緩衝液で60℃でのハイブリダイゼーション条件を意味する。さらに好ましいのは、配列番号1、30、32、34、36、37、38、39、40、41、42、60、62、64、66、68、70、72または74または配列番号3に示す核酸配列に、または配列番号1、30、32、34、36、37、38、39、40、41、42、60、62、64、66、68、70、72または74または配列番号3に示す核酸配列の相補的配列に65℃にて3×SSCのハイブリダイゼーション条件下で16時間ハイブリダイズすることができ、かつ配列番号1、30、32、34、36、37、38、39、40、41、42、60、62、64、66、68、70、72または74または配列番号3に示す核酸配列に、または配列番号1、30、32、34、36、37、38、39、40、41、42、60、62、64、66、68、70、72または74または配列番号3に示す核酸配列の相補的配列に55℃での0.5×SSCの洗浄条件下で30分間、ハイブリダイズしたままであることができる単離核酸である。

【0024】

一つの態様において、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号1に示すゲノムDNAまたはその相同配列またはこのエポチロンBヒドロキシラーゼと同様の活性を有するポリペプチドをコードするその断片を含む。あるいは、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号3に示すゲノムDNAまたはその相同配列またはこのフェレドキシンと同様の活性を有するポリペプチドをコードするその断片を含んでよい。遺伝暗号の縮重のため、本発明のポリヌクレオチドはまた、この酵素およびその誘導体、変異体または活性な断片をコードする他の核酸配列をも包含する。

【0025】

本発明はまた、天然に存在する、すなわちアミコラトプシス・オリエンタリスおよびアミコラタ・オートロフィカ(Amicolata autorophica)などの微生物に、または核酸を単離することのできる土または他の採取源に存在するこれらポリヌクレオチドの変異体、またはよく知られた突然変異誘発法により調製した突然変異体にも関する。本発明の変異体の例示は配列番号36～42に示してある。

【0026】

本明細書において使用する「突然変異体」とは、配列番号1または配列番号3と比べて1またはそれ以上の点変異、または欠失または核酸の付加を有するが、配列番号1または配列番号3によってコードされるポリペプチドと同様の活性を有するポリペプチドまたは断片をコードしている核酸配列を含むことを意味する。好ましい態様において、基質特異性および／または酵素の収率の変化した突然変異体が製造される。エポチロンBヒドロキシラーゼ遺伝子に関して突然変異の好ましい領域は、該酵素の活性部位を含む約113アミノ酸をコードする核酸配列の領域である。配列番号1のアミノ酸位置G L U 3 1、A R G 6 7、A R G 8 8、I L E 9 2、A L A 9 3、V A L 1 0 6、I L E 1 3 0、A L A 1 4 0、M E T 1 7 6、P H E 1 9 0、G L U 2 3 1、S E R 2 9 4、P H E 2 3 7、またはI L E 3 6 5に少なくとも一つのアミノ酸置換を有するポリペプチドをコードする突然変異体もまた好ましい。本発明のポリヌクレオチド突然変異体の例示を、配列番号30、32、34、60、62、64、66、68、70、72および74に示してある。

10

【0027】

エポチロンBヒドロキシラーゼをコードする配列番号1の核酸配列のクローニングを、細菌からの6つのシトクロムP450遺伝子の核酸配列をアラインメントすることによりデザインしたPCRプライマーを用いて行った。以下のシトクロムP450遺伝子をアラインメントした：

配列1：遺伝子座：S T M S U A C B；受け入れ番号：M 3 2 2 3 8；文献：Omer, C. A., J. Bacteriol. 172: 3335-3345 (1990)

配列2：遺伝子座：S T M S U B C B；受け入れ番号：M 3 2 2 3 9；文献：Omer, C. A., J. Bacteriol. 172: 3335-3345 (1990)

20

配列3：遺伝子座：A B O 1 8 0 7 4（以前はS T M O R F A）；受け入れ番号：A B O 1 8 0 7 4；文献：Ueda, K., J. Antibiot. 48: 638-646 (1995)

配列4：遺伝子座：S S U 6 5 9 4 0；受け入れ番号：U 6 5 9 4 0；文献：Motamedi, H., J. Bacteriol. 178: 5243-5248 (1996)

配列5：遺伝子座：S T M O L E P；受け入れ番号：L 3 7 2 0 0；文献：Rodriguez, A. M., FEMS Microbiol. Lett. 127: 117-120 (1995)

配列6：遺伝子座：S E R C P 4 5 0 A；受け入れ番号：M 8 3 1 1 0；文献：Andersen, J. F.およびHutchinson, C. R., J. Bacteriol. 174: 725-735 (1992)。

【0028】

Scientific and Educational Software（ダラム、ノースカロライナ、米国）からの整列（Align）プログラムであるMyers, E. W.およびW. Miller. 1988. CABIOS 4:1, 11-17のアルゴリズムの実行によりアラインメントを行った。I-ヘリックス（酸素結合ドメインを含む）中、K-ヘリックス中、および保存されたヘム結合ドメインを含むB-バルジとL-ヘリックスとのスパニング中に3つの高度に保存された領域が同定された。アラインメントで同定された3つの保存領域に対してプライマーをデザインした。プライマーのP450-1⁺（配列番号23）およびP450-1a⁺（配列番号24）はIヘリックスからデザインし、プライマーのP450-2⁺（配列番号25）はB-バルジおよびL-ヘリックス領域からデザインし、プライマーのP450-3⁻（配列番号27）はヘム結合タンパク質に対する逆相補鎖としてデザインした。

30

40

【0029】

ついで、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によりゲノム断片を増幅した。PCR増幅の後、反応生成物をゲル電気泳動により分離し、予期したサイズの断片を切り出した。Qiaquickゲル抽出法（Qiagen、サンタクラリタ、カリフォルニア、米国）を用いてアガロースゲルスライスからDNAを抽出した。ついで、PCRscript Ampクローニングキット（Stratagene、ラジョラ、カリフォルニア、米国）を用い、断片をPCRscriptベクター（Stratagene）にクローニングした。挿入物を含むコロニーを、100 μg/mlのアンプシリンを含む1~2 mlのLBブロスに30~37℃にて16~24時間、230~300 rpmで選び取った。Mo Bioミニプラスミドプレップキット（Mo Bio、ソラノビーチ、カリフォルニア、米国）を用いてプラスミドの単離を行った。このプラスミドDNAをPCRおよび

50

シーケンシングの鋳型として、および制限消化分析のために用いた。

【0030】

クローニングしたPCR産物を、Applied Biosystems（フォスターシティ、カリフォルニア、米国）からのBig-Dyeシーケンシングキットを用いてシーケンシングし、ABI 310シーケンサー（Applied Biosystems、フォスターシティ、カリフォルニア、米国）を用いて分析した。非重複（non-redundant）タンパク質データベースのAltschul, S. F.ら、*Mol. Biol.* 215: 403-410 (1990)のプロトコルを用い、挿入物の配列を用いてTblastXサーチを行った。既知のP450タンパク質に有意の類似性を有する独特の配列が保持された。このアプローチを用い、全部で9つの異なるP450配列がSC15847から、7つがゲノムDNA鋳型から、および2つがcDNAから同定された。2つのP450配列が該DNAおよびcDNA鋳型でともに見出された。分析した50のcDNAクローンのうち、2つの配列が優勢であり、それぞれ20クローンであった。ついで、これら2つの遺伝子をゲノムDNAからクローニングした。

【0031】

ゲノムDNAの核酸配列をBig-Dyeシーケンシングシステム（Applied Biosystems）を用いて決定し、ABI310シーケンサーを用いて分析した。この配列を配列番号1に示す。404アミノ酸で予想分子量が44.7kDaのタンパク質をコードするオープンリーディングフレームがクローニングしたBglII断片内に認められた。このポリペプチドの推定アミノ酸配列を配列番号2に示す。このポリペプチドのアミノ酸配列は、ストレプトミセス・テンダエのNikFタンパク質（Bruntner, C.ら、1999, *Mol. Gen. Genet.* 262: 102-114）と51%の同一性を、ストレプトミセス・カーボフィルス（*S. carbophilus*）のScA-2タンパク質（Watanabe, I.ら、1995, *Gene* 163: 81-85）と48%の同一性を有することがわかった。これら両酵素ともにシトクロムP450ファミリー105に属する。すべてのシトクロムP450酵素のヘム結合ドメインに認められる不変のシステインは、残基356に見出される。このエポチロンBの遺伝子をebhと命名した。64アミノ酸の推定フェレドキシン遺伝子のATG開始コドンは、ebhの停止コドンの9塩基対下流に見出される。この酵素は、ストレプトミセス・グリセオウルス（*S. griseolus*）のフェレドキシン遺伝子（O'Keefe, D. P.ら、1991, *Biochemistry* 30: 447-455）およびストレプトミセス・ノウルセイ（*S. noursei*）のフェレドキシン遺伝子（Brautaset, T.ら、2000, *Chem. Biol.* 7: 395-403）と50%の同一性を有することがわかった。このフェレドキシンをコードする核酸配列を配列番号3に示してあり、このフェレドキシンポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号4に示してある。

【0032】

ebh遺伝子配列はまた、他の微生物から変異体のシトクロムP450遺伝子を単離するのにも用いた。本発明の例示的変異体ポリヌクレオチドであるebh43491、ebh14930、ebh53630、ebh53550、ebh39444、ebh43333およびebh35165をそれらを単離した種とともに下記表1に示す。これら変異体の核酸配列は、配列番号36～42にそれぞれ示してある。

【0033】

表1：変異体ポリヌクレオチド

ATCC ID	種	ebh 遺伝子の表示
43491	<u>アミコラトプシス・オリエンタリス</u>	ebh43491
14930	<u>アミコラトプシス・オリエンタリス</u>	ebh14930
53630	<u>アミコラトプシス・オリエンタリス</u>	ebh53630
53550	<u>アミコラトプシス・オリエンタリス</u>	ebh53550
39444	<u>アミコラトプシス・オリエンタリス</u>	ebh39444
43333	<u>アミコラトプシス・オリエンタリス</u>	ebh43333
35165	<u>アミコラトプシス・オリエンタリス</u>	ebh35165

【0034】

例示的変異体である *ebh* 43491、*ebh* 14930、*ebh* 53630、*ebh* 53550、*ebh* 39444、*ebh* 43333 および *ebh* 35165 によってコードされるアミノ酸配列は、配列番号 43～49 にそれぞれ示してある。表 2 は、これら例示的変異体のアミノ酸置換の要約を示す。

【0035】

表 2：アミノ酸置換

【表 1】

位置	<i>ebh</i>	置換	<i>ebh</i> 変異体
100	Gly	Ser	<i>ebh</i> 14930, <i>ebh</i> 43333, <i>ebh</i> 53550, <i>ebh</i> 43491
101	Lys	Arg	<i>ebh</i> 14930
130	Ile	Leu	<i>ebh</i> 14930
192	Ser	Gln	<i>ebh</i> 14930
224	Ser	Thr	<i>ebh</i> 14930, <i>ebh</i> 43333, <i>ebh</i> 53550, <i>ebh</i> 43491
285	Ile	Val	<i>ebh</i> 14930, <i>ebh</i> 43333, <i>ebh</i> 53550, <i>ebh</i> 43491
69	Ser	Asn	<i>ebh</i> 43333
256	Val	Ala	<i>ebh</i> 43333, <i>ebh</i> 53550, <i>ebh</i> 43491
93	Ala	Ser	<i>ebh</i> 53550
326	Asp	Glu	<i>ebh</i> 53550, <i>ebh</i> 43491
333	Thr	Ala	<i>ebh</i> 53550, <i>ebh</i> 43491
133	Leu	Met	<i>ebh</i> 43491
398	His	Arg	<i>ebh</i> 39444

10

20

【0036】

また、*ebh* 遺伝子のコード領域に突然変異を導入して、改善された収率、および／またはバイオコンバージョンの速度、および／または変化した基質特異性を有する突然変異体を同定した。本発明の例示的な突然変異体の核酸配列を配列番号 30、32、34、60、62、64、66、68、70、72 および 74 に示す。

【0037】

配列番号 30 の核酸配列は突然変異体 *ebh* 25-1 をコードし、この突然変異体は変化した基質特異性を示す。この突然変異遺伝子を含むプラスミド pANT849*ebh* 25-1 を寄託してあり、ブダペスト条約の規定のもと、国際寄託当局により受託されている。寄託は、2002 年 11 月 ____ 日にアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（10801、ユニバーシティー・オブ・マナサス、バージニア 20110-2209）に対して行った。ATCC 受託番号は、____ である。このプラスミドへの公的アクセスに対するすべての制限は、この特許出願が特許されると直ちに變更不能に解除されるであろう。寄託は、寄託日後の 30 年間の期間または最近の試料請求後の 5 年間または特許の有効期間のうちいずれか長い期間、公的寄託機関で維持されるであろう。上記プラスミドは、寄託のときには生存していた。寄託は、寄託機関によって生きた試料を分与することができないときには置き換えられるであろう。

30

【0038】

突然変異 25 のスクリーニング（プライマー NPB29-*mut*25f（配列番号 58）および NPB29-*mut*25r（配列番号 59））の際に同定されたこのストレプトミセス・リビダンス（*S. lividans*）形質転換体は、エポチロン B またはエポチロン F とは HPLC 溶出時間が異なる産物を生成することがわかった。この未知の試料を LC-MS により分析したところ、分子量が 523（M.W.）であることがわかったが、これはエポチロン B の単一のヒドロキシル化と一致していた。プラスミド DNA をストレプトミセス・リビダンスの培養液から単離し、プライマー NPB29-6f（配列番号 28）および NPB29-7r（配列番号 29）を用いた PCR 増幅の鋳型として用いた（実施例 17 参照）。予期された断片が得られ、Big-Dye シークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。*ebh* 25-1 突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となる

40

50

2つの突然変異を有することがわかった（アスパラギン195がセリンに変わり、セリン294がプロリンに変わる）。コドン238で突然変異のためにターゲティングした位置は2つのヌクレオチド変化をもたらすことがわかったが、これはタンパク質のアミノ酸配列の変化という結果とはならなかった。配列番号30によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号31に示す。

【0039】

配列番号32の核酸配列は、突然変異体ebh10-53（改善されたバイオコンバージョン収率を示す）をコードする。突然変異10のスクリーニング（プライマーNPB29-mut10f（配列番号54）およびNPB29-mut10r（配列番号55））の際に同定されたこのストレプトミセス・リビダンス形質転換体は、エポチロンFの一層高い収率をもたらした。プラスミドDNAをストレプトミセス・リビダンスの培養液から単離し、プライマーNPB29-6f（配列番号28）およびNPB29-7r（配列番号29）を用いたPCR増幅の鋳型として用いた（実施例16参照）。予期された断片が得られ、Big-Dyeシークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。ebh10-53突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となる2つの突然変異を有することがわかった（グルタミン酸231がアルギニンに変わり、フェニルアラニン190がチロシンに変わる）。位置231が突然変異誘発の標的であったが、残基190での変化は偶然の変化であり、突然変異誘発法の人工産物である。配列番号32によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号33に示す。

10

【0040】

配列番号34の核酸配列は、突然変異体ebh24-16（これも改善されたバイオコンバージョン収率を示す）をコードする。突然変異24のスクリーニング（プライマーNPB29-mut24f（配列番号56）およびNPB29-mut24r（配列番号57））の際に同定されたこのストレプトミセス・リビダンス形質転換体ebh24-16もまた、エポチロンFの一層高い収率をもたらした。プラスミドDNAをストレプトミセス・リビダンスの培養液から単離し、プライマーNPB29-6f（配列番号28）およびNPB29-7r（配列番号29）を用いたPCR増幅の鋳型として用いた。予期された断片が得られ、Big-Dyeシークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。ebh24-16突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となる2つの突然変異を有することがわかった（フェニルアラニン237がアラニンに変わり、イソロイシン92がバリンに変わる）。位置237が突然変異誘発の標的であったが、残基92での変化は偶然の変化であり、突然変異誘発法の人工産物である。配列番号34によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号35に示す。

20

30

【0041】

配列番号60の核酸配列は、突然変異体ebh24-16d8（これも改善されたバイオコンバージョン収率を示す）をコードする。突然変異59のスクリーニング（プライマーNPB29-mut59（配列番号77））の際に同定されたこのストレプトミセス・リモス（*S. rimosus*）形質転換体ebh24-16d8もまた、エポチロンFの一層高い収率をもたらした。プラスミドDNAをストレプトミセス・リモスの培養液から単離し、プライマーNPB29-6f（配列番号28）およびNPB29-7r（配列番号29）を用いたPCR増幅の鋳型として用いた。予期された断片が得られ、Big-Dyeシークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。ebh24-16d8突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となる1つの突然変異を有することがわかった（アルギニン67がグルタミンに変わる）。この変化は、突然変異誘発法の人工産物である。配列番号60によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号61に示す。

40

【0042】

配列番号62の核酸配列は、突然変異体ebh24-16c11（これも改善されたバイオコンバージョン収率を示す）をコードする。突然変異59のスクリーニング（プライマーNPB29-mut59（配列番号77））の際に同定されたこのストレプトミセス・

50

リモスス形質転換体 e b h 2 4 - 1 6 c 1 1 もまた、エポチロン F の一層高い収率をもたらした。プラスミド DNA をストレプトミセス・リモススの培養液から単離し、プライマー N P B 2 9 - 6 f (配列番号 2 8) および N P B 2 9 - 7 r (配列番号 2 9) を用いた P C R 増幅の鋳型として用いた。予期された断片が得られ、Big-Dye シークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。e b h 2 4 - 1 6 c 1 1 突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となるさらに 2 つの突然変異を有することがわかった (アラニン 9 3 がグリシンに変わり、イソロイシン 3 6 5 がトレオニンに変わる) 。位置 9 3 が突然変異誘発の標的であったが、3 6 5 での変化は突然変異誘発法の人工産物である。配列番号 6 2 によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号 6 3 に示す。

10

【 0 0 4 3 】

配列番号 6 4 の核酸配列は、突然変異体 e b h 2 4 - 1 6 - 1 6 (これも改善されたバイオコンバージョン収率を示す) をコードする。e b h 2 4 - 1 6 のランダム突然変異体のスクリーニングの際に同定されたこのストレプトミセス・リモスス形質転換体 e b h 2 4 - 1 6 - 1 6 もまた、エポチロン F の一層高い収率をもたらした。プラスミド DNA をストレプトミセス・リモススの培養液から単離し、プライマー N P B 2 9 - 6 f (配列番号 2 8) および N P B 2 9 - 7 r (配列番号 2 9) を用いた P C R 増幅の鋳型として用いた。予期された断片が得られ、Big-Dye シークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。e b h 2 4 - 1 6 - 1 6 突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となるさらに 1 つの突然変異を有することがわかった (バリン 1 0 6 がアラニンに変わる) 。配列番号 6 4 によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号 6 5 に示す。

20

【 0 0 4 4 】

配列番号 6 6 の核酸配列は、突然変異体 e b h 2 4 - 1 6 - 7 4 (これも改善されたバイオコンバージョン収率を示す) をコードする。e b h 2 4 - 1 6 のランダム突然変異体のスクリーニングの際に同定されたこのストレプトミセス・リモスス形質転換体 e b h 2 4 - 1 6 - 7 4 もまた、エポチロン F の一層高い収率をもたらした。プラスミド DNA をストレプトミセス・リモススの培養液から単離し、プライマー N P B 2 9 - 6 f (配列番号 2 8) および N P B 2 9 - 7 r (配列番号 2 9) を用いた P C R 増幅の鋳型として用いた。予期された断片が得られ、Big-Dye シークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。e b h 2 4 - 1 6 - 7 4 突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となるさらに 1 つの突然変異を有することがわかった (アルギニン 8 8 がヒスチジンに変わる) 。配列番号 6 6 によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号 6 7 に示す。

30

【 0 0 4 5 】

配列番号 6 8 の核酸配列は、突然変異体 e b h 2 4 - M 1 8 (これも改善されたバイオコンバージョン収率を示す) をコードする。e b h のランダム突然変異体のスクリーニングの際に同定されたこのストレプトミセス・リモスス形質転換体 e b h M - 1 8 もまた、エポチロン F の一層高い収率をもたらした。プラスミド DNA をストレプトミセス・リモススの培養液から単離し、プライマー N P B 2 9 - 6 f (配列番号 2 8) および N P B 2 9 - 7 r (配列番号 2 9) を用いた P C R 増幅の鋳型として用いた。予期された断片が得られ、Big-Dye シークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。e b h M - 1 8 突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となる 2 つの突然変異を有することがわかった (グルタミン酸 3 1 がリシンに変わり、メチオニン 1 7 6 がバリンに変わる) 。配列番号 6 8 によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号 6 9 に示す。

40

【 0 0 4 6 】

配列番号 7 2 の核酸配列は、突然変異体 e b h 2 4 - 1 6 g 8 (これも改善されたバイオコンバージョン収率を示す) をコードする。突然変異 5 0 のスクリーニング (プライマー N P B 2 9 m u t 5 0 (配列番号 7 8)) の際に同定されたこのストレプトミセス・リ

50

モスス形質転換体 e b h 2 4 - 1 6 g 8 もまた、エポチロン F の一層高い収率をもたらした。プラスミド DNA をストレプトミセス・リモススの培養液から単離し、プライマー N P B 2 9 - 6 f (配列番号 2 8) および N P B 2 9 - 7 r (配列番号 2 9) を用いた P C R 増幅の鋳型として用いた。予期された断片が得られ、Big-Dye シークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。e b h 2 4 - 1 6 g 8 突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となるさらに 2 つの突然変異を有することがわかった (メチオニン 1 7 6 がアラニンに変わり、イソロイシン 1 3 0 がトレオニンに変わる) 。位置 1 7 6 が突然変異誘発の標的であったが、1 3 0 での変化は突然変異誘発法の人工産物である。配列番号 7 2 によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号 7 3 に示す。

10

【 0 0 4 7 】

配列番号 7 4 の核酸配列は、突然変異体 e b h 2 4 - 1 6 b 9 (これも改善されたバイオコンバージョン収率を示す) をコードする。突然変異 5 0 のスクリーニング (プライマー N P B 2 9 m u t 5 0 (配列番号 7 8)) の際に同定されたこのストレプトミセス・リモスス形質転換体 e b h 2 4 - 1 6 b 9 もまた、エポチロン F の一層高い収率をもたらした。プラスミド DNA をストレプトミセス・リモススの培養液から単離し、プライマー N P B 2 9 - 6 f (配列番号 2 8) および N P B 2 9 - 7 r (配列番号 2 9) を用いた P C R 増幅の鋳型として用いた。予期された断片が得られ、Big-Dye シークエンシングシステムを用いてシークエンシングした。e b h 2 4 - 1 6 b 9 突然変異体は、タンパク質のアミノ酸配列の変化となるさらに 2 つの突然変異を有することがわかった (メチオニン 1 7 6 がセリンに変わり、アラニン 1 4 0 がトレオニンに変わる) 。位置 1 7 6 が突然変異誘発の標的であったが、1 4 0 での変化は突然変異誘発法の人工産物である。配列番号 7 4 によってコードされる突然変異体ポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号 7 5 に示す。

20

【 0 0 4 8 】

これら 9 つの突然変異体遺伝子のプラスミド p A N T 8 4 9 e b h - 2 4 - 1 6 、 p A N T 8 4 9 e b h - 1 0 - 5 3 、 p A N T 8 4 9 e b h - 2 4 - 1 6 d 8 、 p A N T 8 4 9 e b h - 2 4 - 1 6 c 1 1 、 p A N T 8 4 9 e b h - 1 6 - 1 6 、 p A N T 8 4 9 e b h - 2 4 - 1 6 - 7 4 、 p A N T 8 4 9 e b h - 2 4 - 1 6 b 9 、 p A N T 8 4 9 e b h - M 1 8 および p A N T 8 4 9 e b h - 2 4 - 1 6 g 8 からなる混合物を寄託しており、ブダベスト条約の規定のもと、国際寄託当局により受託されている。寄託は、2 0 0 2 年 1 1 月 ____ 日にアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション (1 0 8 0 1 、ユニバーシティーブールバール、マナサス、バージニア 2 0 1 1 0 - 2 2 0 9) に対して行った。A T C C 受託番号は、____ である。このプラスミドへの公的アクセスに対するすべての制限は、この特許出願が特許されると直ちに變更不能に解除されるであろう。寄託は、寄託日後の 3 0 年間の期間または最近の試料請求後の 5 年間または特許の有効期間のうちいずれか長い期間、公的寄託機関で維持されるであろう。上記プラスミドは、寄託のときには生存していた。寄託は、寄託機関によって生きた試料を分与することができないときには置き換えられるであろう。

30

【 0 0 4 9 】

それゆえ、本発明の他の側面によれば、エポチロン B ヒドロキシラーゼおよびその変異体および突然変異体の単離ポリペプチドおよびフェレドキシンまたはその変異体の単離ポリペプチドが提供される。本発明の一つの態様において、「ポリペプチド」は配列番号 2 のアミノ酸配列、およびこのエポチロン B ヒドロキシラーゼと本質的に同じ生物学的活性および／または機能を保持した断片または変異体を含むことを意味する。本発明の他の態様において、「ポリペプチド」は配列番号 4 のアミノ酸配列、およびこのフェレドキシンと本質的に同じ生物学的活性および／または機能を保持した断片または変異体を含むことを意味する。

40

【 0 0 5 0 】

本明細書において「変異体」とは、配列番号 2 または 4 と比較して保存的なアミノ酸置換のあるアミノ酸配列を有し、配列番号 2 または 4 と同じ生物学的活性および／または機

50

能を示すことが証明されたポリペプチドを含むことを意味する。「保存的なアミノ酸置換」とは、脂肪族アミノ酸 (A l a、V a l、L e u および I l e など)、ヒドロキシル残基 S e r および T h r、酸性残基 A s p および G l u、およびアミド残基 A s n および G l n のうちのあるアミノ酸を別のアミノ酸で置き換えることを含むことを意味する。本発明の例示的な変異体のアミノ酸配列は配列番号 43～49 に示してあり、これら例示的な変異体のアミノ酸置換は上記の表 2 に記載してある。

【0051】

本明細書において「突然変異体」とは、配列番号 1 または 3 と比較して核酸の 1 またはそれ以上の点変異、または欠失または付加を有する核酸配列によってコードされているが、配列番号 1 または 3 によってコードされたポリペプチドと同様の活性を依然として有するポリペプチドを含むことを意味する。好ましい態様において、基質特異性および／またはそれによってコードされるポリペプチドからの収率を変えるような突然変異を核酸に生じさせる。エポチロン B ヒドロキシラーゼ遺伝子に関して突然変異の好ましい領域は、該酵素の活性部位を含む約 113 アミノ酸残基をコードする核酸配列の領域である。同様に好ましいのは、配列番号 1 のアミノ酸位置 G L U 31、A R G 67、A R G 88、I L E 92、A L A 93、V A L 106、I L E 130、A L A 140、M E T 176、P H E 190、G L U 231、S E R 294、P H E 237、または I L E 365 に少なくとも一つのアミノ酸置換を有する突然変異である。本発明の例示的な突然変異体 e b h 25-1、e b h 10-53、e b h 24-16、e b h 24-16d8、e b h 24-16c11、e b h 24-16-16、e b h 24-16-74、e b h 24-16g8、e b h 24-16b9、およびそのような突然変異体をコードする核酸配列を、それぞれ配列番号 31、33、35、61、63、65、67、69、71、73 および 75、および配列番号 30、32、34、60、62、64、66、68、70、72 および 74 に示す。

【0052】

エポチロン B ヒドロキシラーゼの三次元モデルもまた、相同タンパク質である E r y F (PDBコード 1 K I N 鎖 A) の既知構造に基づき、Greer ら (Comparative modeling of homologous proteins. Methods In Enzymology 202239-52, 1991)、Lesk ら (Homology Modeling: Inferences from Tables of Aligned Sequences. Curr. Op. Struc. Biol. (2) 242-247, 1992)、および Cardozo ら (Homology modeling by the ICM method. Protein s 23, 403-14, 1995) の一般的教示に従って構築した。これら配列のホモロジーは 34% である。エポチロン B ヒドロキシラーゼの配列 (配列番号 2) と E r y F の配列 (PDBコード 1 K I N 鎖 A; 配列番号 76) とのアラインメントを図 3 に示す。E r y F との配列アラインメントに基づくエポチロン B ヒドロキシラーゼのホモロジーモデルを図 4 に示す。

【0053】

E r y F (PDBコード 1 J I N) と対比したエポチロン B ヒドロキシラーゼモデルのエネルギープロットも作製し、図 5 に示す。51 残基の平均ウインドウサイズをある残基位置で用いて、該残基を中央位置とした配列にある 51 残基のエネルギーの平均を計算した。図 5 に示すように、配列に沿ったすべてのエネルギーは 0 未満であり、図 4 および付表 1 に示すモデル構造が妥当であることを示していた。

【0054】

図 4 のエポチロン B ヒドロキシラーゼのホモロジーモデルに示す三次元構造は、付表 1 に示す構造座標によって定められる。「構造座標」とは、ホモロジーモデルの構築から生成したデカルト座標をいう。しかしながら、当業者には理解されるであろうように、あるタンパク質についての構造座標のセットは三次元での形状を定める点の相対的なセットである。それゆえ、全く異なる座標のセットが同様のまたは同一の形状を定め得ることがありうる。さらに、異なるアラインメント鋳型を用いおよび／またはホモロジーモデルを生成する際に異なる方法を用いた同様のホモロジーモデルの生成から生じるように、個々の座標の些細な変化は全体の形状にはわずかな影響しか及ぼさないであろう。座標における

10

20

30

40

50

変化はまた、構造座標の数学的操作ゆえにも生じる。たとえば、付表1に示す構造座標は、構造座標の細分化 (fractionalization)、構造座標のセットへの整数の加法または減法、構造座標の反転またはこれらの組み合わせによって操作することができるであろう。

【0055】

それゆえ、ある分子またはその一部が上記エポチロンBヒドロキシラーゼの全体または一部と同じと考えられるほどに十分に類似しているか否かを決定するために種々のコンピューター分析が必要である。そのような分析は、SYBYLバージョン6.7またはINSIGHTII (Molecular Simulations Inc.、サンジエゴ、カリフォルニア) バージョン2000などの現行のソフトウェアアプリケーションで添付の使用者仕様の記載に従って行うことができる。

10

【0056】

たとえば、プログラムSYBYLの重ね合わせツールは、異なる構造間および同じ構造の異なるコンホメーション間での比較を可能にする。SYBYLに用いられた構造を比較するための手順は4つのステップに分けられる：(1) 比較すべき構造をローディングする；(2) これら構造における原子の等価性を定める；(3) 適合操作を行う；ついで(4) 結果を分析する。各構造を名称により確認する。一つの構造を標的 (すなわち、固定した構造) とし、第二の構造 (すなわち、移動させる構造) をソース構造とする。SYBYL内での原子の等価性は使用者の入力によって定められるので、本発明のこの側面の目的のためには、等価な原子は比較した2つの構造間のすべての保存された残基についてのタンパク質骨格原子 (N、C α 、CおよびO) として定めることにする。さらに、リジッドな適合操作のみを考慮する。リジッドな適合法を使用する場合は、作業している構造を平行移動させ、回転させて標的構造との最適の適合が得られるようにする。適合操作は、等価な原子の特定したペアの適合の二乗平均差が絶対的な最小値となるよう、移動させる構造に適用すべき最適の平行移動および回転を計算するアルゴリズムを用いる。この数字 (オングストロームで与えられる) はSYBYLにより報告されている。

20

【0057】

本発明の目的のためには、付表1に列挙した構造座標によって記載された対応骨格原子上で重ね合わせたときに、保存された残基骨格原子 (N、C α 、CおよびO) の二乗平均偏差が約4.0オングストローム未満であるエポチロンBヒドロキシラーゼのホモロジーモデルはすべて同一であると考えられる。さらに好ましくは、二乗平均偏差は約3.0オングストローム未満である。さらに好ましくは、二乗平均偏差は約2.0オングストローム未満である。

30

【0058】

本発明の目的のためには、付表1に列挙した構造座標によって記載された対応骨格原子上で重ね合わせたときに、保存された残基骨格原子 (N、C α 、CおよびO) の二乗平均偏差が約2.0オングストローム未満であるエポチロンBヒドロキシラーゼのホモロジーモデルはすべて同一であると考えられる。さらに好ましくは、二乗平均偏差は約1.0オングストローム未満である。

【0059】

本発明の他の態様において、骨格原子が他の元素で置換され、対応の骨格原子上で重ね合わせたときに低い二乗平均偏差を有する構造モデルは同一であると考えられる。たとえば、もとの骨格炭素原子、および／または窒素原子、および／または酸素原子が他の元素で置換されており、付表1に列記する構造座標によって記載された対応の骨格原子上で重ね合わせたときに約4.0オングストローム、好ましくは約3.0オングストローム、さらに一層好ましくは約2オングストローム未満の二乗平均偏差を有するホモロジーモデルは同一であると考えられる。

40

【0060】

「二乗平均偏差」とは、平均からの偏差の二乗の算術平均の平方根を意味する。それは、トレンドまたは対象からの偏差または変異を表現するための一つの方法である。本発明の目的のためには、「二乗平均偏差」は、本明細書に記載した構造座標によって定められ

50

る複合体のエポチロンBヒドロキシラーゼ部分の骨格の関連部分からのタンパク質の骨格の変異を定める。

【0061】

本発明は、ホモロジーモデルによって具体化されるように、エポチロンBヒドロキシラーゼのさらなる突然変異体の構造ベースのデザインを可能にする。たとえば、本発明のホモロジーモデルを用い、エポチロンBヒドロキシラーゼの結合部位の10オングストローム内に存在する残基が今や定められた。これら残基は、付表1に示すように、LEU39、GLN43、ALA45、MET57、LEU58、HIS62、PHE63、SER64、SER65、ASP66、ARG67、GLN68、SER69、LEU74、MET75、VAL76、ALA77、ARG78、GLN79、ILE80、ASP84、LYS85、PRO86、PHE87、ARG88、PRO89、SER90、LEU91、ILE92、ALA93、MET94、ASP95、HIS99、ARG103、PHE110、ILE155、PHE169、GLN170、CYS172、SER173、SER174、ARG175、MET176、LEU177、SER178、ARG179、ARG186、PHE190、LEU193、VAL233、GLY234、LEU235、ALA236、PHE237、LEU238、LEU239、LEU240、ILE241、ALA242、GLY243、HIS244、GLU245、THR246、THR247、ALA248、ASN249、MET250、LEU283、THR287、ILE288、ALA289、GLU290、THR291、ALA292、THR293、SER294、ARG295、PHE296、ALA297、THR298、GLU312、GLY313、VAL314、VAL315、GLY316、VAL344、ALA345、PHE346、GLY347、PHE348、VAL350、HIS351、GLN352、CYS353、LEU354、GLY355、GLN356、LEU358、ALA359、GLU362、LYS389、ASP391、SER392、THR393、ILE394およびTYR395を含む。これら位置の1またはそれ以上に突然変異を有する突然変異体は変化した生物学的機能および／または特異性を示すことが予期され、それゆえ本発明の好ましい突然変異体の他の態様を構成する。好ましい突然変異体の他の態様は、該エポチロンBヒドロキシラーゼの骨格原子からの二乗平均偏差が約4.0オングストローム以下である分子である。

【0062】

エポチロンBヒドロキシラーゼホモロジーモデルまたはその部分の構造座標は、機械読み取り可能な記憶媒体に入れておく。そのようなデータは、医薬の発見などの種々の目的に用いることができる。

【0063】

従って、本発明の他の側面は、付表1に示す構造座標でコードしたデータ記憶材料を含む機械読み取り可能なデータ記憶媒体に関する。

【0064】

エポチロンBヒドロキシラーゼの三次元モデル構造はまた、生物学的機能のモデレーターおよび該酵素の潜在的な基質を同定するのに用いることもできる。そのようなモデレーターを同定するのに種々の方法またはその組み合わせを用いることができる。

【0065】

たとえば、付表1に従い、エポチロンBヒドロキシラーゼの結合部位に空間的に適合する被験化合物をモデル化することができる。アミノ酸のLEU39、GLN43、ALA45、MET57、LEU58、HIS62、PHE63、SER64、SER65、ASP66、ARG67、GLN68、SER69、LEU74、MET75、VAL76、ALA77、ARG78、GLN79、ILE80、ASP84、LYS85、PRO86、PHE87、ARG88、PRO89、SER90、LEU91、ILE92、ALA93、MET94、ASP95、HIS99、ARG103、PHE110、ILE155、PHE169、GLN170、CYS172、SER173、SER174、ARG175、MET176、LEU177、SER178、ARG179、ARG186

、PHE190、LEU193、VAL233、GLY234、LEU235、ALA236、PHE237、LEU238、LEU239、LEU240、ILE241、ALA242、GLY243、HIS244、GLU245、THR246、THR247、ALA248、ASN249、MET250、LEU283、THR287、ILE288、ALA289、GLU290、THR291、ALA292、THR293、SER294、ARG295、PHE296、ALA297、THR298、GLU312、GLY313、VAL314、VAL315、GLY316、VAL344、ALA345、PHE346、GLY347、PHE348、VAL350、HIS351、GLN352、CYS353、LEU354、GLY355、GLN356、LEU358、ALA359、GLU362、LYS389、ASP391、SER392、THR393、ILE394およびTYR395によって定められるエポチロンBヒドロキシラーゼの結合領域の10オングストローム以内のアミノ酸の構造座標、および配位結合したヘム基HEM1もまた、そのようなモデレーターの所望の構造的および化学的な特徴を同定するのに用いることができる。同定した構造的なまたは化学的な特徴は、ついで潜在的なエポチロンBヒドロキシラーゼのリガンドとしての化合物をデザインまたは選択するのに用いることができる。構造的および化学的な特徴とは、共有結合、ファンデアワールス相互作用、水素結合相互作用、電荷相互作用、疎水性相互作用、および双極子相互作用を含むことを意味するが、これらに限られるものではない。ついで、潜在的なエポチロンBヒドロキシラーゼリガンドとして同定された化合物は合成し、被験化合物のエポチロンBヒドロキシラーゼへの結合を特徴とするアッセイにおいて、または小さな分子の存在下でプロテアーゼ標的を変調するエポチロンBヒドロキシラーゼの能力を特徴付けることで、スクリーニングすることができる。潜在的なエポチロンBヒドロキシラーゼリガンドのスクリーニングに有用なアッセイの例としては、インシリコ (in silico) スクリーニング、インビトロアッセイおよび高処理量アッセイが挙げられるがこれらに限られるものではない。

【0066】

この開示により当業者により理解されるであろうように、他の構造ベースのデザイン法を用いることができる。種々のコンピューターによる構造ベースのデザイン法が当該技術分野で開示されている。たとえば、エポチロンBヒドロキシラーゼの配列およびエポチロンBヒドロキシラーゼの構造（すなわち、付表1に示すエポチロンBヒドロキシラーゼの原子座標および／または上記で示した結合領域の10オングストローム内の原子座標）を入力することのできる多くのコンピューターモデリングシステムが利用できる。ついで、このコンピューターシステムは、1またはそれ以上のこれら領域の構造上の詳細を生成して潜在的なモデレーターの相補的な構造の詳細を決定できるようにする。これらモデリングシステムにおけるデザインは、一般にエポチロンBヒドロキシラーゼに物理的および構造的に結合することのできる化合物に基づいている。さらに、該化合物は、エポチロンBヒドロキシラーゼとの結合を可能にするコンホメーションをとることができなければならない。幾つかのモデリングシステムでは、実際に合成および試験する前に潜在的なエポチロンBヒドロキシラーゼの基質またはモデレーターの潜在的な抑制作用または結合作用を評価する。

【0067】

所定のタンパク質標的に結合する能力について化学物質または断片をスクリーニングする方法もまたよく知られている。これら方法は、しばしばコンピュータースクリーン上で結合部位を目で調べることから開始する。ついで、選択した断片または化学物質をエポチロンBヒドロキシラーゼの結合領域に位置付ける。ドッキングをINSIGHTII、QUANTAおよびSYBYLなどのソフトウェアを用いて行い、ついでMMFF、CHARMMおよびAMBERなどの標準分子機械力場を用いてエネルギーの最小化および分子動力学を行う。本発明において有用な化学断片または化学物質の選択の助けとなるコンピュータープログラムの例としては、GRID (Goodford、1985)、AUTODOCK (Goodsell、1990) およびDOCK (Kuntzら、1982) が挙げられるが、これらに限られるものではない。

【0068】

好ましい化学物質または断片を選択したら、お互い同士およびエポチロンBヒドロキシラーゼとの関係を視覚化することができ、ついで単一の潜在的なモデュレーターに組み立てることができる。個々の化学物質を組み立てるのに有用なプログラムとしては、CAVEAT (Bartlettら、1989) および3Dデータベースシステム (Martin、1992) が挙げられるが、これらに限られるものではない。

【0069】

別法として、空白の結合部位を用いるかまたは既知のインヒビターの一部を含めてデノボで化合物をデザインすることができる。このタイプのデザイン法としては、LUDI (Bohm、1992) およびLeapFrog (Tripos Inc.、セントルイス、ミズーリ) が挙げられるが、これらに限られるものではない。

10

【0070】

DOCK (Kuntzら、1982) などのプログラムをホモロジーモデルからの原子座標で用いて、活性部位中の結合領域に潜在的に結合し、それゆえ合成および試験に適した候補である潜在的なリガンドをデータベースまたは仮想データベースから同定することができる。

【0071】

また、本発明のポリヌクレオチドを含むベクター、およびエポチロンBヒドロキシラーゼまたはその活性な断片および該酵素の変異体または突然変異体および／またはフェレドキシンまたはその活性な断片を産生すべく本発明のベクターで遺伝子操作した宿主細胞も本発明で提供される。一般に、ポリヌクレオチドを維持、増殖または発現してこれらポリペプチドを宿主細胞で産生するのに適したいかなるベクターもこの観点から発現に用いることができる。本発明のこの側面によれば、ベクターは、たとえば、プラスミドベクター、一本鎖または二本鎖ファージベクター、または一本鎖または二本鎖RNAまたはDNAウイルスベクターであってよい。ベクターは染色体外のものであってよく、または宿主染色体に組み込むべくデザインしたものであってよい。そのようなベクターとしては、染色体由来、エピソーム由来およびウイルス由来のベクター、たとえば、細菌プラスミド、バクテリオファージ、酵母エピソーム、酵母染色体配列、およびウイルス (バキュロウイルス、パポバウイルス、SV40、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、偽狂犬病ウイルスおよびレトロウイルスなど) 由来のベクター、およびそれらの組み合わせに由来するベクター、たとえばプラスミドとバクテリオファージの遺伝子配列、コスミドとファージミドに由来するベクターが挙げられるが、これらに限られるものではない。

20

30

【0072】

原核生物宿主に有用な発現ベクターとしては、pBluescript、pGEX-2T、pUCベクター、pETベクター、ColE1、pCR1、pBR322、pMB9、pCW、pBMS200、pBMS2020、PIJ101、PIJ702、pANT849、pOJ260、pOJ446、pSET152、pKC1139、pKC1218、pFD666およびそれらの誘導体を含む、大腸菌、バシラスまたはストレプトミセスからのものなどの細菌プラスミド、広宿主範囲プラスミド、たとえば、RP4、ファージDNA、たとえば、ファージラムダの多数の誘導体、たとえばNM989、λGT10およびλGT11、および他のファージ、たとえばM13および繊維状一本鎖ファージDNAが挙げられるが、これらに限られるものではない。

40

【0073】

酵母に使用するための本発明のベクターは、典型的に、酵母に使用するのに適した複製起点、および酵母で機能性の選択マーカーを含んでいるであろう。本発明において有用な酵母ベクターの例としては、酵母組み込み型プラスミド (たとえば、YIp5) および酵母自己複製型プラスミド (YRpおよびYEp系列プラスミド)、酵母動原体プラスミド (YCp系列プラスミド)、酵母人工染色体 (YAC) (YLPと称する酵母の線状プラスミド、pGPD-2、2μプラスミドおよびその誘導体に基づく)、およびGietzら、Gene, 74: 527-34 (1988)に記載されているもの (YIplac、YEplacおよびYCplac) のような改良されたシャトルベクターが挙げられるが、これらに限られるもの

50

ではない。

【0074】

組換え発現に有用な哺乳動物ベクターは、ウイルス複製起点、たとえばSV40複製起点(COS1細胞やCOS7細胞などの大きなT抗原を発現する細胞株での複製用)、パピローマウイルス複製起点、または長期エピソーム複製のためのEBV複製起点(たとえば、EBV EBNA-1遺伝子産物およびアデノウイルスE1Aを構成的に発現する293-EBNA細胞での使用のため)を含んでいてよい。哺乳動物細胞での発現は、pSV2、pBC12BI、およびp91023、pCDNAベクター、並びに溶菌ウイルスベクター(たとえば、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、およびバキュロウイルス)、エピソームウイルスベクター(たとえば、ウシパピローマウイルス)、およびレトロウイルスベクター(たとえば、マウスレトロウイルス)を含む(これらに限られるものではない)様々なプラスミドを用いて行うことができる。昆虫細胞に有用なベクターとしては、バキュロウイルスベクターおよびpVL941が挙げられる。

10

【0075】

mRNAの転写を指令する適当なプロモーターの選択および発現ベクターの構築はよく知られている。しかしながら、一般に、発現構築物は転写の開始および終止のための部位、および転写された領域中に翻訳のためのリボソーム結合部位を含んでいるであろう。構築物によって発現された成熟転写物のコード部分は、始めに翻訳開始コドン、および翻訳すべきポリペプチドの末端にほぼ位置して終止コドンを含んでいるであろう。

【0076】

原核生物に有用なプロモーターの例としては、ファージプロモーター、たとえば、ファージラムダpLプロモーター、trcプロモーター、trpプロモーターとlacプロモーターとに由来するハイブリッド、バクテリオファージT7プロモーター、TACまたはTRC系、ファージラムダの主要オペレーターおよびプロモーター領域、fdコートタンパク質の制御領域、snpAプロモーター、melCプロモーター、ermE*プロモーターまたはaraBADオペロンが挙げられるが、これらに限られるものではない。酵母に有用なプロモーターの例としては、CYC1プロモーター、GAL1プロモーター、GAL10プロモーター、ADH1プロモーター、酵母α-交配系(α-mating system)のプロモーター、およびGPDプロモーターが挙げられるが、これらに限られるものではない。哺乳動物発現ベクターで日常的に用いられるプロモーターの例としては、CMV前所

20

30

【0077】

ポリヌクレオチドを含むベクターは、感染、形質導入、トランスフェクション、トランスベクション(transvection)および形質転換を含むよく知られた技術のいずれを用いても宿主細胞中に導入することができる。ポリヌクレオチドは、単独で、または、たとえば選択マーカーまたはフェレドキシンレダクターゼをコードするさらなるポリヌクレオチドとともに宿主に導入することができる。本発明の好ましい態様では、エポチロンBヒドロキシラーゼおよびフェレドキシンをコードするポリヌクレオチドを宿主細胞に導入する。種々の発現構築物のための宿主細胞がよく知られており、当業者は本発明のこの側面に従ってエポチロンBヒドロキシラーゼおよび／またはフェレドキシンを発現するための宿主細胞を日常的に選択することができる。本発明において有用な哺乳動物発現系の例としては、C127、3T3、CHO、HeLa、ヒト腎臓293およびBHK細胞株、およびサル腎臓繊維芽細胞のCOS-7細胞株が挙げられるが、これらに限られるものではない。

40

【0078】

別法として、本明細書において例示するように、エポチロンBヒドロキシラーゼおよびフェレドキシンを微生物中で組換えにより発現することができる。

50

【0079】

従って、本発明の他の側面は、エポチロンBヒドロキシラーゼ単独またはエポチロンBヒドロキシラーゼをフェレドキシンとともに発現し、末端アルキル基を有する化合物、とりわけエポチロンをヒドロキシ化して末端ヒドロキシアルキル基を有する化合物を生成することのできる、組換えにより生成した微生物に関する。組換えにより生成する微生物は、細菌細胞などの細胞をエポチロンBヒドロキシラーゼをコードする核酸配列を含むプラスミドで形質転換することにより生成する。好ましい態様において、エポチロンBヒドロキシラーゼまたはその突然変異体または変異体をコードする核酸とエポチロンBヒドロキシラーゼ遺伝子の下流に位置するフェレドキシンをコードする核酸配列とを含むプラスミドで細胞を形質転換する。これらプラスミドで形質転換して本発明の組換え微生物を生成することのできる微生物の例としては、大腸菌、バシラス・メガテリウム (*Bacillus megaterium*)、アミコラトプシス・オリエンタリス、ソランジウム・セルロスム、ロドコッカス・エリスロポリス (*Rhodococcus erythropolis*)、およびストレプトミセス・リビダンス、ストレプトミセス・ビルジニエ (*Streptomyces virginiae*)、ストレプトミセス・ベネズエレ (*Streptomyces venezuelae*)、ストレプトミセス・アルブス (*Streptomyces albus*)、ストレプトミセス・コエリコロール (*Streptomyces coelicolor*)、ストレプトミセス・リモススおよびストレプトミセス・グリセウス (*Streptomyces griseus*) などのストレプトミセス種が挙げられるが、これらに限られるものではない。

10

【0080】

本発明の組換えにより生成した微生物は、末端ヒドロキシアルキル基を含む化合物、とりわけエポチロンの産生のための微生物プロセスまたは方法に有用である。一般に、ヒドロキシアルキル含有生成物は、資化しうる炭素および窒素源を含む水性栄養培地中の適当な基質の存在下、水中の好気性条件下で末端炭素原子またはアルキルを選択的にヒドロキシ化することのできる組換えにより生成した微生物または該微生物からの酵素を培養することにより生成することができる。

20

【0081】

本発明の方法の基質として用いる適当なエポチロンは、本発明の酵素的ヒドロキシ化を受けることのできる末端炭素原子または末端アルキル基を有するそのような化合物であればいかなるものであってもよい。出発物質、すなわち基質は、ソランジウム・セルロスムなどの天然源から単離することもできるし、または合成により生成したエポチロンであ

30

【0082】

たとえば、本発明の組換え微生物を用い、WO 00/39276、米国特許出願第09/468,854号(1999年12月21日出願)(その本文を、あたかも詳細に示すごとく本明細書中に引用する)の記載に従って少なくとも1のエポチロンを調製すること

40

【0083】

下記式 I :



(式中、 A_1 および A_2 は、それぞれ独立に任意に置換された C_1-C_3 アルキルおよびアルケニルよりなる群から選ばれる；

Qは、1~3の環および少なくとも1の環中に少なくとも一つの炭素-炭素二重結合を含む任意に置換された環系；

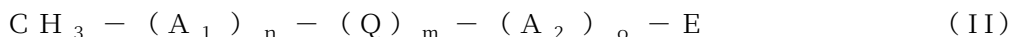
n、mおよびoは、0および1よりなる群から選ばれた整数、その際、mまたはnまたはoの少なくとも一つは1である；および

50

Eはエポチロンコアである)に示すエポチロンを調製することができる。

【0084】

本発明の方法は、下記式II:



(式中、 A_1 、Q、 A_2 、E、n、m、およびoは前記と同じ)で示される少なくとも1のエポチロンを、式IIの化合物のヒドロキシ化を選択的に触媒することができる組換えにより生成した微生物または該微生物からの酵素と接触させる工程、ついで該ヒドロキシ化を行う工程を含む。

【0085】

好ましい態様において、出発物質はエポチロンBである。エポチロンBは、DE 4 13 8 0 4 2 および WO 9 3 / 1 0 1 2 1 に記載されているように、ソランジウム・セルロスマ Soc 9 0 の発酵から得ることができる。この株は、ドイチェ・ザムルング・フォン・ミクロオルガニズメン(ジャーマン・コレクション・オブ・マイクロオーガニズムス)(DSM)に受託番号 6 7 7 3 にて寄託してある。発酵プロセスはまた、Hofle, G.ら、Angew. Chem. Int. Ed. Engl., Vol. 35, No. 13/14, 1567-1569 (1996)にも記載されている。エポチロンBはまた、化学的手段、たとえば、Meng, D.ら、J. Am. Chem. Soc., Vol. 119, No. 42, 10073-10092 (1996); Nicolaou, K.ら、J. Am. Chem. Soc., Vol. 119, No. 34, 7974-7991 (1997) および Schinzer, D.ら、Chem. Eur. J., Vol. 5, No. 9, 2483-2491 (1999) に記載の化学的手段により得ることができる。

【0086】

本発明の方法に使用すべく選択した組換えにより生成した微生物の増殖は、適当な栄養培地の使用により当業者によって達成されうる。組換えにより生成した微生物の増殖のための適当な培地は、微生物細胞の増殖に必要な栄養素を提供するものを含む。たとえば、T. Nagodawithana および J. M. Wasileski、第2章: "Media Design for Industrial Fermentations"、Nutritional Requirements of Commercially Important Microorganism、T. W. Nagodawithana および G. Reed 編、Esteekay Associates, Inc.、ミルウォーキー、ウイスコンシン、18-45 (1998); T. L. Miller および B. W. Churchill、第10章: "Substrates for Large-Scale Fermentations"、Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology、A. L. Demain および N. A. Solomon 編、American Society for Microbiology、ワシントン、D.C.、122-136 (1986)を参照。増殖のための典型的な培地は、必要な炭素源、窒素源、および微量元素を含む。インデューサーを培地に加えることもできる。本明細書で使用するインデューサーなる語は、組換えにより生成した微生物細胞内で所望の酵素活性の生成を促進するあらゆる化合物を包含する。本明細書に使用する典型的なインデューサーとしては、基質を溶解するのに使用する溶媒、たとえば、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、ジオキサン、エタノールおよびアセトンが挙げられる。さらに、エポチロンBなどのある種の基質もまたインデューサーと考えられる。

【0087】

炭素源としては、グルコース、ガラクトース、マルトース、ショ糖、マンニトール、ソルビトール、グリセリン、デンプンなどの糖; 酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムなどの有機酸; およびエタノール、プロパノールなどのアルコールが挙げられる。好ましい炭素源としては、グルコース、フルクトース、ショ糖、グリセリンおよびデンプンが挙げられるが、これらに限られるものではない。

【0088】

窒素源としては、N-ZアミンA、トウモロコシ浸漬液、大豆粉、牛肉エキス、酵母エキス、トリプトン、ペプトン、綿実粕、ピーナッツ粕、グルタミン酸ナトリウムなどのアミノ酸、硝酸ナトリウム、硫酸アンモニウムなどが挙げられる。

【0089】

微量元素としては、マグネシウム、マンガン、カルシウム、コバルト、ニッケル、鉄、ナトリウム塩およびカリウム塩が挙げられる。リン酸塩もまた微量にて、または好ましくは微量よりも多い量で加えることができる。

10

20

30

40

50

【0090】

発酵に用いる培地は、1を超える炭素または窒素源または他の栄養素を含んでいてよい。

【0091】

本発明の方法による組換えにより生成した微生物の増殖および／またはヒドロキシ化のため、培地のpHは約5～約8であるのが好ましく、温度は約14℃～約37℃であり、好ましくは温度は28℃である。反応時間は1～100時間、好ましくは8～72時間である。

【0092】

培地を、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によりモニターしてバイオトランスフォーメーションが完了するのに必要な時間インキュベートする。典型的には、バイオトランスフォーメーションを完了するのに要する時間は、基質を添加してから12～100時間、好ましくは約72時間である。培地を、150～300rpm、好ましくは約250rpmで作動し、行程が2インチのロータリーシェーカー（New Brunswick Scientific Innova 5000）上に置く。

【0093】

発酵プロセスからのヒドロキシアルキル含有生成物の回収は、他の知られた生物学的に活性な物質の回収に普通に用いられる通常の手段により行うことができる。そのような回収手段の例としては、酢酸エチルなどの通常の溶媒を用いた抽出による単離および精製によるもの；pH調整によるもの；通常の樹脂の処理によるもの、たとえば、陰イオンまたは陽イオン交換樹脂または非イオン性吸着樹脂の処理によるもの；通常の吸着剤の処理によるもの、たとえば、蒸留により、または結晶化によるもの；または再結晶によるものなどが挙げられるが、これらに限られるものではない。

【0094】

上記でバイオトランスフォーメーション反応混合物から得た抽出物は、カラムクロマトグラフィーおよび分析的薄層クロマトグラフィーによりさらに単離および精製することができる。

【0095】

本発明の組換えにより生成した微生物が末端アルキル基を有するエポチロンを末端ヒドロキシアルキル基を有するエポチロンにバイオトランスフォーメーションする能力が証明された。これら実験において、実施例11にさらに詳細に記載するようにebh遺伝子を有するプラスミドを含有するストレプトミセス・リビダンスクロンを含む培養液を、エポチロンB懸濁液とともに攪拌しながら30℃にて3日間インキュベートした。インキュベートの試料を等容量の25%メタノール：75%n-ブタノールで抽出し、回転攪拌し、ついで5分間沈殿させた。200μlの有機相をHPLCバイアルに移し、HPLC/MSにより分析した（実施例12）。エポチロンFの生成物ピークは15.9分の保持時間で溶出し、524のプロトン化分子量を有していた。エポチロンB基質は19.0分で溶出し、508のプロトン化分子量を有していた。ピークの保持時間および分子量は公知の標準を用いて確認した。

【0096】

ebhを発現する細胞によるエポチロンBのバイオトランスフォーメーションの速度を、ebh突然変異体によるバイオトランスフォーメーションの速度と比較した。ebhを発現する細胞は、ストレプトミセス・リビダンス（pANT849-ebh）の凍結胞子調製物を含んでいる。突然変異体を発現する細胞は、ストレプトミセス・リビダンス（pANT849-ebh10-53）およびストレプトミセス・リビダンス（pANT849-ebh24-16）の凍結胞子調製物を含んでいる。ストレプトミセス・リビダンスTK24の凍結胞子調製物は対照として用いた。細胞を30℃にて数日間、プレインキュベートした。このプレインキュベーションの後、100%EtOH中のエポチロンBを各培養液に最終濃度0.05%w/vにて加えた。ついで、ストレプトミセス・リビダンス（pANT849-ebh24-16）の培養液（この場合、エポチロンBは48時間で

完全にエポチロン F に変換された)を除いて、試料を、0、24、48 および 72 時間の時点で採取した。試料を H P L C により分析した。結果を 0 時間でのエポチロン B のパーセントとして計算した。

【0097】

エポチロン B :

時間 (時)	T K 2 4	pANT849-ebh	pANT849-ebh10-53	pANT849-ebh24-16
0	1 0 0 %	1 0 0 %	1 0 0 %	1 0 0 %
2 4	9 9 %	7 8 %	6 9 %	5 6 %
4 8	8 7 %	1 9 %	3 9 %	0 %
7 2	8 7 %	0 %	3 %	—

10

【0098】

エポチロン F :

時間 (時)	T K 2 4	pANT849-ebh	pANT849-ebh10-53	pANT849-ebh24-16
0	0 %	0 %	0 %	0 %
2 4	0 %	4 %	9 %	2 3 %
4 8	0 %	2 1 %	2 9 %	5 2 %
7 2	0 %	1 4 %	4 1 %	—

20

【0099】

e b h を発現する細胞がコンパクチンをプラバスタチンにバイオトランスフォーメーションする能力についても調べた。これらの実験において、ストレプトミセス・リビダンス (p A N T 8 4 9) またはストレプトミセス・リビダンス (p A N T 8 4 9 - e b h) の凍結胞子調製物を 3 0 °C で数日間増殖させた。プレインキュベーションの後、各細胞培養液のアリコートポリプロピレン培養チューブに移し、コンパクチンを各培養チューブに加え、ついで培養チューブを 3 0 °C、2 5 0 r p m にて 2 4 時間インキュベートした。ついで、培養ブrossのアリコートを抽出し、対照のストレプトミセス・リビダンス (p A N T 8 4 9) 培養液と比較したコンパクチンおよびプラバスタチン値を H P L C により測定した。

30

【0100】

出発物質のコンパクチン濃度のパーセントとしてのコンパクチンおよびプラバスタチン :

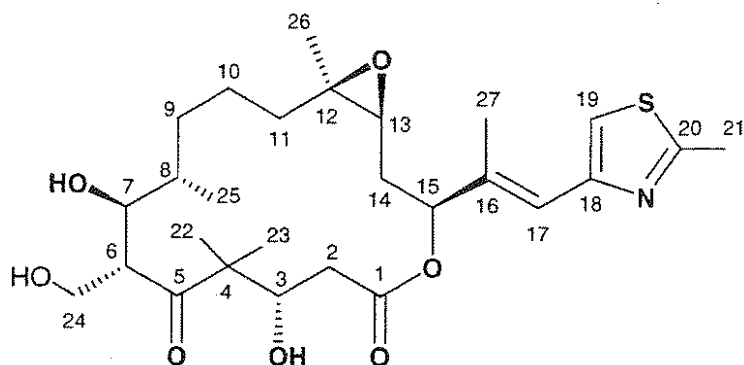
	ストレプトミセス・リビダンス (p A N T 8 4 9)	ストレプトミセス・リビダンス (p A N T 8 4 9 - e b h)
コンパクチン	3 6 %	1 1 %
プラバスタチン	1 1 %	5 3 %

40

【0101】

上記で検討したように、突然変異体 e b h 2 5 - 1 (配列番号 3 0) は変化した基質特異性を示し、この突然変異体によるエポチロン B のバイオトランスフォーメーションはエポチロン B またはエポチロン F とは異なる H P L C 溶出時間を有する生成物という結果となる。この未知の試料を L C - M S により分析したところ、分子量が 5 2 3 (M.W.) であり、エポチロン B の単一のヒドロキシ化と一致することがわかった。このバイオトランスフォーメーション生成物の構造を、M S および N M R データに基づいて (エポチロン B のデータと比較して) 2 4 - ヒドロキシルエポチロン B と決定した :

【化 5】



24-ヒドロキシルーエポチロン B
式 A

10

【 0 1 0 2 】

分子式：C₂₇H₄₁NO₇S

分子量：523

質量スペクトル：ES+ (m/z) : 524 ([M+H]⁺)、506

L C / M S / M S : + E S I (m / z) : 5 2 4 、 5 0 6 、 4 7 6 、 4 3 6 、 3 2 0

H R M S : $[M+H]^+$ として ; 計算値 : 524.2682 ; 実測値 : 524.2701

H P L C (R t) : 7 . 3 分 (分析の H P L C 系で)

LC/NMR:ケミカルシフトを観察

Varian AS-600 (プロトン : 599.624 MHz)

溶媒 D₂O / CD₃CN (δ 1.94) : ~ 4 / 6

【数 1】

プロトン : 87.30 (s, 1H), 6.43 (s, 1H), 5.30 (m, 1H), 4.35 (m, 1H),

3.81 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.68 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 2.87

(m, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.40 (m, 2H), 1.58 (b, 1H), 1.48 (b, 1H),

1.35 (m, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 0.87 (m, 6H)

* 1.8 ~ 2.1 ppm のピークは溶媒抑制 (solvent suppression) のために観察されなかった。

【 0 1 0 3 】

プロトンのケミカルシフトは以下のように割り当てられた：

20

30

【表 2】

位置	プロトン	パターン
1	--	
2	2.40	m
3	4.35	m
4	--	
5	--	
6	3.43	m
7	3.68	m
8	1.58	m
9	1.35	b
10	1.48	b
10	1.35	b
11	SSP	
12	--	
13	2.87	m
14	SSP	
15	5.30	m
16	--	
17	6.43	s
18	--	
19	7.30	s
20	--	
21	2.66	s
22	1.18	s
23	0.87	m
24	3.81	m
24	3.74	m
25	0.87	m
26	1.13	s
27	SSP	

10

20

30

40

* S S P : 溶媒抑制のために観察されず。

【0104】

従って、本発明の組成物および方法は、微小管安定化剤である公知の化合物並びに微小管安定化剤として有用であることが予期されるエポチロンアナログ（24-ヒドロキシル-エポチロンB（式A）など）および薬理学的に許容しうるその塩を含む新規な化合物を生成するのに有用である。これら組成物および方法を用いて生成した微小管安定化剤は、

50

以下のものを含む（これらに限られるものではない）種々の癌および他の増殖性疾患の治療に有用である：

膀胱、乳房、直腸、腎臓、肝臓、肺、卵巣、膵臓、胃、子宮頸、甲状腺および皮膚のものを含む癌腫；扁平上皮細胞癌腫を含む；

白血病、急性リンパ球性白血病、急性リンパ芽球性白血病、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、ヘアリーセルリンパ腫およびパーキットリンパ腫を含むリンパ系の造血性腫瘍；

急性および慢性の骨髄性白血病および前骨髄球性白血病を含む骨髄系の造血性腫瘍；

線維肉腫および横紋筋肉腫を含む間充織由来の腫瘍；

黒色腫、セミノーマ、奇形癌、神経芽細胞腫および神経膠芽細胞腫を含む他の腫瘍；

星状細胞種、神経芽細胞腫、神経膠芽細胞腫、および神経鞘腫を含む中枢および末梢神経系の腫瘍；

線維肉腫、横紋筋肉腫および骨肉腫を含む間充織由来の腫瘍；

黒色腫、色素性乾皮症、角化棘細胞腫、セミノーマ、甲状腺小胞癌および奇形癌を含む他の腫瘍。

【0105】

本発明の組成物および方法を用いて生成した微小管安定化剤はまた脈管形成をも抑制し、それによって腫瘍の増殖に影響を及ぼし、腫瘍および腫瘍関連疾患の治療をもたらすであろう。これら化合物のそのような抗脈管形成特性はまた、網膜血管新生に関連するある種の盲目、関節炎、とりわけ炎症性関節炎、多発性硬化症、再狭窄および乾癬を含む（これらに限られるものではない）、抗脈管形成剤が適用される他の状態の治療にも有用であろう。

【0106】

本発明の組成物および方法を用いて生成した微小管安定化剤は、正常な発生およびホメオスタシスにとって重要な生理的細胞死のプロセスであるアポトーシスを誘発または抑制するであろう。アポトーシス経路の変化はヒトの様々な疾患の病因に貢献する。式I、式IIおよび式Aによって示される化合物などの本発明の化合物は、アポトーシスのモデュレーターとして、癌、前癌病変、免疫応答関連疾患、ウイルス感染症、筋骨格系の変性疾患および腎臓疾患を含む（これらに限られるものではない）、アポトーシスに異常を有するヒトの様々な疾患の治療に有用であろう。

【0107】

いかなる機構または形態学にも限定されることを意図することなく、本発明の組成物および方法を用いて生成した微小管安定化剤はまた、癌や他の増殖性疾患以外の状態を治療するのに用いることができる。そのような状態としては、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、エプスタインバーウイルス、シンドビスウイルスおよびアデノウイルスなどのウイルス感染症；全身性エリテマトーデス、免疫媒体系球体腎炎、慢性関節リウマチ、乾癬、炎症性腸疾患および自己免疫真性糖尿病などの自己免疫疾患；アルツハイマー病、AIDS関連痴呆、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、脊髄性筋萎縮症および小脳変性などの神経変性疾患；AIDS；骨髄異形成症候群；再生不良性貧血；虚血障害関連心筋梗塞；卒中および再灌流障害；再狭窄；不整脈；アテローム性動脈硬化症；毒素誘因またはアルコール誘因の肝疾患；慢性貧血および再生不良性貧血などの血液疾患；骨粗鬆症および関節炎などの筋骨格系の変性疾患；アスピリン感受性鼻副鼻腔炎；嚢胞性線維症；多発性硬化症；腎臓疾患；および癌の痛みが挙げられるが、これらに限られるものではない。

【0108】

以下の制限されない実施例は本発明をさらに説明するために提供される。

実施例

実施例1：試薬

R2培地を以下のようにして調製した。

ショ糖（103g）、 K_2SO_4 （0.25g）、 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ （10.12g）

10

20

30

40

50

)、グルコース (10 g)、Difco カザミノ酸 (0.1 g) および蒸留水 (800 ml) を含む溶液を調製した。ついで、この溶液の 80 ml を、2.2 g の Difco Bacto アガーを入れた 200 ml 容のねじぶたビンに注いだ。ビンにふたをし、オートクレーブにかけた。使用時には培地を再溶解し、以下のオートクレーブ溶液を列挙した順に加えた：

1 ml の KH_2PO_4 (0.5 %)

8 ml の $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3.68 %)

1.5 ml の L-プロリン (20 %)

10 ml の TES 緩衝液 (5.73 %、pH 7.2 に調整)

ZnCl_2 (40 mg)、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (200 mg)、 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (10 mg)、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (10 mg)、 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (10 mg) および $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$ を含む 0.2 ml の微量元素溶液

0.5 ml の NaOH (1 N) (滅菌は必要ない)

0.5 ml の栄養要求体に必要な成長因子 (ヒスチジン (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ; システイン (37 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ; アデニン、グアニン、チミジンおよびウラシル (7.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ; およびビタミン (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$))

【0109】

R2 培地と同様にして R2YE 培地 を調製した。しかしながら、5 ml の Difco 酵母エキス (10 %) を使用時に各 100 ml 容フラスコに加えた。

【0110】

P (プロトプラスト) 緩衝液 を以下のようにして調製した。

以下のものからなる基礎溶液を調製した：

ショ糖 (103 g)

K_2SO_4 (0.25 g)

$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2.02 g)

R2 培地について記載した微量元素の溶液 (2 ml)

蒸留水 (800 ml まで)

【0111】

ついで、基礎溶液の 80 ml アリコート分配し、オートクレーブにかけた。使用前に以下のものを列挙した順にて各フラスコに加えた：

1 ml の KH_2PO_4 (0.5 %)

10 ml の $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3.68 %)

TES 緩衝液 (5.75 %、pH 7.2 に調整)

【0112】

以下の滅菌溶液を混合することにより T (形質転換) 緩衝液 を調製した：

25 ml のショ糖 (10.3 %)

75 ml の蒸留水

R2 培地について記載した 1 ml の微量元素溶液

1 ml の K_2SO_4 (2.5 %)

【0113】

ついで、この溶液の 9.3 ml に以下のものを加える：

0.2 ml の CaCl_2 (5 M)

トリスの 1 M 溶液から調製し、マレイン酸を加えて pH 8.0 に調整した 0.5 ml のトリスマレイン酸緩衝液。

使用に際しては、上記溶液の 3 重量部を前もってオートクレーブ滅菌した PEG 1000 の 1 重量部に加える。

【0114】

以下の滅菌溶液を混合することにより L (溶解) 緩衝液 を調製した：

100 ml のショ糖 (10.3 %)

10 ml の TES 緩衝液 (5.73 %、pH 7.2 に調整)

1 ml の K_2SO_4 (2.5 %)

10

20

30

40

50

R 2 培地について記載した 1 m l の微量元素溶液

1 m l の KH_2PO_4 (0.5%)

0.1 m l の $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2.5 M)

1 m l の CaCl_2 (0.25 M)

【0115】

C R M 培地

以下の成分を 1 リットルの dH_2O 中に含む溶液を調製した：グルコース (10 g)、ショ糖 (103 g)、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10.12 g)、 $\text{BBL}^{\text{T M}}$ trypticase soy broth (15 g) (Becton Dickinson Microbiology Systems、スパークス、メリーランド、米国)、および $\text{BBL}^{\text{T M}}$ 酵母エキス (5 g) (Becton Dickinson Microbiology Systems)。この溶液を 30 分間オートクレーブにかけた。培養液をプラスミドとともに増殖させるためチオストレプトンを $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度にて加えた。

10

【0116】

エレクトロポレーション緩衝液

30% (w/v) PEG 1000、10% グリセリン、および 6.5% ショ糖を含む溶液を dH_2O 中にて調製した。この溶液を $0.22 \mu\text{m}$ の酢酸セルロース膜での真空濾過により滅菌した。

【0117】

実施例 2：株 S C 1 5 8 4 7 からの染色体 DNA の抽出

グアニジン界面活性剤溶解法、DNAzol 試薬 (Invitrogen、カールスバード、カリフォルニア、米国) を用い、アミコラトプシス・オリエンタリスの土壤単離株の表示 S C 1 5 8 4 7 (A T C C P T-1043) からゲノム DNA を単離した。S C 1 5 8 4 7 培養液を F 7 培地 (グルコース 2.2%、酵母エキス 1.0%、麦芽エキス 1.0%、ペプトン 0.1%、pH 7.0) 中、28℃にて 24 時間増殖させた。20 ml の培養液を遠心分離により回収し、20 ml の DNAzol に再懸濁し、ピペティングにより混合し、ついで Beckman TJ6 遠心管中で 10 分間遠心分離にかけた。10 ml の 100% エタノールを加え、数回逆さまにし、室温にて 3 分間貯蔵した。DNA をガラスピペットに巻きつけ、100% エタノールで洗浄し、10 分間空気乾燥した。ペレットを $500 \mu\text{l}$ の 8 mM NaOH に再懸濁し、溶解したら $30 \mu\text{l}$ の 1 M HEPES (pH 7.2) で中和した。

20

30

【0118】

実施例 3：PCR 反応

200~500 ng のゲノム DNA かまたは $0.1 \mu\text{l}$ の cDNA、フォアワードプライマーおよびリバースプライマー [フォアワードプライマーは P 4 5 0-1⁺ (配列番号 23) かまたは P 4 5 0-1 a⁺ (配列番号 24) かまたは P 4 5 0-2⁺ (配列番号 25) のいずれかであり、リバースプライマーは P 4 5 0-3⁻ (配列番号 27) かまたは P 4 5 0-2⁻ (配列番号 26) のいずれかであった] を含む PCR 反応液を $50 \mu\text{l}$ の容量で調製した。プライマーはすべて $1.4 \sim 2.0 \mu\text{M}$ の最終濃度で加えた。PCR 反応液は $1 \mu\text{l}$ の Taq 酵素 (2.5 単位) (Stratagene)、 $5 \mu\text{l}$ の Taq 緩衝液および $4 \mu\text{l}$ の 2.5 mM dNTP を用い、 dH_2O を $50 \mu\text{l}$ まで加えて調製した。サイクル反応は、Geneamp^R PCR システムにて以下のプロトコールで行った：95℃にて 5 分間、5 サイクル [95℃にて 30 秒、37℃にて 15 秒 (30% ランプ (ramp))、72℃にて 30 秒]、35 サイクル (94℃にて 30 秒、65℃にて 15 秒、72℃にて 30 秒)、72℃にて 7 分間。反応から予期されるサイズは、P 4 5 0-1⁺ (配列番号 23) または P 4 5 0-1 a⁺ (配列番号 24) と P 4 5 0-3⁻ (配列番号 27) とのプライマーペアについては 340 bp、P 4 5 0-1⁺ (配列番号 23) と P 4 5 0-2⁻ (配列番号 26) とのプライマーペアについては 240 bp、および P 4 5 0-2⁺ (配列番号 25) と P 4 5 0-3⁻ (配列番号 27) とのプライマーペアについては 130 bp である。

40

【0119】

50

実施例 4：エポチロン B ヒドロキシラーゼ遺伝子およびフェレドキシン遺伝子のクローニング

20 μ g の SC15847 ゲノム DNA を BglII 制限酵素で 37℃ にて 6 時間消化した。30k ナノセブカラム (Gelman Sciences、アンアーバー、ミシガン、米国) を用いて DNA を濃縮し、酵素および緩衝液を除去した。反応液を 40 μ l に濃縮し、200 μ l の TE で洗浄した。ついで、消化生成物を 0.7% アガロースゲルで分離し、12~15 kb の範囲のゲノム DNA をゲルから切り出し、Qiagen ゲル抽出法を用いて精製した。ついで、ゲノム DNA を、BamHI で消化および SAPI 酵素 (Roche Molecular Biochemicals、インディアナポリス、インディアナ、カタログ # 1758 250) を用いて脱リン酸化しておいたプラスミド pWB19N (米国特許第 5,516,679 号) にライゲートした。ライゲーション反応は、1U の T4 DNA リガーゼ (Invitrogen) を用い、15 μ l の容量で室温にて 1 時間行った。1 μ l のライゲーション液を 100 μ l の化学的にコンピテントな DH10B 細胞 (Invitrogen) に形質転換し、100 μ l を 30 μ g/ml のネオマイシンを含む 5 つの LB アガープレートに 37℃ にて一夜プレーティングした。

【0120】

5 つのナイロンメンブレンサークル (Roche Molecular Biochemicals、インディアナポリス、インディアナ) に番号を付け、方向に印を付けた。メンブレンをプレート上に 2 分間置き、ついで 5 分間乾燥させた。ついで、メンブレンをファットマンフィルターディスク上に置き、10% SDS で 5 分間、1.5M NaCl とともに 0.5N NaOH で 5 分間、1.0M トリス (pH 8.0) とともに 1.5M NaCl で 5 分間、および 2×SSC で 15 分間飽和させた。フィルターを以前にサザンハイブリダイゼーションについて記載されたようにしてハイブリダイズさせた。ハイブリダイズしたコロニーを 30 μ g/ml のネオマイシンを含む 2 ml の TB に採り、37℃ で一夜増殖させた。プラスミド DNA をミニプレップカラム法 (Mo Bio) を用いて単離した。このプラスミドを NPB29-1 と称した。

【0121】実施例 5：DNA シークエンシングおよび分析

クローニングした PCR 産物を、蛍光染料標識 (fluorescent-dye-labeled) ターミネーターサイクルシークエンシング、Big-Dye シークエンシングキット (Applied Biosystems、フォスターシティ、カリフォルニア、米国) を用いてシークエンシングし、レーザー誘導蛍光キャピラリー電気泳動、ABI Prism 310 シークエンサー (Applied Biosystems) を用いて分析した。

【0122】実施例 6：全 RNA の抽出

フェノールおよびグアニジンイソチオシアネートの単相溶液である Trizol 試薬 (Invitrogen) を用いた Chomczynski および Sacchi 法の改変法を用い、全 RNA を SC15847 培養液から単離した。5 ml の SC15847 凍結ストック培養液を解凍し、500 ml 容エーレンマイヤーフラスコで 100 ml の F7 培地に接種するのに用いた。培養液をシェーカーインキュベーター中、230 rpm で 30℃ にて 20 時間、600 nm での光学濃度 (OD_{600}) が 9.0 となるまで増殖させた。培養液を 16℃ のシェーカーインキュベーターに 230 rpm で 20 分間置いた。25 mg のエポチロン B を 1 ml の 100% エタノールに溶解し、培養液に加えた。第二の ml のエタノールを用いて残留エポチロン B をチューブから濯ぎ、培養液に加えた。培養液を 16℃、230 rpm で 30 分間インキュベートした。30 ml の培養液を 50 ml チューブに移し、150 mg のリゾチームを培養液に加え、培養液を室温にて 5 分間インキュベートした。10 ml の培養液を 50 ml ファルコンチューブに入れ、TJ6 遠心管中、4℃ にて 5 分間遠心分離にかけた。2 ml のクロロホルムを加え、チューブを 15 秒間激しく混合した。チューブを室温で 2 分間インキュベートし、TJ6 遠心管の最高速度で 10 分間遠心分離にかけた。水性層を新たなチューブに移し、2.5 ml のイソプロパノールを加えて RNA を沈殿させた。チ

ューブを室温で10分間インキュベートし、4℃で10分間遠心分離にかけた。上澄み液を除去し、ペレットを70%エタノールで濯ぎ、真空下でしばらく乾燥させた。ペレットを150μlのRNアーゼ不含dH₂Oに再懸濁した。このRNAに50μlの7.5M LiClを加え、-20℃にて30分間インキュベートした。RNAを遠心管で4℃にて10分間遠心分離にかけることによりペレット化した。ペレットを200μlの70%エタノールで濯ぎ、真空下でしばらく乾燥させ、150μlのRNアーゼ不含dH₂Oに再懸濁した。

【0123】

RNAをDNアーゼI (Ambion、オースチン、テキサス、米国)で処理した。25μlの全RNA (5.3μg/μl)、2.5μlのDNアーゼI緩衝液、1.0μlのDNアーゼIを加え、37℃で25分間インキュベートした。5μlのDNアーゼI不活化緩衝液を加え、2分間インキュベートし、1分間遠心分離にかけ、上澄み液を新たなチューブに移した。

【0124】

実施例7：cDNA合成

Superscript II酵素 (Invitrogen) を用いて全RNAからcDNAを合成した。1μlの全RNA (5.3μg/μl)、9μlのdH₂O、1μlのdNTP混合物 (10mM)、および1μlのランダムヘキサマーを用いて反応液を調製した。反応液を65℃で5分間インキュベートし、ついで氷上に置いた。ついで以下の成分を加えた：4μlの第一鎖緩衝液、1μlのRNアーゼインヒビター、2.0μlの0.1M DTT、および1μlのSuperscript II酵素。反応液を室温で10分間、42℃で50分間、ついで70℃で15分間インキュベートした。1μlのRNアーゼHを加え、37℃で20分間、70℃で15分間インキュベートし、4℃で貯蔵した。

【0125】

実施例8：DNA標識

ゲノムDNAおよびcDNAからのP450特異的生成物の増幅に用いたPCR条件を用いてプラスミドpCRscript-29の挿入物を増幅した。プラスミドpCRscript-29は、プライマーのP450-1⁺ (配列番号23) およびP450-3⁻ (配列番号27) を用いてSC15847ゲノムDNAから増幅した340bpのPCR断片を含んでいる。2μlのプラスミドプレップを鋳型として用い、全部で25サイクル行った。増幅した生成物を、Qiaquickゲル抽出システム (Qiagen) を用いてゲル精製した。抽出したDNAをエタノール沈殿し、5μlのTEに再懸濁させ、収量は500ngと評価された。この断片を、chem link標識試薬 (Roche Molecular Biochemicals、インディアナポリス、インディアナ、カタログ#1836463) を用いてジゴキシゲニンで標識した。5μlのPCR産物を0.5μlのDig-chem linkと混合し、dH₂Oを20μlまで加えた。反応液を85℃で30分間インキュベートし、5μlの停止溶液を加えた。プローブ濃度は20ng/μlと評価された。

【0126】

実施例9：サザンDNAハイブリダイゼーション

10μlのゲノムDNA (0.5μg/ml) を、BamHI、BglII、EcoRI、HindIIIまたはNotIで消化し、12ボルトにて16時間分離した。ゲルを0.25N HClで10分間脱プリン化し (depurinated)、真空ブロッター (Bio-Rad Laboratories, Inc.、ヘルキュールズ、カリフォルニア、米国、カタログ#165-5000) を用いて0.4N NaOH 5" Hgで90分間、ナイロンメンブレン (Roche Molecular Biochemicals) に真空下で移した。メンブレンを1M酢酸アンモニウムで濯ぎ、Stratalinker UV Crosslinker (Stratagene) を用いてUV架橋した。メンブレンを2×SSCで濯ぎ、室温で貯蔵した。

【0127】

メンブレンを20mlのDig Easy Hyb緩衝液 (Roche Molecular Biochemicals) 中、42℃で1時間プレハイブリダイズした。プローブを65℃で10分間変性させ、ついで氷

上に置いた。Dig Easy Hyb中のおよその濃度が20 ng/mlである5 mlのプローブをメンブレンとともに42℃で一夜インキュベートした。メンブレンを室温で0.1% SDSを含む2×SSCで2回、ついで65℃で0.1% SDSを含む0.5×SSCで2回、洗浄した。メンブレンをGenius緩衝液1 (10 mMマレイン酸、15 mM NaCl; pH 7.5; 0.3% v/v Tween 20) (Roche Molecular Biochemicals、インディアナポリス、インディアナ) で2分間平衡化し、ついで2%ブロッキング溶液 (Genius緩衝液1中の2%ブロッキング試薬) (Roche Molecular Biochemicals、インディアナポリス、インディアナ) とともに室温で1時間インキュベートした。メンブレンを50 mlのブロッキング溶液中の抗dig抗体の1:20,000希釈とともに30分間インキュベートした。メンブレンを50 mlのGenius緩衝液1中で各15分間、2回洗浄した。メンブレンをGenius緩衝液3 (10 mMトリス-HCl、10 mM NaCl; pH 9.5) で2分間平衡化した。Genius緩衝液3中のCSPD (3-(4-メトキシスピロ{1,2-ジオキシエタン-3,2'-(5'-クロロ)トリシクロ[3.3.1.1^{3,7}]デカン}-4-イル)フェニルリン酸二ナトリウム) (Roche Molecular Biochemicals) の1:100希釈 (1 ml) をメンブレンに加えて室温で5分間インキュベートし、ついで37℃で15分間置いた。メンブレンをBiomax MLフィルム (Kodak、ロチェスター、ニューヨーク、米国) に1時間暴露した。

【0128】

実施例10：大腸菌の形質転換

コンピテントな細胞をInvitrogenから購入した。大腸菌株DH10Bをゲノムクロニングの宿主として用いた。化学的にコンピテントな細胞を氷上で解凍し、100 µlを氷上の17×100 mmポリプロピレンチューブにアリコートした。1 µlのライゲーション混合物を細胞に加え、氷上で30分間インキュベートした。細胞を42℃で45秒間インキュベートし、ついで氷上に1~2分間置いた。0.9 mlのSOC培地 (Invitrogen) を加え、細胞を30~37℃、200~240 rpmで1時間インキュベートした。細胞を選択培地 (ネオマイシンまたはアンピシリンをそれぞれ30 µg/mlまたは100 µg/mlの濃度で含むLuriaアガー) 上に置いた。

【0129】

実施例11：ストレプトミセス・リビダンスTK24の形質転換

プラスミドpWB19NをHindIIIで消化およびSAPIで処理し、プラスミドpANT849 (Keiserら、2000, Practical Streptomyces Genetics, John Innes) をHindIIIで消化することにより、プラスミドpWB19N849を構築した。これら2つの線状化した断片を1 UのT4 DNAリガーゼを用いて室温で1時間ライゲートした。1 µlのライゲーション溶液を用いてXL-1 Blueエレクトロコンピテント細胞 (Stratagene) を形質転換した。回収した細胞をLBネオマイシン (30 µg/ml) に37℃にて一夜プレーティングした。コロニーを30 µg/mlのネオマイシンを含む2 mlのLBに採り、30℃で一夜インキュベートした。MoBioプラスミドミニプレップをすべての培養液について行った。pWB19NとpANT849とのライゲーションにより構築したプラスミドを0.7%アガロース上での電気泳動移動度により決定した。プラスミドpWB19N849をHindIIIおよびBglIIで消化して、BglIIおよびHindIIIで消化したプラスミドpANT849と等価な5.3 kb断片を切り出した。この5.3 kb断片をアガロースゲル上で精製し、Qiaquickゲル抽出システムを用いて抽出した。

【0130】

エポチロンBヒドロキシラーゼ遺伝子および下流のフェレドキシン遺伝子を含む1.469 kb DNA断片をPCRを用いて増幅した。50 µlのPCR反応液は、5 µlのTaq緩衝液、2.5 µlのグリセリン、1 µlの20 ng/µl NPB29-1プラスミド、0.4 µlの25 mM dNTP、各1.0 µlのプライマーNPB29-6F (配列番号28) およびNPB29-7R (配列番号29) (5ピコモル/µl)、38.1 µlのdH₂Oおよび0.5 µlのTaq酵素 (Stratagene) からなっていた。反応をPer

kin Elmer 9700で95℃で5分間、ついで30サイクル(96℃で30秒間、60℃で30秒間、72℃で2分間)、および72℃で7分間行った。PCR生成物をPCRクリーンアップ(cleanup)法でQiagenミニエルトカラムを用いて精製した。精製した生成物をBgIIIおよびHindIIIで消化し、0.7%アガロースゲルで精製した。1.469 kbのバンドをゲルから切り出し、Qiagenミニエルトカラムを用いて溶出した。このPCR生成物5μlを10μlのライゲーション反応液中、BgIIIおよびHindIIIで消化したpANT849ベクターとライゲートした。反応液を室温で24時間インキュベートし、ついでストレプトミセス・リビダンスTK24プロトプラストに形質転換した。

【0131】

20mlのYEME培地にストレプトミセス・リビダンスTK24の凍結孢子懸濁液を接種し、125ml容の両くぼみ(bi-indent)フラスコ中で48時間増殖させた。プロトプラストはPractical Streptomyces Geneticsの記載に従って調製した。ライゲーション反応液をプロトプラストと混合し、ついで500μlの形質転換緩衝液を加え、ついで5mlのP緩衝液を直ちに加えた。形質転換反応液を2,750rpmで7分間充分に(down)回転させ、100μlのP緩衝液に再懸濁し、一つのR2YEプレートにプレーティングした。このプレートを28℃で20時間インキュベートし、ついで250μg/mlのチオストレプトンを含む5mlの0.7%LBアガーを重ねた。7日後、コロニーを50μg/mlのチオストレプトンを含むR2YEグリッドプレートに採った。コロニーを28℃でさらに5日間増殖させ、4℃で貯蔵した。

【0132】

この組換え微生物はATCCに寄託しており、PTA-4022と表示されている。

【0133】

実施例12：ストレプトミセス・リモススの形質転換

PigacおよびSchrenpf, Appl. Environ. Microb., Vol. 61, No. 1, 352-356 (1995)の手順を用いてストレプトミセス・リモススを形質転換した。ストレプトミセス・リモスス株R6593を20mlのCRM培地中、30℃にてロータリーシェーカー(250rpm)上で培養した。細胞を24時間の時点で5,000rpm、4℃で5分間遠心分離にかけることにより回収し、20mlの10%ショ糖に4℃で再懸濁し、5,000rpm、4℃で5分間遠心分離にかけた。ペレットを10mlの15%グリセリンに4℃で再懸濁し、5,000rpm、4℃で5分間遠心分離にかけた。ペレットを2mlの15%グリセリンに100μg/mlのリゾチームとともに4℃で再懸濁し、37℃で30分間インキュベートし、5,000rpm、4℃で5分間遠心分離にかけ、2mlの15%グリセリンに4℃で再懸濁した。15%グリセリン洗浄を1回繰り返し、ペレットを1~2mlのエレクトロポレーション緩衝液に再懸濁した。細胞を50~200μlのアリコートとして-80℃にて貯蔵した。

【0134】

ライゲーション液をストレプトミセス・リビダンスの形質転換について記載したのと同様にして調製した。ライゲーション反応液をインキュベートした後、容量をdH₂Oで100μlとし、NaClを0.3Mまで加え、反応液を等容量の24:1:1フェノール:クロロホルム:イソアミルアルコールで抽出した。20μgのグリコーゲンを加え、ライゲートしたDNAを2容量の100%エタノールで-20℃にて30分間沈殿させた。DNAをマイクロ遠心管で10分間ペレット化し、70%エタノールで1回洗浄し、speed-vac濃縮機で5分間乾燥させ、5μlのdH₂Oに再懸濁した。

【0135】

細胞の凍結アリコートの一つを室温で解凍し、エレクトロポレーションの各DNA試料について50μl/チューブに分けた。細胞を使用時まで氷上で貯蔵した。1~2μlのdH₂O中のDNAを加え、混合した。細胞とDNAとの混合物を、前もって氷上で冷却しておいたギャップが2mmのエレクトロキュベット(Bio-Rad Laboratories、リッチモンド、カリフォルニア、米国)に移した。Gene PulserTM(Bio-Rad Laboratories)を用い、2kV(10kV/cm)、25μF、400オームの設定で細胞をエレクトロポレ

ーションした。細胞を0.75～1.0 mlのCRM (0～4℃)で希釈し、15 ml培養チューブに移し、攪拌しながら30℃で3時間インキュベートした。細胞を10～30 μg/mlのチオストレプトンを含むtrypticase soy brothアガープレートにプレーティングした。

【0136】

実施例13：高速液体クロマトグラフィー

Waters 2690 Separation Moduleシステム (Waters Corp.、ミルフォード、マサチューセッツ、米国) およびSymmetryShield RP₈、粒径3.5 μmを充填したカラム4.6×150 mm (Waters Corp.、ミルフォード、マサチューセッツ、米国)を用いて液体クロマトグラフィー分離を行った。勾配移動相プログラミングを1.0 ml/分の流速で用いた。溶出液Aは、水/アセトニトリル (20:1) + 10 mM酢酸アンモニウムであった。溶出液Bは、アセトニトリル/水 (20:1)であった。移動相を12% Bから28% Bへ6分間かけて線状勾配し、28% Bで4分間アイソクラチックとした。この次に20分間かけて28% Bから100% Bへの線状勾配および2分間かけて12% Bへの線状勾配を行い、12% Bで3分間保持した。

10

【0137】

実施例14：質量分光測光

カラム溶出液をZMD質量分析計 (Micromass、マンチェスター、英国) のエレクトロスプレーイオン源に直接導入した。この装置はTest Juice参照標準 (Waters Corp.、ミルフォード、マサチューセッツ、米国)を用いて目盛りが付されており、手動ポンプ (syringe pump) (Harvard Apparatus、ホリストン、マサチューセッツ、米国) から10 μl/分の流速で送達された。質量分析計は13.2の低い質量解析および11.2の高い質量解析で操作した。10スペクトル/秒の捕捉速度でm/z 100～600のスキャン範囲を用い、スペクトルを捕捉した。使用したイオン化法は正イオンエレクトロスプレー (ESI)であった。スプレーヤーの電圧は2900 Vに保持し、イオン源の円錐体 (cone) 電圧は17 Vの電位で保持した。

20

【0138】

実施例15：他の微生物からシトクロムP450遺伝子を単離するためのebh遺伝子配列 (配列番号1) の使用

ゲノムDNAをDNAzol試薬を用いて培養液のセット (ATCC 43491、ATCC 14930、ATCC 53630、ATCC 53550、ATCC 39444、ATCC 43333、ATCC 35165) から単離した。このDNAを、ebh遺伝子の配列に対してデザインしたプライマーを使用するPCR反応に鋳型として用いた。3セットのプライマーを増幅に用いた：NPB29-6f (配列番号28) とNPB29-7r (配列番号29)、NPB29-16f (配列番号50) とNPB29-17r (配列番号51)、およびNPB29-19f (配列番号52) とNPB29-20r (配列番号53)。

30

【0139】

200～500 ngのゲノムDNAおよびフォアワードプライマーおよびリバースプライマーを含むPCR反応液を20 μlの容量で調製した。プライマーはすべて1.4～2.0 μMの最終濃度で加えた。PCR反応液は0.2 μlのAdvantageTM 2 Taq酵素 (BD Biosciences Clontech、パロアルト、カリフォルニア、米国)、2 μlのAdvantageTM 2 Taq緩衝液および0.2 μlの2.5 mM dNTPを用い、dH₂Oを20 μlまで加えて調製した。サイクル反応は、Geneamp^R 9700 PCRシステムまたはMastercycler^R 勾配 (Eppendorf、ウエストベリー、ニューヨーク、米国) にて以下のプロトコールで行った：95℃にて5分間、35サイクル (96℃にて20秒、54～69℃にて30秒、72℃にて2分間)、72℃にて7分間。PCR生成物の予期されるサイズは、NPB29-6f (配列番号28) とNPB29-7r (配列番号29) とのプライマーペアについては約1469 bp、NPB29-16f (配列番号50) とNPB29-17r (配列番号51) とのプライマーペアについては1034 bp、およびNPB29-19f (配

40

50

列番号52)とNPB29-20r(配列番号53)とのプライマーペアについては1318bpである。PCR反応液を0.7%アガロースゲルで分析した。予期されたサイズのPCR産物をゲルから切り出し、Qiagenゲル抽出法を用いて精製した。精製した生成物をBig-Dyeシーケンシングキットを用いてシーケンシングし、ABI310シーケンサーを用いて分析した。

【0140】

実施例16：プラスミドpPCRscript-ebhの構築

エポチロンBヒドロキシラーゼ遺伝子および下流のフェレドキシン遺伝子を含む1.469kb DNA断片をPCRを用いて増幅した。50μlのPCR反応液は、5μlのTaq緩衝液、2.5μlのグリセリン、1μlの20ng/μl NPB29-1プラスミド、0.4μlの25mM dNTP、各1.0μlのプライマーNPB29-6f(配列番号28)およびNPB29-7r(配列番号29)(5ピコモル/μl)、38.1μlのdH₂Oおよび0.5μlのTaq酵素(Stratagene)からなっていた。反応をGenamp[®] 9700PCRシステムで以下の条件で行った：95℃で5分間、ついで30サイクル(96℃で30秒間、60℃で30秒間、72℃で2分間)、および72℃で7分間。PCR生成物をPCRクリーンアップ法でQiagen Qiaquickカラムを用いて精製した。精製した生成物をBglIIおよびHindIIIで消化し、0.7%アガロースゲルで精製した。1.469kbのバンドをゲルから切り出し、Qiagen Qiaquickゲル抽出法を用いて溶出した。ついで、これら断片を、PCRscript Ampクローニングキットを用いてpPCRscript Ampベクターにクローニングした。挿入物を含むコロニーを、100μg/mlのアンプシリンを含む1~2mlのLB(Luria Broth)に37℃、230~300rpmで16~24時間採った。プラスミド単離をMo Bioミニプラスミドプレップキットを用いて行った。挿入物の配列を、Big-Dyeシーケンシングキットを用いたサイクルシーケンシングにより確認した。このプラスミドをpPCRscript-ebhと称した。

【0141】

実施例17：改良した収量または変化した特異性のためのebh遺伝子の突然変異誘発

Quikchange[®] XL Site-Directed Mutagenesis KitおよびQuikchange[®] Multi Site-Directed Mutagenesisキット(ともにStratageneから)を用い、ebh遺伝子のコード領域に突然変異を導入した。これら両方法は、所望の突然変異を含む35~45塩基の長さのDNAプライマー(配列番号54~59および77)、メチル化した環状プラスミド鋳型およびPfuTurbo[®] DNAポリメラーゼ(米国特許第5,545,552号および同第5,866,395号および同第5,948,663号)を用い、突然変異誘導プライマーによりもたらされる突然変異を導入したプラスミド鋳型のコピーを生成した。その後の制限エンドヌクレアーゼ酵素DpnIを用いた反応液の消化は、メチル化されたプラスミド鋳型を選択的に消化するが、メチル化されていない突然変異プラスミドは完全なままに残す。DpnI消化工程(インキュベート時間を1時間から3時間に長くした)を除き、すべての手順は製造業者の指示に従った。pPCRscript-ebhベクターを突然変異誘発の鋳型として用いた。

【0142】

1~2μlの反応液をXL1-Blue[®] エレクトロコンピテント細胞かまたはXL10-Gold[®] ウルトラコンピテント細胞(Stratagene)のいずれかに形質転換した。細胞をLA(Luria Agar)100μg/mlアンプシリンプレート上に、プレート当たり100コロニーを超える密度でプレーティングし、30~37℃で24~48時間インキュベートした。プレート全体を100μg/mlのアンプシリンを含む5mlのLBに再懸濁した。細胞を遠心分離にかけ、ついでMo Bioミニプレップ法を用いてプラスミドを精製することにより、プラスミドを再懸濁細胞から直接単離した。ついで、このプラスミドをプライマーNPB29-6f(配列番号28)およびNPB29-7r(配列番号29)を用いたPCRの鋳型として用いて突然変異した発現カセットを増幅させた。制限酵素BglIIおよびHindIIIによる1.469kb PCR産物の消化を、これもBglIIおよびHindIIIで消化したベクターpANT849へのライゲーション用断片を調製するのに用いた。ある

いは、再懸濁した細胞を用いて $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ のアンピシリンを含む $20 \sim 50 \text{ ml}$ の LB に接種し、 $30 \sim 37^\circ\text{C}$ で $18 \sim 24$ 時間増殖させた。培養液に対して Qiagen ミニプレップを行って所望の突然変異を含むプラスミド DNA を単離した。制限酵素 Bgl II および Hind III による消化を用い、Bgl II および Hind III 消化したプラスミド pANT849 へのライゲーションのための突然変異した発現カセットを切り出した。記載に従ってストレプトミセス・リビダンスまたはストレプトミセス・リモスで突然変異体のスクリーニングを行った。

【0143】

別法として、Leung らの方法 (Technique-A Journal of Methods in Cell and Molecular Biology, Vol. 1, No. 1, 11-15 (1989)) を用いて ebh 遺伝子のランダム突然変異ライブラリーを生成した。マンガンおよび/または低減した dATP 濃度を用いて Taq ポリメラーゼの突然変異誘発頻度を制御する。プラスミド pCRscript-ebh を Not I で消化してプラスミドを線状にした。ポリメラーゼ緩衝液を、 0.166 M (NH_4)₂SO₄、 0.67 M トリス-HCl (pH 8.8)、 61 mM MgCl₂、 $67 \mu\text{M}$ EDTA (pH 8.0)、 $1.7 \text{ mg}/\text{ml}$ ウシ血清アルブミンを用いて調製した。PCR 反応液を、 $10 \mu\text{l}$ の Not I 消化した pCRscript-ebh ($0.1 \text{ ng}/\mu\text{l}$)、 $10 \mu\text{l}$ のポリメラーゼ緩衝液、 $1.0 \mu\text{l}$ の 1 M β -メルカプトエタノール、 $10.0 \mu\text{l}$ の DMSO、 $1.0 \mu\text{l}$ の NPB29-6f (配列番号 28) プライマー (100 pM)、 $1.0 \mu\text{l}$ の NPB29-7r (配列番号 29) プライマー (100 pM)、 $10 \mu\text{l}$ の 5 mM MnCl₂、 $10.0 \mu\text{l}$ の 10 mM dGTP、 $10.0 \mu\text{l}$ の 2 mM dATP、 10 mM dTTP、 $10.0 \mu\text{l}$ の 10 mM dCTP、および $2.0 \mu\text{l}$ の Taq ポリメラーゼを用いて調製した。dH₂O を加えて $100 \mu\text{l}$ とした。反応液も上記と同様にして調製したが、MnCl₂ は用いなかった。サイクリング反応を GeneAmp[®] PCR システムで以下のプロトコールにて行った： 95°C で 1 分間、 $25 \sim 30$ サイクル (94°C で 1 分間、 55°C で 30 秒間、 72°C で 4 分間)、 72°C で 7 分間。PCR 反応液を Qiagen スピンカラムを用いてアガロースゲル上で分離した。ついで、得られた断片を Bgl II および Hind III で消化し、Qiagen スピンカラムを用いて精製した。ついで、精製した断片を Bgl II および Hind III で消化した pANT849 プラスミドにライゲートした。突然変異体のスクリーニングをストレプトミセス・リビダンスおよびストレプトミセス・リモスで行った。

【0144】

特徴付けした突然変異体の一覧

10

20

30

突然変異体	位置	置換	野生型
e b h 2 4 - 1 6	9 2 2 3 7	バリン アラニン	イソロイシン フェニルアラニン
e b h 2 5 - 1	1 9 5 2 9 4	セリン プロリン	アスパラギン セリン
e b h 1 0 - 5 3	1 9 0 2 3 1	チロシン アルギニン	フェニルアラニン グルタミン酸
e b h 2 4 - 1 6 d 8	9 2 2 3 7 6 7	バリン アラニン グルタミン	イソロイシン フェニルアラニン アルギニン
e b h 2 4 - 1 6 c 1 1	9 2 9 3 2 3 7 3 6 5	バリン グリシン アラニン トレオニン	イソロイシン アラニン フェニルアラニン イソロイシン
e b h 2 4 - 1 6 - 1 6	9 2 1 0 6 2 3 7	バリン アラニン アラニン	イソロイシン バリン フェニルアラニン
e b h 2 4 - 1 6 - 7 4	8 8 9 2 2 3 7	ヒスチジン バリン アラニン	アルギニン イソロイシン フェニルアラニン
e b h - M 1 8	3 1 1 7 6	リシン バリン	グルタミン酸 メチオニン
e b h 2 4 - 1 6 g 8	9 2 2 3 7 6 7 1 3 0 1 7 6	バリン アラニン グルタミン トレオニン アラニン	イソロイシン フェニルアラニン アルギニン イソロイシン メチオニン
e b h 2 4 - 1 6 b 9	9 2 2 3 7 6 7 1 4 0 1 7 6	バリン アラニン グルタミン トレオニン セリン	イソロイシン フェニルアラニン アルギニン アラニン メチオニン

10

20

30

【0145】

実施例18：e b hおよびその突然変異体を発現する細胞におけるエポチロンB形質転換の比較

これら実験では、125ml容の両くぼみフラスコ中の20mlのYEME培地にストレプトミセス・リビダンスTK24、ストレプトミセス・リビダンス(pANT849-e b h)、ストレプトミセス・リビダンス(pANT849-e b h 10-53)またはストレプトミセス・リビダンス(pANT849-e b h 24-16)の200μlの凍結孢子調製液を接種し、230rpm、30℃で48時間インキュベートした。ストレプトミセス・リビダンス(pANT849-e b h)、ストレプトミセス・リビダンス(pANT849-e b h 10-53)およびストレプトミセス・リビダンス(pANT849-e b h 24-16)を接種した培地にチオストレプトン10μg/mlを加えた。4mlの培養液を125ml容エーレンマイヤーフラスコ中の20mlのR5培地に移し、230rpm、30℃で18時間インキュベートした。各培養液に100%EtOH中のエポチロンBを最終濃度0.05%w/vで加えた。ストレプトミセス・リビダンス(pANT849-e b h 24-16)の培養液(この場合、エポチロンBは48時間で完全にエポチロンFに変換された)を除いて、試料を、0、24、48および72時間の時点

40

50

で採取した。試料をH P L Cにより分析した。結果を0時間でのエポチロンBのパーセントとして計算した。

【0146】

エポチロンB：

時間（時）	T K 2 4	pANT849-ebh	pANT849-ebh10-53	pANT849-ebh24-16
0	1 0 0 %	1 0 0 %	1 0 0 %	1 0 0 %
2 4	9 9 %	7 8 %	6 9 %	5 6 %
4 8	8 7 %	1 9 %	3 9 %	0 %
7 2	8 7 %	0 %	3 %	—

10

【0147】

エポチロンF：

時間（時）	T K 2 4	pANT849-ebh	pANT849-ebh10-53	pANT849-ebh24-16
0	0 %	0 %	0 %	0 %
2 4	0 %	4 %	9 %	2 3 %
4 8	0 %	2 1 %	2 9 %	5 2 %
7 2	0 %	1 4 %	4 1 %	—

20

【0148】

別法として、エポチロンBのエポチロンFへのバイオコンバージョンを、e b h遺伝子およびその変異体または突然変異体を含む発現プラスミドで形質転換したストレプトミセス・リモスス宿主細胞で行った。100 μ lの凍結したストレプトミセス・リモスス形質転換体培養液を10 μ g / m lのチオストレプトンを含む20 m lのCRM培地に接種し、30℃、230～300 r p mで16～24時間培養した。各培養液に100%エタノール中のエポチロンBを最終濃度0.05% w / vで加えた。反応液を典型的に30℃、230～300 r p mで20～40時間インキュベートした。エポチロンBおよびエポチロンFの濃度をH P L C分析により決定した。

【0149】

30

ストレプトミセス・リモススにおける突然変異体の評価

突然変異体	エポチロンFの収率
e b h - M 1 8	5 5 %
e b h 2 4 - 1 6 d 8	7 5 %
e b h 2 4 - 1 6 c 1 1	7 5 %
e b h 2 4 - 1 6 - 1 6	7 5 %
e b h 2 4 - 1 6 - 7 4	7 5 %
e b h 2 4 - 1 6 b 9	8 0 %
e b h 2 4 - 1 6 g 8	8 5 %

40

【0150】

実施例19：コンパクチンのプラバスタチンへのバイオトランスフォーメーション

125 m l容フラスコ中の10 μ g / m lのチオストレプトンを含む20 m lのR 2 Y E培地に、ストレプトミセス・リビダンス（p A N T 8 4 9）、ストレプトミセス・リビダンス（p A N T 8 4 9 - e b h）の凍結孢子調製物（200 μ l）を接種し、230 r p m、28℃で72時間インキュベートした。4 m lの培養液を20 m lのR 2 Y E培地に接種し、230 r p m、28℃で24時間増殖させた。1 m lの培養液を15 m lポリプロピレンチューブに移し、各培養液に10 μ lのコンパクチン（40 m g / m l）を加え、28℃、250 r p mで24時間インキュベートした。500 μ lの培養液ブロス新たな15 m lポリプロピレン培養チューブに移した。500 μ lの50 m M水酸化ナト

50

リウムを加え、回転攪拌した。3 ml のメタノールを加えて回転攪拌し、チューブを T J-6 卓上遠心管中、3000 rpm で 10 分間遠心分離にかけた。有機相を HPLC により分析した。対照のストレプトミセス・リビダンス (pANT849) 培養液と比較したコンパクチンおよびプラバスタチン値を評価した。

【0151】

出発物質のコンパクチン濃度のパーセントとしてのコンパクチンおよびプラバスタチン：

	ストレプトミセス・リビダンス (pANT849)	ストレプトミセス・リビダンス (pANT849-ebh)
コンパクチン	36%	11%
プラバスタチン	11%	53%

10

【0152】

実施例 20：コンパクチンおよびプラバスタチンの検出のための高速液体クロマトグラフィー法

Hewlett Packard 1090 Series Separation システム (Agilent Technologies、パロアルト、カリフォルニア、米国) および Spherisorb ODS2、粒径 5 μ m を充填したカラム 50 $\times$ 46 mm (Keystone Scientific, Inc.、ベルフォンテ、ペンシルベニア、米国) を用い、液体クロマトグラフィー分離を行った。勾配移動相プログラミングを 2.0 ml / 分の流速で用いた。溶出液 A は、水、10 mM 酢酸アンモニウムおよび 0.05% リン酸であった。溶出液 B は、アセトニトリルであった。移動相を 20% B から 90% B へ 4 分間かけて線状勾配した。

20

【0153】

実施例 21：突然変異体 ebh25-1 のバイオトランスフォーメーション産物の構造決定

分析的 HPLC を、YMC 充填 ODS-AQ カラム、4.6 mm 内径 $\times$ 15 cm 長とともに Hewlett Packard 1100 Series Liquid chromatograph を用いて行った。水 (溶媒 A) およびアセトニトリル (溶媒 B) の勾配系を用いた：20% から 90% B への線状勾配を 10 分間；90% から 20% への線状勾配を 2 分間。流速は 1 ml / 分であり、UV 検出は 254 nm で行った。

30

【0154】

分取 HPLC を以下の装置および条件を用いて行った：

ポンプ：Varian ProStar Solvent Delivery Module (Varian Inc.、パロアルト、カリフォルニア、米国)。検出器：Gynkotek UVD340S

カラム：YMC ODS-A カラム (30 mm 内径 $\times$ 100 mm 長、5 μ 粒径)

溶出の流速：30 ml / 分

溶出勾配：(溶媒 A：水、溶媒 B：アセトニトリル)、20% B、2 分間；20% から 60% B への線状勾配、18 分間；60% B、2 分間；60% から 90% B への線状勾配、1 分間；90% B、3 分間；90% から 20% B への線状勾配、2 分間

40

検出：UV、210 nm

【0155】

LC/NMR を以下のようにして行った：40 μ l の試料を YMC 充填 ODS-AQ カラム (4.6 mm 内径 $\times$ 15 cm 長) に注入した。カラムを 1 ml / 分の流速で D₂O (溶媒 A) およびアセトニトリル-d₃ (溶媒 B) の勾配系を用いて溶出した：30% B、1 分間；30% から 80% B への線状勾配、11 分間。溶出液を Varian AS-600 NMR 分析計中の F19/H1 NMR プロブ (60 μ l 活性容量) に流す前に UV 検出セル (254 nm でモニター) を通過させた。バイオトランスフォーメーション生成物は約 7.5 分で溶出されたので溶出流を手動で停止させて NMR データ捕捉のために溶出液が NMR プロブ中に残るようにした。

50

【0156】

単離および分析を以下のようにして行った。ブタノール／メタノール抽出液（約10 ml）を窒素流下で蒸発乾固させた。残渣（38 mg）に1 mlのメタノールを加え、不溶性物質を遠心分離（13000 rpm、2分）により除去した。上澄み液の0.1 mlをLC／NMR研究に用い、残りの0.9 mlを分取HPLC（0.2～0.4 ml／注入）に供した。2つの主要なピークが観察され、回収した：ピークAは14～15分で溶出したのに対し、ピークBは16.5～17.5分で溶出した。分析的HPLC分析は、ピークBが親化合物のエポチロンBであり（Rt 8.5分）、ピークAがバイオトランスフォーメーション生成物である（Rt 7.3分）ことを示していた。ピークAのフラクションをプールし、これらプールしたフラクションでMS分析データを得た。プールしたフラクションを蒸発させて小容量とし、ついで凍結乾燥して3 mgの白色固体を得た。この白色固体（メタノールに溶解）のNMRおよびHPLC分析により、バイオトランスフォーメーション生成物が乾燥プロセスの際に部分的に分解したことが明らかになった。

10

【0157】

付表 1

【表 3】

原子番号	残基	原子名	X-座標	Y-座標	Z-座標
1	ALA9	N	-39.918	-4.913	-1.651
2	ALA9	CA	-38.454	-5.033	-1.537
3	ALA9	C	-37.953	-4.886	-0.099
4	ALA9	O	-38.625	-4.31	0.765
5	ALA9	CB	-37.809	-3.967	-2.415
6	THR10	N	-36.781	-5.447	0.146
7	THR10	CA	-36.187	-5.437	1.49
8	THR10	C	-34.916	-4.585	1.553
9	THR10	O	-34.016	-4.735	0.72
10	THR10	CB	-35.871	-6.887	1.846
11	THR10	OG1	-37.075	-7.631	1.717
12	THR10	CG2	-35.355	-7.053	3.271
13	LEU11	N	-34.858	-3.699	2.536
14	LEU11	CA	-33.669	-2.853	2.745
15	LEU11	C	-32.511	-3.649	3.353
16	LEU11	O	-32.706	-4.468	4.259
17	LEU11	CB	-34.033	-1.707	3.687
18	LEU11	CG	-35.079	-0.78	3.078
19	LEU11	CD1	-35.53	0.265	4.091
20	LEU11	CD2	-34.555	-0.111	1.81
21	PRO12	N	-31.32	-3.422	2.823
22	PRO12	CA	-30.121	-4.119	3.302
23	PRO12	C	-29.652	-3.606	4.663
24	PRO12	O	-29.656	-2.397	4.918
25	PRO12	CB	-29.081	-3.842	2.259
26	PRO12	CG	-29.597	-2.771	1.309
27	PRO12	CD	-31.031	-2.493	1.729
28	LEU13	N	-29.278	-4.522	5.54
29	LEU13	CA	-28.676	-4.118	6.819
30	LEU13	C	-27.183	-3.88	6.627
31	LEU13	O	-26.449	-4.806	6.267
32	LEU13	CB	-28.898	-5.196	7.872
33	LEU13	CG	-30.374	-5.354	8.217
34	LEU13	CD1	-30.587	-6.516	9.181
35	LEU13	CD2	-30.945	-4.067	8.802
36	ALA14	N	-26.72	-2.741	7.112
37	ALA14	CA	-25.355	-2.266	6.825
38	ALA14	C	-24.244	-2.941	7.634
39	ALA14	O	-23.058	-2.719	7.372
40	ALA14	CB	-25.311	-0.764	7.075
41	ARG15	N	-24.628	-3.792	8.569
42	ARG15	CA	-23.664	-4.537	9.379
43	ARG15	C	-23.478	-5.983	8.91
44	ARG15	O	-22.815	-6.767	9.599
45	ARG15	CB	-24.174	-4.519	10.81
46	ARG15	CG	-25.655	-4.879	10.84
47	ARG15	CD	-26.2	-4.843	12.26
48	ARG15	NE	-27.657	-5.039	12.256
49	ARG15	CZ	-28.358	-5.301	13.36
50	ARG15	NH1	-29.69	-5.376	13.3
51	ARG15	NH2	-27.735	-5.412	14.536
52	LYS16	N	-24.096	-6.351	7.798

10

20

30

40

【表 4】

53	LYS16	CA	-24.016	-7.741	7.335	
54	LYS16	C	-22.639	-8.128	6.807	
55	LYS16	O	-21.959	-7.359	6.115	
56	LYS16	CB	-25.061	-7.977	6.252	
57	LYS16	CG	-26.466	-7.985	6.839	
58	LYS16	CD	-26.605	-9.079	7.892	
59	LYS16	CE	-28.002	-9.092	8.499	
60	LYS16	NZ	-28.113	-10.128	9.537	
61	CYS17	N	-22.317	-9.392	7.036	
62	CYS17	CA	-21.061	-10.004	6.56	10
63	CYS17	C	-20.737	-9.771	5.066	
64	CYS17	O	-19.662	-9.205	4.833	
65	CYS17	CB	-21.096	-11.501	6.864	
66	CYS17	SG	-21.33	-11.937	8.602	
67	PRO18	N	-21.635	-10.003	4.1	
68	PRO18	CA	-21.293	-9.756	2.683	
69	PRO18	C	-21.123	-8.291	2.246	
70	PRO18	O	-21.013	-8.061	1.036	
71	PRO18	CB	-22.388	-10.383	1.878	
72	PRO18	CG	-23.509	-10.812	2.802	
73	PRO18	CD	-23.002	-10.554	4.207	
74	PHE19	N	-21.137	-7.33	3.162	20
75	PHE19	CA	-20.792	-5.947	2.834	
76	PHE19	C	-19.279	-5.777	2.788	
77	PHE19	O	-18.789	-4.92	2.036	
78	PHE19	CB	-21.36	-5.007	3.894	
79	PHE19	CG	-22.8	-4.568	3.654	
80	PHE19	CD1	-23.051	-3.27	3.232	
81	PHE19	CD2	-23.856	-5.444	3.867	
82	PHE19	CE1	-24.355	-2.853	3.003	
83	PHE19	CE2	-25.159	-5.03	3.629	
84	PHE19	CZ	-25.409	-3.735	3.197	
85	SER20	N	-18.573	-6.687	3.449	
86	SER20	CA	-17.102	-6.717	3.446	30
87	SER20	C	-16.569	-7.839	4.342	
88	SER20	O	-16.632	-7.723	5.573	
89	SER20	CB	-16.557	-5.371	3.929	
90	SER20	OG	-17.236	-5.019	5.129	
91	PRO21	N	-15.974	-8.867	3.753	
92	PRO21	CA	-15.978	-9.134	2.304	
93	PRO21	C	-17.267	-9.836	1.856	
94	PRO21	O	-18.026	-10.327	2.702	
95	PRO21	CB	-14.8	-10.047	2.111	
96	PRO21	CG	-14.442	-10.669	3.455	
97	PRO21	CD	-15.306	-9.949	4.481	
98	PRO22	N	-17.551	-9.859	0.561	40
99	PRO22	CA	-16.897	-9.007	-0.445	
100	PRO22	C	-17.4	-7.575	-0.296	
101	PRO22	O	-18.341	-7.371	0.469	
102	PRO22	CB	-17.32	-9.591	-1.762	
103	PRO22	CG	-18.478	-10.549	-1.528	
104	PRO22	CD	-18.669	-10.604	-0.021	
105	PRO23	N	-16.687	-6.605	-0.842	
106	PRO23	CA	-17.224	-5.241	-0.897	

【表 5】

107	PRO23	C	-18.525	-5.21	-1.693	
108	PRO23	O	-18.524	-5.083	-2.925	
109	PRO23	CB	-16.159	-4.417	-1.547	
110	PRO23	CG	-15.004	-5.321	-1.95	
111	PRO23	CD	-15.388	-6.725	-1.509	
112	GLU24	N	-19.62	-5.122	-0.956	
113	GLU24	CA	-20.963	-5.192	-1.547	
114	GLU24	C	-21.415	-3.843	-2.088	
115	GLU24	O	-22.323	-3.794	-2.93	
116	GLU24	CB	-21.934	-5.68	-0.48	10
117	GLU24	CG	-23.27	-6.137	-1.052	
118	GLU24	CD	-23.982	-7.017	-0.024	
119	GLU24	OE1	-24.613	-7.981	-0.433	
120	GLU24	OE2	-23.833	-6.745	1.158	
121	TYR25	N	-20.573	-2.843	-1.878	
122	TYR25	CA	-20.842	-1.47	-2.303	
123	TYR25	C	-20.704	-1.311	-3.816	
124	TYR25	O	-21.364	-0.436	-4.385	
125	TYR25	CB	-19.828	-0.568	-1.608	
126	TYR25	CG	-19.616	-0.882	-0.128	
127	TYR25	CD1	-20.662	-0.753	0.779	
128	TYR25	CD2	-18.364	-1.298	0.311	20
129	TYR25	CE1	-20.461	-1.062	2.119	
130	TYR25	CE2	-18.163	-1.605	1.65	
131	TYR25	CZ	-19.213	-1.492	2.55	
132	TYR25	OH	-19.026	-1.859	3.866	
133	GLU26	N	-20.1	-2.296	-4.468	
134	GLU26	CA	-20.009	-2.293	-5.928	
135	GLU26	C	-21.404	-2.483	-6.52	
136	GLU26	O	-21.92	-1.572	-7.177	
137	GLU26	CB	-19.129	-3.454	-6.39	
138	GLU26	CG	-17.813	-3.593	-5.628	
139	GLU26	CD	-16.94	-2.342	-5.707	
140	GLU26	OE1	-16.345	-2.12	-6.749	30
141	GLU26	OE2	-16.773	-1.731	-4.657	
142	ARG27	N	-22.105	-3.488	-6.017	
143	ARG27	CA	-23.437	-3.805	-6.538	
144	ARG27	C	-24.504	-2.909	-5.921	
145	ARG27	O	-25.496	-2.591	-6.59	
146	ARG27	CB	-23.752	-5.26	-6.22	
147	ARG27	CG	-22.7	-6.189	-6.812	
148	ARG27	CD	-23.031	-7.653	-6.55	
149	ARG27	NE	-23.146	-7.926	-5.108	
150	ARG27	CZ	-22.251	-8.648	-4.428	
151	ARG27	NH1	-21.16	-9.11	-5.043	40
152	ARG27	NH2	-22.428	-8.879	-3.126	
153	LEU28	N	-24.197	-2.331	-4.771	
154	LEU28	CA	-25.11	-1.358	-4.168	
155	LEU28	C	-25.131	-0.079	-4.987	
156	LEU28	O	-26.214	0.286	-5.45	
157	LEU28	CB	-24.67	-1.039	-2.746	
158	LEU28	CG	-24.868	-2.224	-1.81	
159	LEU28	CD1	-24.303	-1.916	-0.43	
160	LEU28	CD2	-26.34	-2.609	-1.716	

【表 6】

161	ARG29	N	-23.969	0.307	-5.49	
162	ARG29	CA	-23.835	1.502	-6.327	
163	ARG29	C	-24.521	1.334	-7.677	
164	ARG29	O	-25.271	2.226	-8.096	
165	ARG29	CB	-22.345	1.682	-6.568	
166	ARG29	CG	-21.997	2.947	-7.336	
167	ARG29	CD	-20.519	2.941	-7.711	
168	ARG29	NE	-19.696	2.563	-6.551	
169	ARG29	CZ	-18.945	1.459	-6.523	
170	ARG29	NH1	-18.872	0.673	-7.6	
171	ARG29	NH2	-18.265	1.145	-5.421	10
172	ARG30	N	-24.494	0.109	-8.182	
173	ARG30	CA	-25.112	-0.208	-9.475	
174	ARG30	C	-26.629	-0.386	-9.407	
175	ARG30	O	-27.282	-0.429	-10.455	
176	ARG30	CB	-24.503	-1.512	-9.971	
177	ARG30	CG	-22.992	-1.401	-10.1	
178	ARG30	CD	-22.376	-2.745	-10.463	
179	ARG30	NE	-20.909	-2.659	-10.479	
180	ARG30	CZ	-20.12	-3.648	-10.054	
181	ARG30	NH1	-20.658	-4.772	-9.576	
182	ARG30	NH2	-18.793	-3.508	-10.099	20
183	GLU31	N	-27.194	-0.493	-8.215	
184	GLU31	CA	-28.653	-0.576	-8.109	
185	GLU31	C	-29.207	0.713	-7.51	
186	GLU31	O	-30.393	1.032	-7.656	
187	GLU31	CB	-29.025	-1.746	-7.203	
188	GLU31	CG	-28.381	-3.055	-7.65	
189	GLU31	CD	-28.814	-3.443	-9.061	
190	GLU31	OE1	-30.013	-3.448	-9.301	
191	GLU31	OE2	-27.961	-3.944	-9.782	
192	SER32	N	-28.319	1.439	-6.855	
193	SER32	CA	-28.652	2.672	-6.147	
194	SER32	C	-27.386	3.393	-5.683	30
195	SER32	O	-26.706	2.984	-4.731	
196	SER32	CB	-29.509	2.309	-4.939	
197	SER32	OG	-28.842	1.268	-4.234	
198	PRO33	N	-27.148	4.543	-6.292	
199	PRO33	CA	-26.039	5.408	-5.869	
200	PRO33	C	-26.227	5.972	-4.454	
201	PRO33	O	-25.241	6.254	-3.758	
202	PRO33	CB	-26.023	6.511	-6.879	
203	PRO33	CG	-27.203	6.364	-7.829	
204	PRO33	CD	-27.933	5.107	-7.394	
205	VAL34	N	-27.478	6.094	-4.033	
206	VAL34	CA	-27.83	6.472	-2.661	40
207	VAL34	C	-28.828	5.447	-2.122	
208	VAL34	O	-30.01	5.467	-2.487	
209	VAL34	CB	-28.483	7.85	-2.686	
210	VAL34	CG1	-28.789	8.339	-1.275	
211	VAL34	CG2	-27.616	8.865	-3.42	
212	SER35	N	-28.344	4.546	-1.286	
213	SER35	CA	-29.186	3.438	-0.802	
214	SER35	C	-29.512	3.536	0.688	

【表 7】

215	SER35	O	-28.615	3.692	1.521	
216	SER35	CB	-28.456	2.126	-1.077	
217	SER35	OG	-27.19	2.169	-0.43	
218	ARG36	N	-30.785	3.413	1.025	
219	ARG36	CA	-31.168	3.431	2.443	
220	ARG36	C	-30.894	2.072	3.082	
221	ARG36	O	-31.516	1.059	2.741	
222	ARG36	CB	-32.645	3.779	2.597	
223	ARG36	CG	-33.016	3.857	4.076	
224	ARG36	CD	-34.513	4.047	4.295	10
225	ARG36	NE	-34.987	5.35	3.804	
226	ARG36	CZ	-36.272	5.582	3.523	
227	ARG36	NH1	-37.16	4.59	3.609	
228	ARG36	NH2	-36.662	6.791	3.113	
229	VAL37	N	-29.921	2.067	3.974	
230	VAL37	CA	-29.543	0.855	4.695	
231	VAL37	C	-29.982	0.926	6.152	
232	VAL37	O	-30.313	1.995	6.684	
233	VAL37	CB	-28.03	0.681	4.608	
234	VAL37	CG1	-27.591	0.391	3.177	
235	VAL37	CG2	-27.298	1.898	5.163	
236	GLY38	N	-30.064	-0.24	6.761	20
237	GLY38	CA	-30.404	-0.332	8.18	
238	GLY38	C	-29.151	-0.563	9.016	
239	GLY38	O	-28.562	-1.652	9.003	
240	LEU39	N	-28.764	0.463	9.75	
241	LEU39	CA	-27.607	0.399	10.656	
242	LEU39	C	-27.911	-0.554	11.817	
243	LEU39	O	-29.028	-1.085	11.882	
244	LEU39	CB	-27.353	1.814	11.187	
245	LEU39	CG	-26.198	2.546	10.5	
246	LEU39	CD1	-26.368	2.665	8.988	
247	LEU39	CD2	-26.011	3.925	11.12	
248	PRO40	N	-26.919	-0.869	12.643	30
249	PRO40	CA	-27.183	-1.62	13.875	
250	PRO40	C	-28.423	-1.116	14.614	
251	PRO40	O	-28.771	0.073	14.574	
252	PRO40	CB	-25.933	-1.51	14.691	
253	PRO40	CG	-24.84	-0.886	13.837	
254	PRO40	CD	-25.497	-0.52	12.516	
255	SER41	N	-29.188	-2.109	15.042	
256	SER41	CA	-30.511	-1.986	15.686	
257	SER41	C	-31.548	-1.213	14.856	
258	SER41	O	-32.379	-0.492	15.419	
259	SER41	CB	-30.387	-1.382	17.087	40
260	SER41	OG	-30.036	-0.008	17.001	
261	GLY42	N	-31.474	-1.34	13.539	
262	GLY42	CA	-32.521	-0.831	12.644	
263	GLY42	C	-32.557	0.686	12.434	
264	GLY42	O	-33.59	1.208	11.997	
265	GLN43	N	-31.471	1.392	12.713	
266	GLN43	CA	-31.501	2.847	12.494	
267	GLN43	C	-31.201	3.16	11.025	
268	GLN43	O	-30.079	2.955	10.551	

【表 8】

269	GLN43	CB	-30.507	3.53	13.437	
270	GLN43	CG	-30.681	5.05	13.439	
271	GLN43	CD	-29.873	5.699	14.567	
272	GLN43	OE1	-30.31	6.682	15.184	
273	GLN43	NE2	-28.723	5.116	14.852	
274	THR44	N	-32.227	3.582	10.304	
275	THR44	CA	-32.096	3.832	8.859	
276	THR44	C	-31.194	5.02	8.534	
277	THR44	O	-31.231	6.071	9.187	
278	THR44	CB	-33.475	4.077	8.258	10
279	THR44	OG1	-34.009	5.268	8.823	
280	THR44	CG2	-34.428	2.923	8.551	
281	ALA45	N	-30.35	4.799	7.541	
282	ALA45	CA	-29.426	5.833	7.07	
283	ALA45	C	-29.16	5.718	5.572	
284	ALA45	O	-29.105	4.619	5.009	
285	ALA45	CB	-28.115	5.705	7.836	
286	TRP46	N	-28.989	6.859	4.931	
287	TRP46	CA	-28.702	6.865	3.492	
288	TRP46	C	-27.212	6.698	3.221	
289	TRP46	O	-26.408	7.589	3.517	
290	TRP46	CB	-29.185	8.173	2.881	20
291	TRP46	CG	-30.693	8.309	2.805	
292	TRP46	CD1	-31.509	9.009	3.665	
293	TRP46	CD2	-31.552	7.723	1.804	
294	TRP46	NE1	-32.788	8.894	3.228	
295	TRP46	CE2	-32.862	8.146	2.116	
296	TRP46	CE3	-31.324	6.922	0.701	
297	TRP46	CZ2	-33.913	7.774	1.295	
298	TRP46	CZ3	-32.389	6.538	-0.105	
299	TRP46	CH2	-33.68	6.967	0.19	
300	ALA47	N	-26.863	5.559	2.652	
301	ALA47	CA	-25.475	5.257	2.302	
302	ALA47	C	-25.153	5.708	0.882	30
303	ALA47	O	-25.772	5.272	-0.1	
304	ALA47	CB	-25.248	3.756	2.427	
305	LEU48	N	-24.185	6.602	0.797	
306	LEU48	CA	-23.751	7.129	-0.501	
307	LEU48	C	-22.648	6.252	-1.067	
308	LEU48	O	-21.546	6.197	-0.511	
309	LEU48	CB	-23.222	8.543	-0.317	
310	LEU48	CG	-24.27	9.464	0.289	
311	LEU48	CD1	-23.707	10.863	0.454	
312	LEU48	CD2	-25.524	9.515	-0.569	
313	THR49	N	-22.948	5.601	-2.176	
314	THR49	CA	-22.01	4.636	-2.75	40
315	THR49	C	-21.197	5.214	-3.907	
316	THR49	O	-20.047	4.803	-4.09	
317	THR49	CB	-22.774	3.391	-3.196	
318	THR49	OG1	-23.783	3.769	-4.125	
319	THR49	CG2	-23.458	2.703	-2.02	
320	ARG50	N	-21.724	6.2	-4.616	
321	ARG50	CA	-20.899	6.838	-5.655	
322	ARG50	C	-20.007	7.927	-5.081	

【表 9】

323	ARG50	O	-20.456	8.712	-4.234	
324	ARG50	CB	-21.737	7.467	-6.758	
325	ARG50	CG	-22.426	6.441	-7.639	
326	ARG50	CD	-22.852	7.085	-8.951	
327	ARG50	NE	-23.597	8.327	-8.704	
328	ARG50	CZ	-23.779	9.27	-9.629	
329	ARG50	NH1	-24.462	10.375	-9.326	
330	ARG50	NH2	-23.274	9.111	-10.854	
331	LEU51	N	-18.92	8.175	-5.797	
332	LEU51	CA	-17.931	9.19	-5.399	10
333	LEU51	C	-18.52	10.584	-5.583	
334	LEU51	O	-18.42	11.426	-4.682	
335	LEU51	CB	-16.726	9.066	-6.33	
336	LEU51	CG	-15.377	9.193	-5.621	
337	LEU51	CD1	-14.233	9.154	-6.628	
338	LEU51	CD2	-15.267	10.433	-4.746	
339	GLU52	N	-19.404	10.68	-6.562	
340	GLU52	CA	-20.088	11.93	-6.891	
341	GLU52	C	-21.101	12.314	-5.811	
342	GLU52	O	-21.114	13.477	-5.389	
343	GLU52	CB	-20.821	11.759	-8.229	
344	GLU52	CG	-19.897	11.56	-9.439	20
345	GLU52	CD	-19.749	10.09	-9.853	
346	GLU52	OE1	-19.796	9.24	-8.971	
347	GLU52	OE2	-19.502	9.849	-11.025	
348	ASP53	N	-21.659	11.313	-5.146	
349	ASP53	CA	-22.646	11.572	-4.096	
350	ASP53	C	-21.953	11.905	-2.783	
351	ASP53	O	-22.4	12.804	-2.063	
352	ASP53	CB	-23.493	10.322	-3.876	
353	ASP53	CG	-24.263	9.94	-5.133	
354	ASP53	OD1	-24.319	8.749	-5.405	
355	ASP53	OD2	-24.633	10.838	-5.878	
356	ILE54	N	-20.75	11.382	-2.614	30
357	ILE54	CA	-19.991	11.62	-1.387	
358	ILE54	C	-19.301	12.976	-1.41	
359	ILE54	O	-19.36	13.7	-0.409	
360	ILE54	CB	-18.963	10.509	-1.269	
361	ILE54	CG1	-19.674	9.167	-1.252	
362	ILE54	CG2	-18.113	10.671	-0.015	
363	ILE54	CD1	-18.677	8.03	-1.365	
364	ARG55	N	-18.916	13.43	-2.592	
365	ARG55	CA	-18.346	14.776	-2.704	
366	ARG55	C	-19.44	15.836	-2.679	
367	ARG55	O	-19.252	16.893	-2.065	
368	ARG55	CB	-17.551	14.883	-3.998	40
369	ARG55	CG	-16.293	14.028	-3.94	
370	ARG55	CD	-15.498	14.133	-5.235	
371	ARG55	NE	-16.277	13.61	-6.367	
372	ARG55	CZ	-15.712	13.028	-7.427	
373	ARG55	NH1	-14.383	12.947	-7.513	
374	ARG55	NH2	-16.475	12.553	-8.413	
375	GLU56	N	-20.64	15.438	-3.068	
376	GLU56	CA	-21.795	16.331	-2.984	

【表 1 0】

377	GLU56	C	-22.287	16.444	-1.539	
378	GLU56	O	-22.628	17.546	-1.095	
379	GLU56	CB	-22.875	15.722	-3.866	
380	GLU56	CG	-24.103	16.605	-4.028	
381	GLU56	CD	-25.112	15.838	-4.874	
382	GLU56	OE1	-25.906	16.463	-5.56	
383	GLU56	OE2	-25.055	14.616	-4.834	
384	MET57	N	-22.065	15.392	-0.767	
385	MET57	CA	-22.379	15.386	0.665	
386	MET57	C	-21.4	16.241	1.459	10
387	MET57	O	-21.827	17.091	2.248	
388	MET57	CB	-22.242	13.948	1.141	
389	MET57	CG	-22.423	13.805	2.646	
390	MET57	SD	-21.979	12.184	3.306	
391	MET57	CE	-20.221	12.196	2.89	
392	LEU58	N	-20.14	16.197	1.056	
393	LEU58	CA	-19.089	16.973	1.726	
394	LEU58	C	-19.07	18.444	1.307	
395	LEU58	O	-18.398	19.263	1.946	
396	LEU58	CB	-17.751	16.327	1.389	
397	LEU58	CG	-17.638	14.941	2.013	
398	LEU58	CD1	-16.504	14.133	1.394	20
399	LEU58	CD2	-17.49	15.03	3.528	
400	SER59	N	-19.807	18.776	0.261	
401	SER59	CA	-19.959	20.171	-0.144	
402	SER59	C	-21.305	20.739	0.304	
403	SER59	O	-21.531	21.951	0.204	
404	SER59	CB	-19.852	20.24	-1.661	
405	SER59	OG	-18.59	19.697	-2.022	
406	SER60	N	-22.175	19.879	0.807	
407	SER60	CA	-23.5	20.318	1.246	
408	SER60	C	-23.505	20.806	2.685	
409	SER60	O	-23.464	19.996	3.62	
410	SER60	CB	-24.477	19.156	1.138	30
411	SER60	OG	-25.689	19.581	1.749	
412	PRO61	N	-23.91	22.058	2.835	
413	PRO61	CA	-24.023	22.695	4.154	
414	PRO61	C	-25.231	22.233	4.983	
415	PRO61	O	-25.41	22.7	6.113	
416	PRO61	CB	-24.145	24.157	3.853	
417	PRO61	CG	-24.401	24.343	2.364	
418	PRO61	CD	-24.301	22.959	1.747	
419	HIS62	N	-26.044	21.333	4.451	
420	HIS62	CA	-27.21	20.856	5.18	
421	HIS62	C	-26.949	19.497	5.813	40
422	HIS62	O	-27.863	18.935	6.427	
423	HIS62	CB	-28.379	20.764	4.214	
424	HIS62	CG	-28.703	22.084	3.55	
425	HIS62	ND1	-28.955	23.252	4.171	
426	HIS62	CD2	-28.796	22.32	2.198	
427	HIS62	CE1	-29.197	24.205	3.248	
428	HIS62	NE2	-29.098	23.627	2.029	
429	PHE63	N	-25.765	18.945	5.596	
430	PHE63	CA	-25.385	17.693	6.258	

【表 1 1】

431	PHE63	C	-24.492	17.977	7.456	
432	PHE63	O	-23.261	17.885	7.396	
433	PHE63	CB	-24.686	16.783	5.262	
434	PHE63	CG	-25.651	16.13	4.284	
435	PHE63	CD1	-26.92	15.76	4.71	
436	PHE63	CD2	-25.265	15.901	2.972	
437	PHE63	CE1	-27.804	15.161	3.824	
438	PHE63	CE2	-26.147	15.298	2.087	
439	PHE63	CZ	-27.415	14.928	2.512	
440	SER64	N	-25.159	18.211	8.569	10
441	SER64	CA	-24.502	18.656	9.795	
442	SER64	C	-23.765	17.525	10.507	
443	SER64	O	-24.07	16.34	10.339	
444	SER64	CB	-25.587	19.225	10.7	
445	SER64	OG	-24.96	19.785	11.84	
446	SER65	N	-22.719	17.898	11.218	
447	SER65	CA	-22.006	16.938	12.053	
448	SER65	C	-22.463	17.032	13.513	
449	SER65	O	-22.031	16.247	14.365	
450	SER65	CB	-20.522	17.234	11.936	
451	SER65	OG	-20.167	17.174	10.564	
452	ASP66	N	-23.368	17.961	13.782	20
453	ASP66	CA	-23.901	18.186	15.122	
454	ASP66	C	-25.388	18.496	14.919	
455	ASP66	O	-25.978	18.026	13.938	
456	ASP66	CB	-23.149	19.393	15.69	
457	ASP66	CG	-22.904	19.311	17.192	
458	ASP66	OD1	-21.835	19.724	17.618	
459	ASP66	OD2	-23.871	19.048	17.899	
460	ARG67	N	-25.972	19.246	15.842	
461	ARG67	CA	-27.32	19.831	15.692	
462	ARG67	C	-28.423	18.78	15.619	
463	ARG67	O	-28.768	18.296	14.533	
464	ARG67	CB	-27.384	20.684	14.423	30
465	ARG67	CG	-26.263	21.716	14.336	
466	ARG67	CD	-26.329	22.778	15.428	
467	ARG67	NE	-25.137	23.64	15.358	
468	ARG67	CZ	-25.091	24.799	14.695	
469	ARG67	NH1	-26.189	25.28	14.107	
470	ARG67	NH2	-23.957	25.503	14.663	
471	GLN68	N	-28.983	18.45	16.768	
472	GLN68	CA	-30.127	17.538	16.79	
473	GLN68	C	-31.414	18.348	16.65	
474	GLN68	O	-31.728	19.187	17.503	
475	GLN68	CB	-30.116	16.757	18.1	
476	GLN68	CG	-31.207	15.692	18.12	40
477	GLN68	CD	-31.109	14.852	19.389	
478	GLN68	OE1	-31.941	14.973	20.296	
479	GLN68	NE2	-30.137	13.955	19.406	
480	SER69	N	-32.129	18.102	15.565	
481	SER69	CA	-33.37	18.833	15.272	
482	SER69	C	-34.444	18.558	16.32	
483	SER69	O	-34.447	17.495	16.958	
484	SER69	CB	-33.885	18.387	13.91	

【表 1 2】

485	SER69	OG	-34.261	17.025	14.033	
486	PRO70	N	-35.332	19.526	16.499	
487	PRO70	CA	-36.438	19.385	17.447	
488	PRO70	C	-37.244	18.122	17.171	
489	PRO70	O	-37.547	17.795	16.018	
490	PRO70	CB	-37.267	20.622	17.291	
491	PRO70	CG	-36.6	21.547	16.285	
492	PRO70	CD	-35.348	20.824	15.815	
493	SER71	N	-37.424	17.369	18.245	
494	SER71	CA	-38.115	16.065	18.289	10
495	SER71	C	-37.589	15.02	17.298	
496	SER71	O	-38.378	14.228	16.769	
497	SER71	CB	-39.625	16.244	18.111	
498	SER71	OG	-39.919	16.638	16.777	
499	PHE72	N	-36.282	14.985	17.081	
500	PHE72	CA	-35.679	13.876	16.321	
501	PHE72	C	-34.364	13.43	16.957	
502	PHE72	O	-33.281	13.768	16.458	
503	PHE72	CB	-35.428	14.283	14.872	
504	PHE72	CG	-36.682	14.456	14.018	
505	PHE72	CD1	-37.097	15.724	13.63	
506	PHE72	CD2	-37.402	13.339	13.617	20
507	PHE72	CE1	-38.238	15.875	12.853	
508	PHE72	CE2	-38.544	13.489	12.84	
509	PHE72	CZ	-38.962	14.758	12.459	
510	PRO73	N	-34.469	12.59	17.979	
511	PRO73	CA	-33.31	12.19	18.786	
512	PRO73	C	-32.522	11.027	18.18	
513	PRO73	O	-32.606	9.895	18.668	
514	PRO73	CB	-33.898	11.776	20.099	
515	PRO73	CG	-35.392	11.555	19.917	
516	PRO73	CD	-35.708	12.004	18.5	
517	LEU74	N	-31.772	11.304	17.127	
518	LEU74	CA	-30.933	10.263	16.521	30
519	LEU74	C	-29.707	9.976	17.375	
520	LEU74	O	-29.08	10.892	17.926	
521	LEU74	CB	-30.474	10.697	15.135	
522	LEU74	CG	-31.627	10.794	14.146	
523	LEU74	CD1	-31.094	11.194	12.776	
524	LEU74	CD2	-32.381	9.471	14.05	
525	MET75	N	-29.359	8.705	17.454	
526	MET75	CA	-28.167	8.306	18.208	
527	MET75	C	-27.099	7.808	17.243	
528	MET75	O	-27.166	6.675	16.746	
529	MET75	CB	-28.539	7.208	19.198	
530	MET75	CG	-27.367	6.867	20.114	40
531	MET75	SD	-27.678	5.549	21.31	
532	MET75	CE	-28.002	4.197	20.154	
533	VAL76	N	-26.117	8.657	16.992	
534	VAL76	CA	-25.071	8.327	16.017	
535	VAL76	C	-24.274	7.103	16.455	
536	VAL76	O	-23.953	6.925	17.636	
537	VAL76	CB	-24.151	9.527	15.809	
538	VAL76	CG1	-24.904	10.676	15.149	

【表 1 3】

539	VAL76	CG2	-23.504	9.986	17.109	
540	ALA77	N	-23.836	6.34	15.467	
541	ALA77	CA	-23.158	5.062	15.727	
542	ALA77	C	-21.703	5.203	16.177	
543	ALA77	O	-21.033	4.194	16.42	
544	ALA77	CB	-23.22	4.212	14.465	
545	ARG78	N	-21.218	6.431	16.271	
546	ARG78	CA	-19.868	6.689	16.762	
547	ARG78	C	-19.868	7.178	18.215	
548	ARG78	O	-18.816	7.163	18.865	10
549	ARG78	CB	-19.274	7.772	15.874	
550	ARG78	CG	-19.445	7.436	14.398	
551	ARG78	CD	-19.068	8.629	13.528	
552	ARG78	NE	-19.848	9.81	13.932	
553	ARG78	CZ	-19.36	11.053	13.921	
554	ARG78	NH1	-18.114	11.278	13.497	
555	ARG78	NH2	-20.12	12.072	14.33	
556	GLN79	N	-21.028	7.577	18.722	
557	GLN79	CA	-21.128	8.129	20.088	
558	GLN79	C	-22.484	7.818	20.715	
559	GLN79	O	-23.48	8.503	20.45	
560	GLN79	CB	-20.937	9.651	20.09	20
561	GLN79	CG	-19.486	10.085	19.884	
562	GLN79	CD	-19.353	11.607	19.931	
563	GLN79	OE1	-19.071	12.193	20.986	
564	GLN79	NE2	-19.508	12.226	18.773	
565	ILE80	N	-22.504	6.806	21.562	
566	ILE80	CA	-23.733	6.44	22.273	
567	ILE80	C	-23.732	7.034	23.679	
568	ILE80	O	-22.666	7.316	24.24	
569	ILE80	CB	-23.847	4.919	22.333	
570	ILE80	CG1	-22.684	4.305	23.109	
571	ILE80	CG2	-23.905	4.35	20.92	
572	ILE80	CD1	-22.794	2.788	23.191	30
573	ARG81	N	-24.932	7.278	24.188	
574	ARG81	CA	-25.15	7.84	25.535	
575	ARG81	C	-24.657	9.276	25.691	
576	ARG81	O	-23.493	9.571	25.411	
577	ARG81	CB	-24.51	6.964	26.603	
578	ARG81	CG	-25.437	5.843	27.046	
579	ARG81	CD	-25.685	5.92	28.555	
580	ARG81	NE	-26.269	7.22	28.93	
581	ARG81	CZ	-25.651	8.095	29.722	
582	ARG81	NH1	-24.439	7.82	30.204	
583	ARG81	NH2	-26.234	9.257	30.008	
584	ARG82	N	-25.448	10.076	26.389	40
585	ARG82	CA	-25.192	11.523	26.511	
586	ARG82	C	-23.872	11.866	27.204	
587	ARG82	O	-23.108	12.684	26.682	
588	ARG82	CB	-26.32	12.122	27.333	
589	ARG82	CG	-27.683	11.796	26.74	
590	ARG82	CD	-28.801	12.301	27.643	
591	ARG82	NE	-28.71	11.659	28.967	
592	ARG82	CZ	-28.623	12.34	30.114	

【表 1 4】

593	ARG82	NH1	-28.477	11.689	31.271	
594	ARG82	NH2	-28.606	13.675	30.096	
595	GLU83	N	-23.495	11.077	28.198	
596	GLU83	CA	-22.237	11.334	28.909	
597	GLU83	C	-21.03	10.69	28.227	
598	GLU83	O	-19.894	10.902	28.657	
599	GLU83	CB	-22.361	10.828	30.338	
600	GLU83	CG	-23.385	11.651	31.114	
601	GLU83	CD	-23.478	11.172	32.56	
602	GLU83	OE1	-23.428	9.967	32.761	
603	GLU83	OE2	-23.71	12.011	33.418	10
604	ASP84	N	-21.274	9.941	27.165	
605	ASP84	CA	-20.201	9.327	26.386	
606	ASP84	C	-20.095	10.012	25.024	
607	ASP84	O	-19.257	9.646	24.19	
608	ASP84	CB	-20.481	7.841	26.237	
609	ASP84	CG	-20.585	7.191	27.613	
610	ASP84	OD1	-19.547	6.906	28.193	
611	ASP84	OD2	-21.704	7.048	28.092	
612	LYS85	N	-20.939	11.017	24.831	
613	LYS85	CA	-20.846	11.928	23.681	
614	LYS85	C	-19.997	13.228	23.804	20
615	LYS85	O	-20.236	14.084	22.942	
616	LYS85	CB	-22.27	12.347	23.327	
617	LYS85	CG	-23.107	11.173	22.832	
618	LYS85	CD	-24.573	11.567	22.679	
619	LYS85	CE	-25.408	10.408	22.148	
620	LYS85	NZ	-26.824	10.785	22.036	
621	PRO86	N	-19.054	13.455	24.73	
622	PRO86	CA	-18.316	14.731	24.698	
623	PRO86	C	-17.168	14.8	23.679	
624	PRO86	O	-16.339	15.713	23.772	
625	PRO86	CB	-17.779	14.922	26.08	
626	PRO86	CG	-17.866	13.6	26.815	30
627	PRO86	CD	-18.543	12.646	25.852	
628	PHE87	N	-17.14	13.906	22.701	
629	PHE87	CA	-16.12	13.963	21.653	
630	PHE87	C	-16.67	14.817	20.51	
631	PHE87	O	-15.963	15.16	19.559	
632	PHE87	CB	-15.848	12.556	21.128	
633	PHE87	CG	-15.724	11.449	22.174	
634	PHE87	CD1	-16.447	10.277	21.996	
635	PHE87	CD2	-14.904	11.591	23.286	
636	PHE87	CE1	-16.358	9.254	22.93	
637	PHE87	CE2	-14.817	10.567	24.22	
638	PHE87	CZ	-15.544	9.399	24.044	40
639	ARG88	N	-17.948	15.143	20.627	
640	ARG88	CA	-18.629	16.037	19.686	
641	ARG88	C	-18.178	17.519	19.7	
642	ARG88	O	-18.118	18.064	18.59	
643	ARG88	CB	-20.122	15.915	19.965	
644	ARG88	CG	-20.964	16.678	18.953	
645	ARG88	CD	-22.429	16.294	19.089	
646	ARG88	NE	-22.593	14.851	18.868	

【表 1 5】

647	ARG88	CZ	-23.307	14.07	19.679	
648	ARG88	NH1	-23.373	12.757	19.45	
649	ARG88	NH2	-23.922	14.598	20.739	
650	PRO89	N	-17.919	18.194	20.826	
651	PRO89	CA	-17.186	19.48	20.763	
652	PRO89	C	-15.737	19.333	20.277	
653	PRO89	O	-14.786	19.454	21.057	
654	PRO89	CB	-17.206	20.033	22.154	
655	PRO89	CG	-17.798	19.004	23.096	
656	PRO89	CD	-18.208	17.832	22.224	
657	SER90	N	-15.606	19.29	18.963	10
658	SER90	CA	-14.334	19.04	18.296	
659	SER90	C	-14.43	19.413	16.824	
660	SER90	O	-15.534	19.592	16.293	
661	SER90	CB	-14.069	17.55	18.375	
662	SER90	OG	-15.095	16.928	17.609	
663	LEU91	N	-13.326	19.173	16.14	
664	LEU91	CA	-13.154	19.564	14.737	
665	LEU91	C	-14.042	18.804	13.745	
666	LEU91	O	-14.491	19.39	12.754	
667	LEU91	CB	-11.702	19.238	14.405	
668	LEU91	CG	-11.325	19.637	12.988	20
669	LEU91	CD1	-11.253	21.153	12.877	
670	LEU91	CD2	-9.989	19.012	12.606	
671	ILE92	N	-14.422	17.582	14.076	
672	ILE92	CA	-15.199	16.791	13.12	
673	ILE92	C	-16.712	16.857	13.368	
674	ILE92	O	-17.487	16.497	12.474	
675	ILE92	CB	-14.682	15.351	13.173	
676	ILE92	CG1	-15.288	14.488	12.07	
677	ILE92	CG2	-14.932	14.719	14.539	
678	ILE92	CD1	-14.775	13.055	12.137	
679	ALA93	N	-17.14	17.407	14.494	
680	ALA93	CA	-18.578	17.414	14.759	30
681	ALA93	C	-19.15	18.822	14.872	
682	ALA93	O	-20.335	19.048	14.589	
683	ALA93	CB	-18.865	16.593	16.004	
684	MET94	N	-18.294	19.776	15.191	
685	MET94	CA	-18.739	21.168	15.216	
686	MET94	C	-18.99	21.683	13.811	
687	MET94	O	-18.221	21.436	12.88	
688	MET94	CB	-17.695	22.042	15.893	
689	MET94	CG	-17.822	21.982	17.407	
690	MET94	SD	-16.686	23.058	18.31	
691	MET94	CE	-17.561	23.095	19.891	
692	ASP95	N	-20.089	22.398	13.672	40
693	ASP95	CA	-20.42	23.024	12.393	
694	ASP95	C	-19.831	24.427	12.371	
695	ASP95	O	-19.589	25.001	13.438	
696	ASP95	CB	-21.938	23.082	12.258	
697	ASP95	CG	-22.52	21.677	12.373	
698	ASP95	OD1	-22.276	20.87	11.484	
699	ASP95	OD2	-23.173	21.412	13.37	
700	PRO96	N	-19.488	24.936	11.201	

【表 1 6】

701	PRO96	CA	-19.076	26.343	11.099	
702	PRO96	C	-20.177	27.263	11.641	
703	PRO96	O	-21.353	26.892	11.581	
704	PRO96	CB	-18.812	26.567	9.64	
705	PRO96	CG	-19.078	25.278	8.875	
706	PRO96	CD	-19.532	24.256	9.905	
707	PRO97	N	-19.817	28.38	12.263	
708	PRO97	CA	-18.428	28.85	12.436	
709	PRO97	C	-17.649	28.271	13.631	
710	PRO97	O	-16.462	28.595	13.772	10
711	PRO97	CB	-18.567	30.329	12.615	
712	PRO97	CG	-20.013	30.649	12.964	
713	PRO97	CD	-20.777	29.345	12.804	
714	GLU98	N	-18.233	27.353	14.389	
715	GLU98	CA	-17.555	26.761	15.556	
716	GLU98	C	-16.353	25.946	15.099	
717	GLU98	O	-15.224	26.174	15.555	
718	GLU98	CB	-18.513	25.782	16.223	
719	GLU98	CG	-19.894	26.372	16.474	
720	GLU98	CD	-20.857	25.236	16.811	
721	GLU98	OE1	-20.697	24.171	16.227	
722	GLU98	OE2	-21.799	25.49	17.544	20
723	HIS99	N	-16.575	25.223	14.013	
724	HIS99	CA	-15.52	24.448	13.359	
725	HIS99	C	-14.43	25.323	12.743	
726	HIS99	O	-13.249	24.993	12.887	
727	HIS99	CB	-16.19	23.646	12.252	
728	HIS99	CG	-15.238	23.09	11.22	
729	HIS99	ND1	-14.522	21.957	11.317	
730	HIS99	CD2	-14.946	23.649	9.998	
731	HIS99	CE1	-13.779	21.805	10.203	
732	HIS99	NE2	-14.042	22.852	9.39	
733	GLY100	N	-14.792	26.524	12.322	30
734	GLY100	CA	-13.832	27.439	11.702	
735	GLY100	C	-12.859	27.944	12.756	
736	GLY100	O	-11.648	27.716	12.64	
737	LYS101	N	-13.419	28.385	13.872	
738	LYS101	CA	-12.626	28.895	14.993	
739	LYS101	C	-11.711	27.823	15.579	
740	LYS101	O	-10.485	28.02	15.622	
741	LYS101	CB	-13.608	29.33	16.07	
742	LYS101	CG	-12.893	29.892	17.291	
743	LYS101	CD	-13.829	29.939	18.492	
744	LYS101	CE	-14.189	28.531	18.955	
745	LYS101	NZ	-12.986	27.796	19.381	40
746	ALA102	N	-12.251	26.624	15.738	
747	ALA102	CA	-11.474	25.523	16.313	
748	ALA102	C	-10.381	25.022	15.373	
749	ALA102	O	-9.243	24.859	15.828	
750	ALA102	CB	-12.425	24.379	16.645	
751	ARG103	N	-10.622	25.091	14.074	
752	ARG103	CA	-9.63	24.64	13.097	
753	ARG103	C	-8.492	25.644	12.958	
754	ARG103	O	-7.325	25.236	13.033	

【表 1 7】

755	ARG103	CB	-10.347	24.476	11.762	
756	ARG103	CG	-9.496	23.785	10.705	
757	ARG103	CD	-10.366	23.455	9.496	
758	ARG103	NE	-9.651	22.682	8.467	
759	ARG103	CZ	-9.807	21.367	8.287	
760	ARG103	NH1	-10.493	20.645	9.175	
761	ARG103	NH2	-9.174	20.755	7.285	
762	ARG104	N	-8.811	26.923	13.087	
763	ARG104	CA	-7.775	27.957	13.006	
764	ARG104	C	-6.906	27.966	14.256	10
765	ARG104	O	-5.675	28.083	14.149	
766	ARG104	CB	-8.442	29.316	12.84	
767	ARG104	CG	-9.166	29.412	11.502	
768	ARG104	CD	-9.828	30.772	11.319	
769	ARG104	NE	-10.874	30.999	12.329	
770	ARG104	CZ	-11.061	32.171	12.941	
771	ARG104	NH1	-10.231	33.188	12.701	
772	ARG104	NH2	-12.048	32.31	13.829	
773	ASP105	N	-7.5	27.625	15.388	
774	ASP105	CA	-6.718	27.493	16.616	
775	ASP105	C	-5.828	26.253	16.594	20
776	ASP105	O	-4.602	26.392	16.716	
777	ASP105	CB	-7.67	27.427	17.806	
778	ASP105	CG	-8.198	28.814	18.165	
779	ASP105	OD1	-7.389	29.588	18.666	
780	ASP105	OD2	-9.411	28.938	18.257	
781	VAL106	N	-6.379	25.125	16.173	
782	VAL106	CA	-5.636	23.86	16.236	
783	VAL106	C	-4.51	23.761	15.214	
784	VAL106	O	-3.414	23.348	15.612	
785	VAL106	CB	-6.611	22.703	16.046	
786	VAL106	CG1	-5.886	21.37	15.89	
787	VAL106	CG2	-7.587	22.637	17.212	
788	VAL107	N	-4.641	24.427	14.075	30
789	VAL107	CA	-3.565	24.397	13.071	
790	VAL107	C	-2.362	25.259	13.474	
791	VAL107	O	-1.225	24.918	13.123	
792	VAL107	CB	-4.142	24.869	11.737	
793	VAL107	CG1	-3.06	25.104	10.687	
794	VAL107	CG2	-5.175	23.879	11.213	
795	GLY108	N	-2.576	26.155	14.426	
796	GLY108	CA	-1.49	26.985	14.953	
797	GLY108	C	-0.511	26.183	15.813	
798	GLY108	O	0.685	26.491	15.837	
799	GLU109	N	-1.006	25.191	16.537	40
800	GLU109	CA	-0.109	24.388	17.376	
801	GLU109	C	0.121	22.976	16.836	
802	GLU109	O	1.086	22.311	17.229	
803	GLU109	CB	-0.677	24.35	18.784	
804	GLU109	CG	-0.577	25.728	19.424	
805	GLU109	CD	0.886	26.1	19.659	
806	GLU109	OE1	1.612	25.244	20.147	
807	GLU109	OE2	1.22	27.255	19.442	
808	PHE110	N	-0.686	22.572	15.873	

【表 1 8】

809	PHE110	CA	-0.511	21.269	15.221	
810	PHE110	C	0.017	21.468	13.798	
811	PHE110	O	-0.547	20.963	12.819	
812	PHE110	CB	-1.866	20.568	15.206	
813	PHE110	CG	-1.834	19.088	14.838	
814	PHE110	CD1	-0.842	18.264	15.352	
815	PHE110	CD2	-2.808	18.564	13.998	
816	PHE110	CE1	-0.819	16.915	15.019	
817	PHE110	CE2	-2.784	17.216	13.665	
818	PHE110	CZ	-1.79	16.392	14.176	10
819	THR111	N	1.103	22.217	13.706	
820	THR111	CA	1.68	22.585	12.409	
821	THR111	C	2.353	21.411	11.71	
822	THR111	O	2.846	20.47	12.346	
823	THR111	CB	2.745	23.65	12.628	
824	THR111	OG1	3.887	23.019	13.193	
825	THR111	CG2	2.27	24.756	13.561	
826	VAL112	N	2.564	21.605	10.417	
827	VAL112	CA	3.302	20.63	9.605	
828	VAL112	C	4.802	20.712	9.887	
829	VAL112	O	5.492	19.689	9.86	
830	VAL112	CB	3.026	20.929	8.134	20
831	VAL112	CG1	3.819	20.01	7.21	
832	VAL112	CG2	1.535	20.833	7.832	
833	LYS113	N	5.227	21.845	10.425	
834	LYS113	CA	6.608	22.003	10.884	
835	LYS113	C	6.892	21.096	12.082	
836	LYS113	O	7.864	20.332	12.044	
837	LYS113	CB	6.795	23.456	11.298	
838	LYS113	CG	8.168	23.696	11.914	
839	LYS113	CD	8.232	25.064	12.582	
840	LYS113	CE	7.189	25.184	13.692	
841	LYS113	NZ	7.407	24.178	14.747	
842	ARG114	N	5.945	21.013	13.008	30
843	ARG114	CA	6.085	20.094	14.141	
844	ARG114	C	6.098	18.627	13.713	
845	ARG114	O	7.034	17.912	14.09	
846	ARG114	CB	4.916	20.313	15.096	
847	ARG114	CG	4.939	19.283	16.22	
848	ARG114	CD	3.721	19.388	17.131	
849	ARG114	NE	3.696	20.666	17.858	
850	ARG114	CZ	4.078	20.792	19.131	
851	ARG114	NH1	3.903	21.953	19.766	
852	ARG114	NH2	4.537	19.73	19.798	
853	MET115	N	5.28	18.265	12.737	40
854	MET115	CA	5.23	16.862	12.311	
855	MET115	C	6.438	16.467	11.456	
856	MET115	O	6.99	15.378	11.662	
857	MET115	CB	3.926	16.642	11.555	
858	MET115	CG	2.739	16.915	12.474	
859	MET115	SD	1.093	16.637	11.78	
860	MET115	CE	1.057	17.94	10.532	
861	LYS116	N	7.027	17.445	10.787	
862	LYS116	CA	8.25	17.222	10.01	

【表 1 9】

863	LYS116	C	9.492	17.156	10.902	
864	LYS116	O	10.434	16.413	10.59	
865	LYS116	CB	8.372	18.392	9.042	
866	LYS116	CG	9.635	18.337	8.194	
867	LYS116	CD	9.738	19.592	7.338	
868	LYS116	CE	9.703	20.841	8.213	
869	LYS116	NZ	9.753	22.063	7.395	
870	ALA117	N	9.404	17.748	12.084	
871	ALA117	CA	10.49	17.663	13.066	
872	ALA117	C	10.354	16.43	13.962	10
873	ALA117	O	11.331	16	14.587	
874	ALA117	CB	10.469	18.924	13.922	
875	LEU118	N	9.185	15.81	13.933	
876	LEU118	CA	8.975	14.544	14.64	
877	LEU118	C	9.351	13.359	13.76	
878	LEU118	O	9.591	12.26	14.275	
879	LEU118	CB	7.512	14.434	15.05	
880	LEU118	CG	7.153	15.474	16.104	
881	LEU118	CD1	5.654	15.48	16.372	
882	LEU118	CD2	7.934	15.246	17.393	
883	GLN119	N	9.563	13.632	12.483	
884	GLN119	CA	10.052	12.633	11.518	20
885	GLN119	C	11.263	11.797	11.989	
886	GLN119	O	11.09	10.573	12.041	
887	GLN119	CB	10.378	13.373	10.227	
888	GLN119	CG	10.944	12.471	9.144	
889	GLN119	CD	11.394	13.351	7.985	
890	GLN119	OE1	11.701	12.857	6.894	
891	GLN119	NE2	11.444	14.647	8.243	
892	PRO120	N	12.388	12.361	12.439	
893	PRO120	CA	13.485	11.486	12.885	
894	PRO120	C	13.211	10.732	14.195	
895	PRO120	O	13.761	9.639	14.381	30
896	PRO120	CB	14.672	12.386	13.05	
897	PRO120	CG	14.237	13.832	12.892	
898	PRO120	CD	12.764	13.785	12.533	
899	ARG121	N	12.229	11.159	14.974	
900	ARG121	CA	11.917	10.438	16.203	
901	ARG121	C	11.02	9.25	15.868	
902	ARG121	O	11.331	8.136	16.303	
903	ARG121	CB	11.218	11.385	17.174	
904	ARG121	CG	11.741	11.209	18.597	
905	ARG121	CD	11.481	9.812	19.149	
906	ARG121	NE	12.184	9.613	20.424	
907	ARG121	CZ	12.714	8.443	20.784	40
908	ARG121	NH1	13.415	8.346	21.915	
909	ARG121	NH2	12.601	7.386	19.977	
910	ILE122	N	10.18	9.421	14.857	
911	ILE122	CA	9.316	8.332	14.381	
912	ILE122	C	10.135	7.27	13.656	
913	ILE122	O	9.975	6.073	13.928	
914	ILE122	CB	8.309	8.918	13.396	
915	ILE122	CG1	7.456	9.995	14.052	
916	ILE122	CG2	7.422	7.825	12.807	

【表 2 0】

917	ILE122	CD1	6.509	10.636	13.044	
918	GLN123	N	11.179	7.724	12.982	
919	GLN123	CA	12.088	6.827	12.269	
920	GLN123	C	12.914	5.997	13.245	
921	GLN123	O	12.897	4.76	13.156	
922	GLN123	CB	12.989	7.717	11.423	
923	GLN123	CG	13.978	6.941	10.567	
924	GLN123	CD	14.72	7.939	9.684	
925	GLN123	OE1	15.954	7.96	9.626	
926	GLN123	NE2	13.946	8.8	9.044	10
927	GLN124	N	13.295	6.633	14.34	
928	GLN124	CA	14.049	5.959	15.394	
929	GLN124	C	13.184	4.947	16.144	
930	GLN124	O	13.621	3.798	16.284	
931	GLN124	CB	14.544	7.04	16.345	
932	GLN124	CG	15.429	6.495	17.455	
933	GLN124	CD	15.912	7.668	18.3	
934	GLN124	OE1	16.786	7.524	19.162	
935	GLN124	NE2	15.357	8.832	18.008	
936	ILE125	N	11.904	5.252	16.299	
937	ILE125	CA	10.961	4.328	16.947	
938	ILE125	C	10.716	3.072	16.112	20
939	ILE125	O	10.861	1.961	16.642	
940	ILE125	CB	9.638	5.064	17.148	
941	ILE125	CG1	9.792	6.214	18.13	
942	ILE125	CG2	8.543	4.122	17.628	
943	ILE125	CD1	8.487	6.984	18.275	
944	VAL126	N	10.649	3.229	14.797	
945	VAL126	CA	10.44	2.064	13.928	
946	VAL126	C	11.693	1.2	13.87	
947	VAL126	O	11.603	-0.021	14.062	
948	VAL126	CB	10.119	2.529	12.513	
949	VAL126	CG1	9.754	1.334	11.641	30
950	VAL126	CG2	8.988	3.544	12.503	
951	ASP127	N	12.843	1.855	13.909	
952	ASP127	CA	14.121	1.141	13.889	
953	ASP127	C	14.314	0.34	15.17	
954	ASP127	O	14.537	-0.876	15.088	
955	ASP127	CB	15.258	2.153	13.769	
956	ASP127	CG	15.158	2.967	12.481	
957	ASP127	OD1	15.632	4.097	12.49	
958	ASP127	OD2	14.686	2.426	11.489	
959	GLU128	N	13.903	0.919	16.288	
960	GLU128	CA	14.048	0.26	17.589	
961	GLU128	C	13.094	-0.915	17.762	40
962	GLU128	O	13.527	-1.952	18.281	
963	GLU128	CB	13.764	1.281	18.684	
964	GLU128	CG	14.807	2.39	18.707	
965	GLU128	CD	14.367	3.489	19.668	
966	GLU128	OE1	13.584	4.333	19.247	
967	GLU128	OE2	14.794	3.452	20.812	
968	HIS129	N	11.934	-0.861	17.128	
969	HIS129	CA	11.002	-1.985	17.237	
970	HIS129	C	11.411	-3.142	16.333	

【表 2 1】

971	HIS129	O	11.344	-4.297	16.772	
972	HIS129	CB	9.592	-1.533	16.885	
973	HIS129	CG	8.963	-0.57	17.87	
974	HIS129	ND1	7.942	0.266	17.612	
975	HIS129	CD2	9.3	-0.394	19.192	
976	HIS129	CE1	7.647	0.969	18.724	
977	HIS129	NE2	8.488	0.561	19.701	
978	ILE130	N	12.061	-2.848	15.218	
979	ILE130	CA	12.564	-3.95	14.394	
980	ILE130	C	13.768	-4.577	15.089	10
981	ILE130	O	13.69	-5.756	15.459	
982	ILE130	CB	12.968	-3.449	13.012	
983	ILE130	CG1	11.841	-2.659	12.36	
984	ILE130	CG2	13.341	-4.632	12.125	
985	ILE130	CD1	12.258	-2.117	10.996	
986	ASP131	N	14.65	-3.712	15.575	
987	ASP131	CA	15.874	-4.12	16.283	
988	ASP131	C	15.604	-5.033	17.473	
989	ASP131	O	15.932	-6.226	17.435	
990	ASP131	CB	16.565	-2.874	16.84	
991	ASP131	CG	17.175	-1.999	15.749	
992	ASP131	OD1	17.222	-0.791	15.952	20
993	ASP131	OD2	17.743	-2.564	14.826	
994	ALA132	N	14.882	-4.505	18.448	
995	ALA132	CA	14.708	-5.198	19.727	
996	ALA132	C	13.582	-6.228	19.763	
997	ALA132	O	13.489	-6.983	20.738	
998	ALA132	CB	14.465	-4.147	20.803	
999	LEU133	N	12.752	-6.286	18.736	
1000	LEU133	CA	11.712	-7.311	18.741	
1001	LEU133	C	12.08	-8.444	17.798	
1002	LEU133	O	12.567	-9.492	18.239	
1003	LEU133	CB	10.366	-6.697	18.372	
1004	LEU133	CG	9.925	-5.686	19.427	30
1005	LEU133	CD1	8.679	-4.93	18.987	
1006	LEU133	CD2	9.698	-6.366	20.773	
1007	LEU134	N	11.901	-8.215	16.511	
1008	LEU134	CA	12.139	-9.288	15.539	
1009	LEU134	C	12.895	-8.777	14.32	
1010	LEU134	O	12.319	-8.632	13.237	
1011	LEU134	CB	10.808	-9.885	15.087	
1012	LEU134	CG	10.481	-11.234	15.731	
1013	LEU134	CD1	11.66	-12.193	15.635	
1014	LEU134	CD2	9.997	-11.115	17.173	
1015	ALA135	N	14.194	-8.586	14.486	40
1016	ALA135	CA	15.038	-8.142	13.371	
1017	ALA135	C	15.606	-9.293	12.538	
1018	ALA135	O	16.184	-9.051	11.472	
1019	ALA135	CB	16.193	-7.323	13.935	
1020	GLY136	N	15.402	-10.522	12.984	
1021	GLY136	CA	15.957	-11.679	12.272	
1022	GLY136	C	14.865	-12.524	11.62	
1023	GLY136	O	14.069	-12.022	10.829	
1024	PRO137	N	14.906	-13.813	11.903	

【表 2 2】

1025	PRO137	CA	13.938	-14.772	11.353	
1026	PRO137	C	12.589	-14.709	12.067	
1027	PRO137	O	12.21	-13.679	12.637	
1028	PRO137	CB	14.573	-16.111	11.568	
1029	PRO137	CG	15.748	-15.953	12.524	
1030	PRO137	CD	15.899	-14.46	12.763	
1031	LYS138	N	11.86	-15.811	11.945	
1032	LYS138	CA	10.575	-16.043	12.639	
1033	LYS138	C	9.412	-15.227	12.069	
1034	LYS138	O	9.605	-14.143	11.508	10
1035	LYS138	CB	10.733	-15.765	14.135	
1036	LYS138	CG	11.795	-16.66	14.765	
1037	LYS138	CD	12.022	-16.303	16.23	
1038	LYS138	CE	13.155	-17.128	16.829	
1039	LYS138	NZ	12.859	-18.567	16.746	
1040	PRO139	N	8.256	-15.868	12.022	
1041	PRO139	CA	6.996	-15.155	11.797	
1042	PRO139	C	6.612	-14.289	12.995	
1043	PRO139	O	6.167	-14.795	14.031	
1044	PRO139	CB	5.979	-16.232	11.583	
1045	PRO139	CG	6.595	-17.575	11.948	
1046	PRO139	CD	8.04	-17.286	12.322	20
1047	ALA140	N	6.749	-12.987	12.824	
1048	ALA140	CA	6.355	-12.036	13.868	
1049	ALA140	C	5.006	-11.411	13.552	
1050	ALA140	O	4.591	-11.359	12.391	
1051	ALA140	CB	7.395	-10.931	13.953	
1052	ASP141	N	4.297	-10.989	14.582	
1053	ASP141	CA	3.051	-10.264	14.336	
1054	ASP141	C	3.363	-8.779	14.165	
1055	ASP141	O	3.466	-8.032	15.149	
1056	ASP141	CB	2.073	-10.492	15.481	
1057	ASP141	CG	0.741	-9.84	15.132	
1058	ASP141	OD1	0.583	-8.673	15.465	30
1059	ASP141	OD2	0.016	-10.426	14.338	
1060	LEU142	N	3.261	-8.332	12.923	
1061	LEU142	CA	3.692	-6.983	12.541	
1062	LEU142	C	2.753	-5.893	13.048	
1063	LEU142	O	3.232	-4.806	13.4	
1064	LEU142	CB	3.78	-6.96	11.012	
1065	LEU142	CG	4.336	-5.66	10.428	
1066	LEU142	CD1	5.227	-5.944	9.225	
1067	LEU142	CD2	3.241	-4.659	10.063	
1068	VAL143	N	1.509	-6.243	13.329	
1069	VAL143	CA	0.585	-5.247	13.868	
1070	VAL143	C	0.992	-4.867	15.287	40
1071	VAL143	O	1.481	-3.748	15.477	
1072	VAL143	CB	-0.829	-5.809	13.859	
1073	VAL143	CG1	-1.823	-4.772	14.374	
1074	VAL143	CG2	-1.212	-6.26	12.457	
1075	GLN144	N	1.184	-5.874	16.119	
1076	GLN144	CA	1.491	-5.656	17.535	
1077	GLN144	C	2.945	-5.249	17.797	
1078	GLN144	O	3.212	-4.566	18.791	

【表 2 3】

1079	GLN144	CB	1.203	-6.982	18.23	
1080	GLN144	CG	1.485	-6.966	19.726	
1081	GLN144	CD	1.232	-8.364	20.277	
1082	GLN144	OE1	1.815	-8.777	21.285	
1083	GLN144	NE2	0.374	-9.091	19.582	
1084	ALA145	N	3.842	-5.539	16.87	
1085	ALA145	CA	5.246	-5.186	17.088	
1086	ALA145	C	5.672	-3.884	16.412	
1087	ALA145	O	6.594	-3.211	16.888	
1088	ALA145	CB	6.108	-6.329	16.561	10
1089	LEU146	N	4.988	-3.499	15.349	
1090	LEU146	CA	5.424	-2.324	14.588	
1091	LEU146	C	4.294	-1.342	14.317	
1092	LEU146	O	4.308	-0.207	14.815	
1093	LEU146	CB	5.964	-2.825	13.252	
1094	LEU146	CG	7.225	-3.659	13.433	
1095	LEU146	CD1	7.467	-4.589	12.254	
1096	LEU146	CD2	8.432	-2.772	13.705	
1097	SER147	N	3.245	-1.868	13.71	
1098	SER147	CA	2.169	-1.053	13.134	
1099	SER147	C	1.274	-0.369	14.164	
1100	SER147	O	0.727	0.708	13.911	20
1101	SER147	CB	1.325	-2.001	12.301	
1102	SER147	OG	0.198	-1.277	11.856	
1103	LEU148	N	1.174	-0.97	15.331	
1104	LEU148	CA	0.484	-0.358	16.464	
1105	LEU148	C	1.433	0.51	17.316	
1106	LEU148	O	1.132	1.707	17.436	
1107	LEU148	CB	-0.204	-1.475	17.259	
1108	LEU148	CG	-1.13	-0.987	18.372	
1109	LEU148	CD1	-2.317	-1.93	18.53	
1110	LEU148	CD2	-0.404	-0.81	19.703	
1111	PRO149	N	2.553	0.008	17.848	
1112	PRO149	CA	3.299	0.829	18.809	30
1113	PRO149	C	3.987	2.052	18.203	
1114	PRO149	O	4.043	3.07	18.9	
1115	PRO149	CB	4.31	-0.075	19.439	
1116	PRO149	CG	4.261	-1.43	18.764	
1117	PRO149	CD	3.122	-1.352	17.766	
1118	VAL150	N	4.316	2.051	16.918	
1119	VAL150	CA	4.873	3.276	16.323	
1120	VAL150	C	3.867	4.442	16.385	
1121	VAL150	O	4.127	5.334	17.201	
1122	VAL150	CB	5.399	3.041	14.905	
1123	VAL150	CG1	5.892	4.345	14.284	
1124	VAL150	CG2	6.514	2.004	14.891	40
1125	PRO151	N	2.695	4.396	15.75	
1126	PRO151	CA	1.816	5.574	15.799	
1127	PRO151	C	1.187	5.843	17.167	
1128	PRO151	O	1.009	7.014	17.532	
1129	PRO151	CB	0.742	5.307	14.799	
1130	PRO151	CG	0.88	3.895	14.266	
1131	PRO151	CD	2.136	3.336	14.896	
1132	SER152	N	1.059	4.817	17.993	

【表 2 4】

1133	SER152	CA	0.504	5.027	19.326
1134	SER152	C	1.506	5.73	20.241
1135	SER152	O	1.136	6.724	20.879
1136	SER152	CB	0.117	3.671	19.898
1137	SER152	OG	-0.849	3.09	19.031
1138	LEU153	N	2.785	5.428	20.079
1139	LEU153	CA	3.817	6.088	20.883
1140	LEU153	C	4.17	7.458	20.312
1141	LEU153	O	4.34	8.406	21.091
1142	LEU153	CB	5.06	5.206	20.899
1143	LEU153	CG	6.168	5.789	21.769
1144	LEU153	CD1	5.708	5.934	23.216
1145	LEU153	CD2	7.424	4.928	21.689
1146	VAL154	N	3.995	7.622	19.009
1147	VAL154	CA	4.232	8.925	18.383
1148	VAL154	C	3.185	9.944	18.813
1149	VAL154	O	3.566	11.036	19.256
1150	VAL154	CB	4.205	8.777	16.864
1151	VAL154	CG1	4.148	10.134	16.169
1152	VAL154	CG2	5.402	7.976	16.368
1153	ILE155	N	1.945	9.513	18.977
1154	ILE155	CA	0.935	10.467	19.431
1155	ILE155	C	0.932	10.621	20.956
1156	ILE155	O	0.6	11.709	21.446
1157	ILE155	CB	-0.433	10.065	18.902
1158	ILE155	CG1	-1.405	11.218	19.089
1159	ILE155	CG2	-0.956	8.814	19.593
1160	ILE155	CD1	-0.954	12.46	18.327
1161	CYS156	N	1.569	9.697	21.66
1162	CYS156	CA	1.787	9.891	23.093
1163	CYS156	C	2.835	10.973	23.317
1164	CYS156	O	2.551	11.93	24.047
1165	CYS156	CB	2.261	8.59	23.732
1166	CYS156	SG	1.018	7.295	23.935
1167	GLU157	N	3.838	11.005	22.454
1168	GLU157	CA	4.902	12.011	22.559
1169	GLU157	C	4.512	13.364	21.957
1170	GLU157	O	5.08	14.393	22.339
1171	GLU157	CB	6.109	11.474	21.801
1172	GLU157	CG	6.57	10.14	22.372
1173	GLU157	CD	7.588	9.499	21.434
1174	GLU157	OE1	8.764	9.522	21.767
1175	GLU157	OE2	7.162	8.932	20.437
1176	LEU158	N	3.5	13.37	21.107
1177	LEU158	CA	3.042	14.616	20.492
1178	LEU158	C	2.03	15.308	21.401
1179	LEU158	O	2.089	16.535	21.586
1180	LEU158	CB	2.412	14.232	19.149
1181	LEU158	CG	2.171	15.389	18.175
1182	LEU158	CD1	2.086	14.868	16.745
1183	LEU158	CD2	0.93	16.213	18.504
1184	LEU159	N	1.211	14.518	22.072
1185	LEU159	CA	0.183	15.099	22.929
1186	LEU159	C	0.747	15.411	24.309

10

20

30

40

【表 2 5】

1187	LEU159	O	0.832	16.594	24.66	
1188	LEU159	CB	-0.979	14.12	23.044	
1189	LEU159	CG	-2.24	14.827	23.524	
1190	LEU159	CD1	-2.637	15.915	22.535	
1191	LEU159	CD2	-3.385	13.84	23.707	
1192	GLY160	N	1.347	14.417	24.943	
1193	GLY160	CA	1.874	14.572	26.306	
1194	GLY160	C	1.433	13.413	27.2	
1195	GLY160	O	1.183	13.581	28.398	
1196	VAL161	N	1.366	12.238	26.601	10
1197	VAL161	CA	0.869	11.037	27.284	
1198	VAL161	C	2.006	10.078	27.635	
1199	VAL161	O	2.715	9.58	26.752	
1200	VAL161	CB	-0.111	10.348	26.338	
1201	VAL161	CG1	-0.763	9.125	26.976	
1202	VAL161	CG2	-1.175	11.327	25.866	
1203	PRO162	N	2.15	9.806	28.922	
1204	PRO162	CA	3.13	8.826	29.4	
1205	PRO162	C	2.838	7.41	28.901	
1206	PRO162	O	1.68	7.021	28.689	
1207	PRO162	CB	3.066	8.899	30.894	
1208	PRO162	CG	1.972	9.874	31.302	20
1209	PRO162	CD	1.358	10.384	30.009	
1210	TYR163	N	3.882	6.593	28.912	
1211	TYR163	CA	3.793	5.209	28.41	
1212	TYR163	C	3.104	4.257	29.393	
1213	TYR163	O	2.72	3.153	29.002	
1214	TYR163	CB	5.192	4.684	28.071	
1215	TYR163	CG	6.111	4.367	29.254	
1216	TYR163	CD1	6.895	5.363	29.826	
1217	TYR163	CD2	6.181	3.067	29.743	
1218	TYR163	CE1	7.726	5.066	30.898	
1219	TYR163	CE2	7.011	2.768	30.815	
1220	TYR163	CZ	7.78	3.77	31.392	30
1221	TYR163	OH	8.589	3.478	32.467	
1222	SER164	N	2.806	4.747	30.589	
1223	SER164	CA	2.007	3.992	31.561	
1224	SER164	C	0.51	4.158	31.301	
1225	SER164	O	-0.319	3.566	32	
1226	SER164	CB	2.303	4.538	32.952	
1227	SER164	OG	1.766	5.854	33.017	
1228	ASP165	N	0.173	5.056	30.389	
1229	ASP165	CA	-1.215	5.273	30.002	
1230	ASP165	C	-1.445	4.619	28.649	
1231	ASP165	O	-2.542	4.126	28.344	
1232	ASP165	CB	-1.463	6.775	29.944	40
1233	ASP165	CG	-1.331	7.38	31.343	
1234	ASP165	OD1	-2.358	7.592	31.968	
1235	ASP165	OD2	-0.21	7.683	31.732	
1236	HIS166	N	-0.343	4.475	27.929	
1237	HIS166	CA	-0.299	3.666	26.71	
1238	HIS166	C	-0.63	2.223	27.09	
1239	HIS166	O	-0.515	1.86	28.266	
1240	HIS166	CB	1.11	3.792	26.129	

【表 2 6】

1241	HIS166	CG	1.387	3.018	24.856	
1242	HIS166	ND1	0.916	3.295	23.626	
1243	HIS166	CD2	2.174	1.896	24.741	
1244	HIS166	CE1	1.378	2.374	22.756	
1245	HIS166	NE2	2.156	1.51	23.445	
1246	GLU167	N	-1.239	1.506	26.155	
1247	GLU167	CA	-1.754	0.127	26.342	
1248	GLU167	C	-3.12	0.07	27.045	
1249	GLU167	O	-4.04	-0.549	26.498	
1250	GLU167	CB	-0.743	-0.752	27.077	10
1251	GLU167	CG	0.54	-0.919	26.271	
1252	GLU167	CD	1.593	-1.638	27.107	
1253	GLU167	OE1	1.207	-2.478	27.907	
1254	GLU167	OE2	2.766	-1.386	26.875	
1255	PHE168	N	-3.329	0.846	28.097	
1256	PHE168	CA	-4.652	0.854	28.729	
1257	PHE168	C	-5.586	1.779	27.954	
1258	PHE168	O	-6.692	1.36	27.587	
1259	PHE168	CB	-4.53	1.304	30.179	
1260	PHE168	CG	-5.824	1.165	30.977	
1261	PHE168	CD1	-6.696	0.117	30.709	
1262	PHE168	CD2	-6.126	2.078	31.979	20
1263	PHE168	CE1	-7.875	-0.01	31.432	
1264	PHE168	CE2	-7.305	1.951	32.703	
1265	PHE168	CZ	-8.18	0.908	32.428	
1266	PHE169	N	-5.016	2.851	27.423	
1267	PHE169	CA	-5.773	3.717	26.514	
1268	PHE169	C	-5.944	3.029	25.162	
1269	PHE169	O	-7.031	3.098	24.579	
1270	PHE169	CB	-5.003	5.024	26.316	
1271	PHE169	CG	-5.736	6.088	25.497	
1272	PHE169	CD1	-6.361	7.145	26.147	
1273	PHE169	CD2	-5.758	6.022	24.109	
1274	PHE169	CE1	-7.037	8.111	25.413	30
1275	PHE169	CE2	-6.436	6.985	23.375	
1276	PHE169	CZ	-7.082	8.028	24.027	
1277	GLN170	N	-5.019	2.134	24.851	
1278	GLN170	CA	-5.042	1.407	23.584	
1279	GLN170	C	-6.148	0.359	23.564	
1280	GLN170	O	-6.903	0.281	22.588	
1281	GLN170	CB	-3.705	0.693	23.444	
1282	GLN170	CG	-3.611	-0.121	22.163	
1283	GLN170	CD	-3.411	0.818	20.985	
1284	GLN170	OE1	-2.392	1.516	20.917	
1285	GLN170	NE2	-4.408	0.885	20.125	
1286	SER171	N	-6.372	-0.281	24.698	40
1287	SER171	CA	-7.424	-1.295	24.769	
1288	SER171	C	-8.811	-0.665	24.856	
1289	SER171	O	-9.706	-1.107	24.125	
1290	SER171	CB	-7.171	-2.209	25.967	
1291	SER171	OG	-7.132	-1.427	27.155	
1292	CYS172	N	-8.906	0.511	25.457	
1293	CYS172	CA	-10.204	1.184	25.525	
1294	CYS172	C	-10.569	1.806	24.18	

【表 2 7】

1295	CYS172	O	-11.691	1.593	23.703	
1296	CYS172	CB	-10.149	2.266	26.593	
1297	CYS172	SG	-9.817	1.701	28.277	
1298	SER173	N	-9.559	2.253	23.453	
1299	SER173	CA	-9.781	2.826	22.121	
1300	SER173	C	-9.949	1.765	21.033	
1301	SER173	O	-10.363	2.096	19.916	
1302	SER173	CB	-8.612	3.741	21.775	
1303	SER173	OG	-7.418	2.972	21.747	
1304	SER174	N	-9.687	0.509	21.356	
1305	SER174	CA	-10.001	-0.575	20.427	10
1306	SER174	C	-11.395	-1.133	20.713	
1307	SER174	O	-12.128	-1.464	19.771	
1308	SER174	CB	-8.949	-1.668	20.566	
1309	SER174	OG	-7.691	-1.099	20.225	
1310	ARG175	N	-11.85	-0.974	21.949	
1311	ARG175	CA	-13.224	-1.373	22.294	
1312	ARG175	C	-14.226	-0.342	21.787	
1313	ARG175	O	-15.298	-0.72	21.298	
1314	ARG175	CB	-13.371	-1.514	23.805	
1315	ARG175	CG	-12.486	-2.622	24.36	
1316	ARG175	CD	-12.761	-2.871	25.837	20
1317	ARG175	NE	-12.544	-1.662	26.646	
1318	ARG175	CZ	-13.06	-1.512	27.869	
1319	ARG175	NH1	-12.78	-0.421	28.584	
1320	ARG175	NH2	-13.816	-2.478	28.397	
1321	MET176	N	-13.739	0.876	21.611	
1322	MET176	CA	-14.516	1.951	20.985	
1323	MET176	C	-14.649	1.843	19.467	
1324	MET176	O	-15.284	2.71	18.855	
1325	MET176	CB	-13.806	3.259	21.259	
1326	MET176	CG	-13.86	3.657	22.721	
1327	MET176	SD	-13.036	5.228	23.009	
1328	MET176	CE	-13.493	5.972	21.425	30
1329	LEU177	N	-14.036	0.846	18.853	
1330	LEU177	CA	-14.184	0.676	17.411	
1331	LEU177	C	-15.219	-0.388	17.059	
1332	LEU177	O	-15.593	-0.533	15.886	
1333	LEU177	CB	-12.836	0.29	16.827	
1334	LEU177	CG	-11.824	1.426	16.9	
1335	LEU177	CD1	-10.568	1.035	16.135	
1336	LEU177	CD2	-12.4	2.713	16.32	
1337	SER178	N	-15.706	-1.099	18.062	
1338	SER178	CA	-16.693	-2.149	17.793	
1339	SER178	C	-18.117	-1.673	18.08	
1340	SER178	O	-18.628	-1.797	19.2	40
1341	SER178	CB	-16.344	-3.402	18.599	
1342	SER178	OG	-16.323	-3.095	19.988	
1343	ARG179	N	-18.765	-1.209	17.022	
1344	ARG179	CA	-20.148	-0.697	17.082	
1345	ARG179	C	-21.17	-1.832	17.192	
1346	ARG179	O	-21.743	-2.266	16.187	
1347	ARG179	CB	-20.4	0.027	15.768	
1348	ARG179	CG	-19.286	1.01	15.431	

【表 2 8】

1349	ARG179	CD	-19.098	1.114	13.922
1350	ARG179	NE	-18.628	-0.179	13.39
1351	ARG179	CZ	-19.337	-0.967	12.576
1352	ARG179	NH1	-18.903	-2.2	12.307
1353	ARG179	NH2	-20.546	-0.583	12.156
1354	GLU180	N	-21.375	-2.313	18.405
1355	GLU180	CA	-22.261	-3.454	18.627
1356	GLU180	C	-23.553	-3.038	19.318
1357	GLU180	O	-23.676	-1.923	19.833
1358	GLU180	CB	-21.517	-4.449	19.508
1359	GLU180	CG	-20.175	-4.838	18.899
1360	GLU180	CD	-19.442	-5.795	19.828
1361	GLU180	OE1	-20.124	-6.592	20.457
1362	GLU180	OE2	-18.219	-5.763	19.834
1363	VAL181	N	-24.492	-3.969	19.374
1364	VAL181	CA	-25.72	-3.744	20.147
1365	VAL181	C	-25.463	-4.084	21.616
1366	VAL181	O	-26.012	-3.452	22.525
1367	VAL181	CB	-26.823	-4.627	19.569
1368	VAL181	CG1	-28.119	-4.498	20.362
1369	VAL181	CG2	-27.062	-4.297	18.099
1370	THR182	N	-24.438	-4.897	21.822
1371	THR182	CA	-23.936	-5.215	23.166
1372	THR182	C	-22.767	-4.302	23.547
1373	THR182	O	-21.827	-4.739	24.222
1374	THR182	CB	-23.459	-6.664	23.183
1375	THR182	OG1	-22.348	-6.789	22.302
1376	THR182	CG2	-24.551	-7.622	22.719
1377	ALA183	N	-22.882	-3.025	23.214
1378	ALA183	CA	-21.777	-2.062	23.352
1379	ALA183	C	-21.585	-1.459	24.748
1380	ALA183	O	-21.031	-0.36	24.855
1381	ALA183	CB	-21.993	-0.933	22.352
1382	GLU184	N	-21.832	-2.224	25.799
1383	GLU184	CA	-21.706	-1.688	27.158
1384	GLU184	C	-20.242	-1.537	27.568
1385	GLU184	O	-19.888	-0.536	28.199
1386	GLU184	CB	-22.415	-2.636	28.117
1387	GLU184	CG	-22.387	-2.118	29.551
1388	GLU184	CD	-23.145	-3.086	30.454
1389	GLU184	OE1	-22.924	-3.047	31.655
1390	GLU184	OE2	-23.953	-3.832	29.917
1391	GLU185	N	-19.374	-2.344	26.978
1392	GLU185	CA	-17.936	-2.201	27.244
1393	GLU185	C	-17.307	-1.143	26.337
1394	GLU185	O	-16.294	-0.542	26.708
1395	GLU185	CB	-17.216	-3.541	27.073
1396	GLU185	CG	-17.189	-4.388	28.351
1397	GLU185	CD	-18.561	-4.959	28.705
1398	GLU185	OE1	-19.308	-5.237	27.774
1399	GLU185	OE2	-18.899	-4.953	29.879
1400	ARG186	N	-18.044	-0.74	25.316
1401	ARG186	CA	-17.607	0.339	24.434
1402	ARG186	C	-18.008	1.676	25.049

10

20

30

40

【表 2 9】

1403	ARG186	O	-17.213	2.624	25.056
1404	ARG186	CB	-18.317	0.135	23.103
1405	ARG186	CG	-17.936	1.175	22.064
1406	ARG186	CD	-18.718	0.942	20.779
1407	ARG186	NE	-18.234	1.82	19.708
1408	ARG186	CZ	-19.002	2.705	19.073
1409	ARG186	NH1	-20.296	2.816	19.386
1410	ARG186	NH2	-18.474	3.477	18.122
1411	MET187	N	-19.086	1.627	25.817
1412	MET187	CA	-19.545	2.775	26.601
1413	MET187	C	-18.651	2.978	27.82
1414	MET187	O	-18.251	4.113	28.111
1415	MET187	CB	-20.958	2.459	27.07
1416	MET187	CG	-21.569	3.594	27.88
1417	MET187	SD	-23.104	3.161	28.726
1418	MET187	CE	-23.995	2.43	27.333
1419	THR188	N	-18.13	1.874	28.332
1420	THR188	CA	-17.174	1.925	29.44
1421	THR188	C	-15.819	2.442	28.969
1422	THR188	O	-15.237	3.307	29.634
1423	THR188	CB	-17.013	0.516	30
1424	THR188	OG1	-18.274	0.091	30.499
1425	THR188	CG2	-16.011	0.473	31.149
1426	ALA189	N	-15.477	2.139	27.726
1427	ALA189	CA	-14.243	2.652	27.133
1428	ALA189	C	-14.333	4.147	26.838
1429	ALA189	O	-13.403	4.884	27.192
1430	ALA189	CB	-13.996	1.884	25.844
1431	PHE190	N	-15.518	4.605	26.461
1432	PHE190	CA	-15.762	6.042	26.26
1433	PHE190	C	-15.632	6.81	27.572
1434	PHE190	O	-14.815	7.736	27.678
1435	PHE190	CB	-17.194	6.258	25.773
1436	PHE190	CG	-17.566	5.772	24.375
1437	PHE190	CD1	-16.652	5.837	23.334
1438	PHE190	CD2	-18.848	5.293	24.139
1439	PHE190	CE1	-17.013	5.406	22.063
1440	PHE190	CE2	-19.208	4.861	22.871
1441	PHE190	CZ	-18.291	4.917	21.832
1442	GLU191	N	-16.281	6.297	28.605
1443	GLU191	CA	-16.292	6.969	29.908
1444	GLU191	C	-14.921	6.971	30.575
1445	GLU191	O	-14.432	8.05	30.936
1446	GLU191	CB	-17.28	6.233	30.802
1447	GLU191	CG	-17.348	6.853	32.193
1448	GLU191	CD	-18.28	6.023	33.069
1449	GLU191	OE1	-18.424	4.843	32.777
1450	GLU191	OE2	-18.894	6.597	33.957
1451	SER192	N	-14.202	5.866	30.453
1452	SER192	CA	-12.877	5.76	31.071
1453	SER192	C	-11.82	6.545	30.301
1454	SER192	O	-10.892	7.077	30.921
1455	SER192	CB	-12.467	4.291	31.126
1456	SER192	OG	-12.37	3.801	29.792

10

20

30

40

【表 3 0】

1457	LEU193	N	-12.082	6.827	29.036
1458	LEU193	CA	-11.152	7.64	28.256
1459	LEU193	C	-11.441	9.127	28.435
1460	LEU193	O	-10.514	9.943	28.377
1461	LEU193	CB	-11.243	7.218	26.798
1462	LEU193	CG	-9.95	6.547	26.343
1463	LEU193	CD1	-9.372	5.603	27.391
1464	LEU193	CD2	-10.117	5.842	25.003
1465	GLU194	N	-12.63	9.438	28.923
1466	GLU194	CA	-12.93	10.811	29.327
1467	GLU194	C	-12.368	11.096	30.711
1468	GLU194	O	-11.82	12.182	30.938
1469	GLU194	CB	-14.437	11.017	29.337
1470	GLU194	CG	-14.97	11.164	27.922
1471	GLU194	CD	-14.35	12.405	27.287
1472	GLU194	OE1	-13.524	12.237	26.403
1473	GLU194	OE2	-14.826	13.487	27.596
1474	ASN195	N	-12.26	10.058	31.523
1475	ASN195	CA	-11.645	10.215	32.844
1476	ASN195	C	-10.126	10.268	32.715
1477	ASN195	O	-9.479	11.112	33.356
1478	ASN195	CB	-12.076	9.054	33.736
1479	ASN195	CG	-13.582	9.104	34.008
1480	ASN195	OD1	-14.272	8.076	33.958
1481	ASN195	ND2	-14.076	10.3	34.287
1482	TYR196	N	-9.64	9.613	31.673
1483	TYR196	CA	-8.236	9.692	31.267
1484	TYR196	C	-7.88	11.104	30.817
1485	TYR196	O	-6.953	11.707	31.371
1486	TYR196	CB	-8.065	8.757	30.078
1487	TYR196	CG	-7.054	7.633	30.253
1488	TYR196	CD1	-5.806	7.739	29.658
1489	TYR196	CD2	-7.39	6.5	30.982
1490	TYR196	CE1	-4.884	6.711	29.799
1491	TYR196	CE2	-6.466	5.472	31.126
1492	TYR196	CZ	-5.216	5.581	30.532
1493	TYR196	OH	-4.301	4.56	30.661
1494	LEU197	N	-8.76	11.708	30.032
1495	LEU197	CA	-8.543	13.084	29.57
1496	LEU197	C	-8.718	14.131	30.663
1497	LEU197	O	-7.966	15.11	30.658
1498	LEU197	CB	-9.53	13.394	28.458
1499	LEU197	CG	-9.196	12.63	27.188
1500	LEU197	CD1	-10.305	12.816	26.168
1501	LEU197	CD2	-7.852	13.072	26.619
1502	ASP198	N	-9.49	13.83	31.695
1503	ASP198	CA	-9.6	14.749	32.834
1504	ASP198	C	-8.257	14.841	33.551
1505	ASP198	O	-7.698	15.938	33.694
1506	ASP198	CB	-10.627	14.209	33.829
1507	ASP198	CG	-12.016	14.052	33.214
1508	ASP198	OD1	-12.428	14.949	32.492
1509	ASP198	OD2	-12.706	13.123	33.627
1510	GLU199	N	-7.629	13.685	33.696

10

20

30

40

【表 3 1】

1511	GLU199	CA	-6.334	13.598	34.368	
1512	GLU199	C	-5.221	14.182	33.506	
1513	GLU199	O	-4.521	15.091	33.965	
1514	GLU199	CB	-6.053	12.121	34.608	
1515	GLU199	CG	-7.157	11.486	35.444	
1516	GLU199	CD	-7.084	9.966	35.341	
1517	GLU199	OE1	-7.502	9.312	36.287	
1518	GLU199	OE2	-6.717	9.484	34.277	
1519	LEU200	N	-5.26	13.885	32.219	
1520	LEU200	CA	-4.209	14.315	31.289	10
1521	LEU200	C	-4.22	15.821	31.02	
1522	LEU200	O	-3.168	16.467	31.128	
1523	LEU200	CB	-4.459	13.57	29.982	
1524	LEU200	CG	-3.421	13.888	28.914	
1525	LEU200	CD1	-2.036	13.415	29.338	
1526	LEU200	CD2	-3.815	13.251	27.587	
1527	VAL201	N	-5.406	16.402	30.938	
1528	VAL201	CA	-5.521	17.832	30.642	
1529	VAL201	C	-5.196	18.69	31.859	
1530	VAL201	O	-4.491	19.7	31.709	
1531	VAL201	CB	-6.945	18.094	30.153	
1532	VAL201	CG1	-7.324	19.57	30.184	20
1533	VAL201	CG2	-7.159	17.508	28.761	
1534	THR202	N	-5.431	18.149	33.045	
1535	THR202	CA	-5.103	18.884	34.267	
1536	THR202	C	-3.643	18.677	34.654	
1537	THR202	O	-2.981	19.624	35.101	
1538	THR202	CB	-6.02	18.391	35.378	
1539	THR202	OG1	-7.359	18.589	34.945	
1540	THR202	CG2	-5.814	19.173	36.671	
1541	LYS203	N	-3.08	17.579	34.182	
1542	LYS203	CA	-1.672	17.284	34.434	
1543	LYS203	C	-0.755	18.113	33.539	
1544	LYS203	O	0.305	18.539	34.015	30
1545	LYS203	CB	-1.474	15.79	34.209	
1546	LYS203	CG	-0.041	15.331	34.439	
1547	LYS203	CD	0.025	13.812	34.569	
1548	LYS203	CE	-0.557	13.099	33.352	
1549	LYS203	NZ	0.265	13.325	32.154	
1550	LYS204	N	-1.256	18.545	32.391	
1551	LYS204	CA	-0.505	19.493	31.553	
1552	LYS204	C	-0.788	20.954	31.896	
1553	LYS204	O	-0.031	21.846	31.499	
1554	LYS204	CB	-0.821	19.218	30.092	
1555	LYS204	CG	-0.076	17.965	29.664	
1556	LYS204	CD	1.425	18.213	29.729	40
1557	LYS204	CE	2.202	16.906	29.69	
1558	LYS204	NZ	1.918	16.115	30.896	
1559	GLU205	N	-1.781	21.179	32.741	
1560	GLU205	CA	-2.033	22.524	33.264	
1561	GLU205	C	-1.215	22.777	34.526	
1562	GLU205	O	-1.027	23.931	34.927	
1563	GLU205	CB	-3.518	22.66	33.57	
1564	GLU205	CG	-4.309	22.726	32.273	

【表 3 2】

1565	GLU205	CD	-5.788	22.444	32.51	
1566	GLU205	OE1	-6.547	22.661	31.573	
1567	GLU205	OE2	-6.093	21.798	33.504	
1568	ALA206	N	-0.712	21.707	35.12	
1569	ALA206	CA	0.208	21.844	36.249	
1570	ALA206	C	1.649	21.772	35.756	
1571	ALA206	O	2.464	22.661	36.034	
1572	ALA206	CB	-0.059	20.711	37.233	
1573	ASN207	N	1.92	20.765	34.945	
1574	ASN207	CA	3.253	20.587	34.366	10
1575	ASN207	C	3.307	21.204	32.976	
1576	ASN207	O	2.922	20.574	31.982	
1577	ASN207	CB	3.568	19.096	34.27	
1578	ASN207	CG	3.565	18.441	35.65	
1579	ASN207	OD1	4.361	18.793	36.527	
1580	ASN207	ND2	2.641	17.515	35.835	
1581	ALA208	N	3.786	22.435	32.932	
1582	ALA208	CA	3.924	23.166	31.668	
1583	ALA208	C	5.045	22.601	30.795	
1584	ALA208	O	6.235	22.809	31.052	
1585	ALA208	CB	4.202	24.631	31.982	
1586	THR209	N	4.636	21.874	29.77	20
1587	THR209	CA	5.581	21.251	28.834	
1588	THR209	C	5.499	21.873	27.446	
1589	THR209	O	4.665	22.737	27.168	
1590	THR209	CB	5.253	19.774	28.706	
1591	THR209	OG1	3.938	19.693	28.18	
1592	THR209	CG2	5.296	19.059	30.052	
1593	GLU210	N	6.34	21.363	26.562	
1594	GLU210	CA	6.411	21.861	25.18	
1595	GLU210	C	5.542	21.076	24.19	
1596	GLU210	O	5.586	21.361	22.989	
1597	GLU210	CB	7.861	21.818	24.692	
1598	GLU210	CG	8.791	22.752	25.467	30
1599	GLU210	CD	9.689	21.967	26.424	
1600	GLU210	OE1	9.258	20.906	26.861	
1601	GLU210	OE2	10.778	22.442	26.707	
1602	ASP211	N	4.786	20.097	24.662	
1603	ASP211	CA	3.977	19.273	23.746	
1604	ASP211	C	2.732	20.003	23.249	
1605	ASP211	O	2.331	21.027	23.817	
1606	ASP211	CB	3.605	17.956	24.418	
1607	ASP211	CG	2.942	18.154	25.781	
1608	ASP211	OD1	2.12	19.054	25.925	
1609	ASP211	OD2	3.336	17.427	26.681	
1610	ASP212	N	2.034	19.382	22.309	40
1611	ASP212	CA	0.906	20.044	21.64	
1612	ASP212	C	-0.365	20.067	22.496	
1613	ASP212	O	-1.223	20.928	22.262	
1614	ASP212	CB	0.653	19.331	20.312	
1615	ASP212	CG	-0.355	20.078	19.435	
1616	ASP212	OD1	-0.505	21.277	19.623	
1617	ASP212	OD2	-1.022	19.415	18.653	
1618	LEU213	N	-0.398	19.318	23.589	

【表 3 3】

1619	LEU213	CA	-1.529	19.451	24.508
1620	LEU213	C	-1.474	20.819	25.18
1621	LEU213	O	-2.372	21.628	24.907
1622	LEU213	CB	-1.498	18.346	25.557
1623	LEU213	CG	-2.75	18.365	26.427
1624	LEU213	CD1	-4.011	18.334	25.574
1625	LEU213	CD2	-2.751	17.202	27.41
1626	LEU214	N	-0.306	21.193	25.691
1627	LEU214	CA	-0.187	22.52	26.307
1628	LEU214	C	-0.094	23.607	25.241
1629	LEU214	O	-0.613	24.711	25.445
1630	LEU214	CB	1.034	22.608	27.21
1631	LEU214	CG	0.987	23.94	27.954
1632	LEU214	CD1	-0.18	23.972	28.934
1633	LEU214	CD2	2.288	24.25	28.671
1634	GLY215	N	0.35	23.222	24.056
1635	GLY215	CA	0.292	24.093	22.882
1636	GLY215	C	-1.121	24.618	22.629
1637	GLY215	O	-1.327	25.838	22.586
1638	ARG216	N	-2.103	23.733	22.582
1639	ARG216	CA	-3.473	24.198	22.351
1640	ARG216	C	-4.154	24.727	23.616
1641	ARG216	O	-5.077	25.542	23.506
1642	ARG216	CB	-4.3	23.068	21.765
1643	ARG216	CG	-3.636	22.456	20.539
1644	ARG216	CD	-4.555	21.415	19.912
1645	ARG216	NE	-5.402	20.812	20.953
1646	ARG216	CZ	-5.073	19.756	21.699
1647	ARG216	NH1	-3.937	19.093	21.471
1648	ARG216	NH2	-5.905	19.342	22.652
1649	GLN217	N	-3.583	24.445	24.776
1650	GLN217	CA	-4.102	25.002	26.031
1651	GLN217	C	-3.624	26.435	26.28
1652	GLN217	O	-4.198	27.131	27.125
1653	GLN217	CB	-3.648	24.109	27.181
1654	GLN217	CG	-4.235	22.711	27.043
1655	GLN217	CD	-3.691	21.772	28.114
1656	GLN217	OE1	-2.544	21.311	28.052
1657	GLN217	NE2	-4.552	21.446	29.059
1658	ILE218	N	-2.608	26.875	25.551
1659	ILE218	CA	-2.179	28.276	25.625
1660	ILE218	C	-2.638	29.086	24.409
1661	ILE218	O	-2.242	30.25	24.267
1662	ILE218	CB	-0.66	28.352	25.774
1663	ILE218	CG1	0.061	27.755	24.572
1664	ILE218	CG2	-0.211	27.665	27.059
1665	ILE218	CD1	1.574	27.781	24.754
1666	LEU219	N	-3.431	28.478	23.538
1667	LEU219	CA	-3.953	29.194	22.365
1668	LEU219	C	-4.858	30.352	22.75
1669	LEU219	O	-5.716	30.229	23.629
1670	LEU219	CB	-4.756	28.24	21.493
1671	LEU219	CG	-3.859	27.411	20.59
1672	LEU219	CD1	-4.674	26.345	19.873

10

20

30

40

【表 3 4】

1673	LEU219	CD2	-3.135	28.304	19.588
1674	LYS220	N	-4.667	31.454	22.047
1675	LYS220	CA	-5.484	32.654	22.234
1676	LYS220	C	-5.341	33.562	21.012
1677	LYS220	O	-4.556	34.519	21.016
1678	LYS220	CB	-5.01	33.38	23.489
1679	LYS220	CG	-5.91	34.56	23.842
1680	LYS220	CD	-5.389	35.289	25.074
1681	LYS220	CE	-6.258	36.494	25.418
1682	LYS220	NZ	-5.74	37.191	26.607
1683	GLN221	N	-6.048	33.217	19.951
1684	GLN221	CA	-5.987	34.031	18.732
1685	GLN221	C	-6.904	35.234	18.892
1686	GLN221	O	-7.981	35.112	19.48
1687	GLN221	CB	-6.389	33.179	17.535
1688	GLN221	CG	-5.417	32.015	17.369
1689	GLN221	CD	-5.828	31.088	16.227
1690	GLN221	OE1	-7.019	30.872	15.966
1691	GLN221	NE2	-4.823	30.508	15.595
1692	ARG222	N	-6.553	36.345	18.268
1693	ARG222	CA	-7.309	37.589	18.486
1694	ARG222	C	-8.774	37.467	18.066
1695	ARG222	O	-9.669	37.72	18.877
1696	ARG222	CB	-6.649	38.705	17.685
1697	ARG222	CG	-7.362	40.034	17.911
1698	ARG222	CD	-6.787	41.134	17.026
1699	ARG222	NE	-7.505	42.401	17.232
1700	ARG222	CZ	-8.368	42.909	16.349
1701	ARG222	NH1	-8.626	42.255	15.213
1702	ARG222	NH2	-8.98	44.068	16.604
1703	GLU223	N	-9.009	36.864	16.912
1704	GLU223	CA	-10.382	36.702	16.426
1705	GLU223	C	-10.985	35.329	16.735
1706	GLU223	O	-12.083	35.029	16.257
1707	GLU223	CB	-10.395	36.959	14.926
1708	GLU223	CG	-9.977	38.396	14.634
1709	GLU223	CD	-9.946	38.649	13.13
1710	GLU223	OE1	-9.041	39.35	12.701
1711	GLU223	OE2	-10.749	38.047	12.434
1712	SER224	N	-10.28	34.5	17.488
1713	SER224	CA	-10.803	33.162	17.775
1714	SER224	C	-11.036	32.957	19.266
1715	SER224	O	-11.791	32.067	19.67
1716	SER224	CB	-9.789	32.13	17.308
1717	SER224	OG	-9.509	32.374	15.941
1718	GLY225	N	-10.409	33.796	20.069
1719	GLY225	CA	-10.436	33.613	21.517
1720	GLY225	C	-9.539	32.435	21.884
1721	GLY225	O	-8.577	32.109	21.174
1722	GLU226	N	-9.863	31.807	22.998
1723	GLU226	CA	-9.128	30.613	23.422
1724	GLU226	C	-10.067	29.417	23.535
1725	GLU226	O	-11.22	29.553	23.963
1726	GLU226	CB	-8.424	30.894	24.745

10

20

30

40

【表 3 5】

1727	GLU226	CG	-9.368	31.316	25.86	
1728	GLU226	CD	-8.548	31.714	27.084	
1729	GLU226	OE1	-8.364	30.873	27.952	
1730	GLU226	OE2	-8.166	32.875	27.147	
1731	ALA227	N	-9.567	28.262	23.127	
1732	ALA227	CA	-10.372	27.035	23.163	
1733	ALA227	C	-10.725	26.657	24.598	
1734	ALA227	O	-9.859	26.603	25.477	
1735	ALA227	CB	-9.587	25.904	22.508	
1736	ASP228	N	-12.009	26.456	24.833	10
1737	ASP228	CA	-12.471	26.085	26.175	
1738	ASP228	C	-12.163	24.618	26.455	
1739	ASP228	O	-11.944	23.836	25.52	
1740	ASP228	CB	-13.961	26.399	26.323	
1741	ASP228	CG	-14.816	25.698	25.268	
1742	ASP228	OD1	-14.745	24.475	25.201	
1743	ASP228	OD2	-15.656	26.364	24.686	
1744	HIS229	N	-12.329	24.215	27.704	
1745	HIS229	CA	-11.958	22.854	28.129	
1746	HIS229	C	-12.84	21.733	27.559	
1747	HIS229	O	-12.334	20.622	27.37	
1748	HIS229	CB	-11.971	22.807	29.658	20
1749	HIS229	CG	-13.265	23.255	30.319	
1750	HIS229	ND1	-14.34	22.487	30.584	
1751	HIS229	CD2	-13.557	24.519	30.78	
1752	HIS229	CE1	-15.293	23.238	31.171	
1753	HIS229	NE2	-14.808	24.494	31.292	
1754	GLY230	N	-14.024	22.066	27.068	
1755	GLY230	CA	-14.88	21.073	26.412	
1756	GLY230	C	-14.27	20.684	25.07	
1757	GLY230	O	-13.958	19.508	24.84	
1758	GLU231	N	-13.866	21.704	24.329	
1759	GLU231	CA	-13.239	21.508	23.021	
1760	GLU231	C	-11.809	21.001	23.152	30
1761	GLU231	O	-11.365	20.21	22.315	
1762	GLU231	CB	-13.196	22.856	22.318	
1763	GLU231	CG	-14.589	23.417	22.086	
1764	GLU231	CD	-14.471	24.888	21.707	
1765	GLU231	OE1	-15.12	25.296	20.756	
1766	GLU231	OE2	-13.758	25.592	22.418	
1767	LEU232	N	-11.181	21.28	24.281	
1768	LEU232	CA	-9.822	20.803	24.524	
1769	LEU232	C	-9.841	19.292	24.755	
1770	LEU232	O	-9.061	18.578	24.112	
1771	LEU232	CB	-9.297	21.541	25.756	40
1772	LEU232	CG	-7.777	21.685	25.784	
1773	LEU232	CD1	-7.057	20.385	26.124	
1774	LEU232	CD2	-7.256	22.293	24.486	
1775	VAL233	N	-10.877	18.804	25.419	
1776	VAL233	CA	-11.016	17.36	25.627	
1777	VAL233	C	-11.406	16.646	24.331	
1778	VAL233	O	-10.729	15.676	23.963	
1779	VAL233	CB	-12.066	17.13	26.71	
1780	VAL233	CG1	-12.478	15.667	26.802	

【表 3 6】

1781	VAL233	CG2	-11.571	17.632	28.062
1782	GLY234	N	-12.258	17.278	23.536
1783	GLY234	CA	-12.641	16.729	22.227
1784	GLY234	C	-11.443	16.59	21.287
1785	GLY234	O	-11.116	15.477	20.849
1786	LEU235	N	-10.687	17.668	21.146
1787	LEU235	CA	-9.532	17.691	20.238
1788	LEU235	C	-8.375	16.809	20.702
1789	LEU235	O	-7.846	16.046	19.882
1790	LEU235	CB	-9.04	19.13	20.146
1791	LEU235	CG	-10.08	20.034	19.495
1792	LEU235	CD1	-9.781	21.505	19.761
1793	LEU235	CD2	-10.2	19.75	18.003
1794	ALA236	N	-8.162	16.713	22.006
1795	ALA236	CA	-7.065	15.885	22.523
1796	ALA236	C	-7.38	14.407	22.375
1797	ALA236	O	-6.525	13.633	21.922
1798	ALA236	CB	-6.861	16.193	24.002
1799	PHE237	N	-8.66	14.095	22.475
1800	PHE237	CA	-9.11	12.723	22.306
1801	PHE237	C	-8.956	12.273	20.864
1802	PHE237	O	-8.27	11.274	20.617
1803	PHE237	CB	-10.58	12.657	22.682
1804	PHE237	CG	-11.12	11.24	22.674
1805	PHE237	CD1	-10.824	10.394	23.733
1806	PHE237	CD2	-11.885	10.786	21.608
1807	PHE237	CE1	-11.305	9.095	23.736
1808	PHE237	CE2	-12.366	9.486	21.61
1809	PHE237	CZ	-12.076	8.644	22.676
1810	LEU238	N	-9.329	13.135	19.931
1811	LEU238	CA	-9.272	12.754	18.516
1812	LEU238	C	-7.845	12.681	17.984
1813	LEU238	O	-7.532	11.745	17.236
1814	LEU238	CB	-10.056	13.766	17.695
1815	LEU238	CG	-11.539	13.75	18.042
1816	LEU238	CD1	-12.279	14.795	17.221
1817	LEU238	CD2	-12.145	12.369	17.814
1818	LEU239	N	-6.947	13.467	18.554
1819	LEU239	CA	-5.551	13.397	18.122
1820	LEU239	C	-4.861	12.158	18.68
1821	LEU239	O	-4.202	11.444	17.913
1822	LEU239	CB	-4.821	14.652	18.586
1823	LEU239	CG	-5.364	15.898	17.894
1824	LEU239	CD1	-4.722	17.162	18.454
1825	LEU239	CD2	-5.169	15.82	16.384
1826	LEU240	N	-5.275	11.736	19.864
1827	LEU240	CA	-4.667	10.56	20.485
1828	LEU240	C	-5.217	9.265	19.877
1829	LEU240	O	-4.445	8.316	19.674
1830	LEU240	CB	-4.952	10.634	21.981
1831	LEU240	CG	-3.966	9.808	22.798
1832	LEU240	CD1	-2.53	10.2	22.479
1833	LEU240	CD2	-4.227	9.976	24.289
1834	ILE241	N	-6.425	9.337	19.333

10

20

30

40

【表 3 7】

1835	ILE241	CA	-7.027	8.197	18.621
1836	ILE241	C	-6.509	8.091	17.184
1837	ILE241	O	-6.406	6.98	16.64
1838	ILE241	CB	-8.544	8.391	18.599
1839	ILE241	CG1	-9.122	8.403	20.008
1840	ILE241	CG2	-9.233	7.311	17.771
1841	ILE241	CD1	-8.939	7.06	20.699
1842	ALA242	N	-5.959	9.182	16.676
1843	ALA242	CA	-5.353	9.154	15.345
1844	ALA242	C	-4.049	8.363	15.361
1845	ALA242	O	-3.842	7.511	14.487
1846	ALA242	CB	-5.09	10.583	14.884
1847	GLY243	N	-3.34	8.426	16.473
1848	GLY243	CA	-2.135	7.612	16.614
1849	GLY243	C	-2.461	6.175	17.012
1850	GLY243	O	-2.095	5.238	16.289
1851	HIS244	N	-3.274	6.021	18.047
1852	HIS244	CA	-3.556	4.687	18.603
1853	HIS244	C	-4.424	3.78	17.729
1854	HIS244	O	-4.288	2.555	17.808
1855	HIS244	CB	-4.271	4.846	19.946
1856	HIS244	CG	-3.394	5.206	21.132
1857	HIS244	ND1	-2.995	6.436	21.502
1858	HIS244	CD2	-2.87	4.327	22.051
1859	HIS244	CE1	-2.232	6.348	22.61
1860	HIS244	NE2	-2.156	5.042	22.95
1861	GLU245	N	-5.298	4.33	16.905
1862	GLU245	CA	-6.157	3.454	16.101
1863	GLU245	C	-6.041	3.723	14.61
1864	GLU245	O	-5.883	2.788	13.812
1865	GLU245	CB	-7.616	3.66	16.504
1866	GLU245	CG	-7.895	3.313	17.963
1867	GLU245	CD	-7.613	1.839	18.255
1868	GLU245	OE1	-7.721	1.028	17.348
1869	GLU245	OE2	-7.228	1.562	19.381
1870	THR246	N	-5.987	4.996	14.26
1871	THR246	CA	-6.101	5.374	12.849
1872	THR246	C	-4.863	4.962	12.066
1873	THR246	O	-4.949	4.04	11.244
1874	THR246	CB	-6.314	6.88	12.759
1875	THR246	OG1	-7.415	7.225	13.59
1876	THR246	CG2	-6.614	7.344	11.338
1877	THR247	N	-3.702	5.384	12.532
1878	THR247	CA	-2.48	5.072	11.792
1879	THR247	C	-2.013	3.634	12.044
1880	THR247	O	-1.437	3.032	11.132
1881	THR247	CB	-1.4	6.078	12.171
1882	THR247	OG1	-1.937	7.39	12.062
1883	THR247	CG2	-0.192	5.981	11.246
1884	ALA248	N	-2.533	3.007	13.09
1885	ALA248	CA	-2.225	1.596	13.35
1886	ALA248	C	-2.915	0.676	12.342
1887	ALA248	O	-2.236	-0.089	11.643
1888	ALA248	CB	-2.678	1.25	14.763

10

20

30

40

【表 3 8】

1889	ASN249	N	-4.175	0.958	12.049	
1890	ASN249	CA	-4.878	0.157	11.042	
1891	ASN249	C	-4.453	0.517	9.624	
1892	ASN249	O	-4.313	-0.39	8.791	
1893	ASN249	CB	-6.377	0.361	11.199	
1894	ASN249	CG	-6.902	-0.561	12.291	
1895	ASN249	OD1	-6.261	-1.569	12.613	
1896	ASN249	ND2	-8.133	-0.32	12.703	
1897	MET250	N	-3.945	1.727	9.463	
1898	MET250	CA	-3.472	2.183	8.159	10
1899	MET250	C	-2.137	1.529	7.787	
1900	MET250	O	-2.018	1.009	6.669	
1901	MET250	CB	-3.231	3.702	8.255	
1902	MET250	CG	-3.343	4.33	6.851	
1903	MET250	SD	-2.234	5.768	6.665	
1904	MET250	CE	-1.954	6.241	8.406	
1905	ILE251	N	-1.267	1.317	8.764	
1906	ILE251	CA	0.019	0.667	8.477	
1907	ILE251	C	-0.132	-0.844	8.328	
1908	ILE251	O	0.449	-1.427	7.402	
1909	ILE251	CB	1.001	0.949	9.613	
1910	ILE251	CG1	1.293	2.434	9.757	20
1911	ILE251	CG2	2.305	0.188	9.404	
1912	ILE251	CD1	2.264	2.698	10.902	
1913	SER252	N	-1.081	-1.421	9.047	
1914	SER252	CA	-1.254	-2.875	8.973	
1915	SER252	C	-1.947	-3.301	7.679	
1916	SER252	O	-1.444	-4.204	6.998	
1917	SER252	CB	-2.03	-3.36	10.197	
1918	SER252	OG	-3.28	-2.684	10.279	
1919	LEU253	N	-2.85	-2.465	7.194	
1920	LEU253	CA	-3.558	-2.762	5.948	
1921	LEU253	C	-2.699	-2.386	4.739	
1922	LEU253	O	-2.665	-3.129	3.748	30
1923	LEU253	CB	-4.857	-1.963	5.994	
1924	LEU253	CG	-5.781	-2.185	4.804	
1925	LEU253	CD1	-6.009	-3.665	4.521	
1926	LEU253	CD2	-7.109	-1.479	5.058	
1927	GLY254	N	-1.818	-1.42	4.948	
1928	GLY254	CA	-0.841	-1.031	3.933	
1929	GLY254	C	0.161	-2.148	3.671	
1930	GLY254	O	0.267	-2.62	2.531	
1931	THR255	N	0.707	-2.706	4.742	
1932	THR255	CA	1.711	-3.772	4.62	
1933	THR255	C	1.123	-5.042	4.017	
1934	THR255	O	1.715	-5.592	3.079	40
1935	THR255	CB	2.255	-4.105	6.007	
1936	THR255	OG1	2.837	-2.935	6.563	
1937	THR255	CG2	3.334	-5.18	5.938	
1938	VAL256	N	-0.133	-5.321	4.331	
1939	VAL256	CA	-0.797	-6.505	3.781	
1940	VAL256	C	-1.11	-6.37	2.291	
1941	VAL256	O	-0.832	-7.307	1.531	
1942	VAL256	CB	-2.083	-6.706	4.571	

【表 3 9】

1943	VAL256	CG1	-3.028	-7.693	3.905	
1944	VAL256	CG2	-1.774	-7.144	5.993	
1945	THR257	N	-1.372	-5.158	1.833	
1946	THR257	CA	-1.675	-4.982	0.413	
1947	THR257	C	-0.401	-4.902	-0.427	
1948	THR257	O	-0.357	-5.499	-1.512	
1949	THR257	CB	-2.502	-3.717	0.248	
1950	THR257	OG1	-3.63	-3.818	1.106	
1951	THR257	CG2	-3.002	-3.558	-1.183	
1952	LEU258	N	0.69	-4.465	0.185	10
1953	LEU258	CA	1.976	-4.434	-0.526	
1954	LEU258	C	2.588	-5.828	-0.61	
1955	LEU258	O	3.147	-6.205	-1.648	
1956	LEU258	CB	2.936	-3.524	0.233	
1957	LEU258	CG	2.45	-2.08	0.263	
1958	LEU258	CD1	3.329	-1.229	1.172	
1959	LEU258	CD2	2.391	-1.492	-1.141	
1960	LEU259	N	2.248	-6.652	0.368	
1961	LEU259	CA	2.721	-8.034	0.407	
1962	LEU259	C	1.818	-8.965	-0.407	
1963	LEU259	O	2.223	-10.083	-0.747	
1964	LEU259	CB	2.742	-8.462	1.869	20
1965	LEU259	CG	3.979	-9.291	2.183	
1966	LEU259	CD1	5.235	-8.559	1.727	
1967	LEU259	CD2	4.05	-9.61	3.672	
1968	GLU260	N	0.649	-8.473	-0.791	
1969	GLU260	CA	-0.221	-9.215	-1.707	
1970	GLU260	C	0.163	-8.932	-3.151	
1971	GLU260	O	0.033	-9.804	-4.019	
1972	GLU260	CB	-1.67	-8.773	-1.531	
1973	GLU260	CG	-2.53	-9.85	-0.883	
1974	GLU260	CD	-2.442	-9.78	0.637	
1975	GLU260	OE1	-1.632	-10.498	1.204	
1976	GLU260	OE2	-3.287	-9.103	1.202	30
1977	ASN261	N	0.693	-7.743	-3.382	
1978	ASN261	CA	1.158	-7.381	-4.723	
1979	ASN261	C	2.669	-7.181	-4.742	
1980	ASN261	O	3.134	-6.032	-4.804	
1981	ASN261	CB	0.468	-6.089	-5.161	
1982	ASN261	CG	-0.986	-6.311	-5.586	
1983	ASN261	OD1	-1.784	-6.942	-4.881	
1984	ASN261	ND2	-1.339	-5.701	-6.705	
1985	PRO262	N	3.404	-8.259	-4.986	
1986	PRO262	CA	4.864	-8.219	-4.846	
1987	PRO262	C	5.563	-7.432	-5.958	
1988	PRO262	O	6.612	-6.834	-5.706	40
1989	PRO262	CB	5.298	-9.652	-4.871	
1990	PRO262	CG	4.108	-10.533	-5.223	
1991	PRO262	CD	2.912	-9.601	-5.319	
1992	ASP263	N	4.884	-7.222	-7.077	
1993	ASP263	CA	5.442	-6.411	-8.166	
1994	ASP263	C	5.27	-4.909	-7.918	
1995	ASP263	O	6.133	-4.124	-8.327	
1996	ASP263	CB	4.783	-6.822	-9.488	

【表 4 0】

1997	ASP263	CG	3.253	-6.778	-9.42	
1998	ASP263	OD1	2.69	-5.734	-9.721	
1999	ASP263	OD2	2.673	-7.766	-8.992	
2000	GLN264	N	4.358	-4.558	-7.024	
2001	GLN264	CA	4.149	-3.154	-6.675	
2002	GLN264	C	5.104	-2.803	-5.545	
2003	GLN264	O	5.782	-1.769	-5.59	
2004	GLN264	CB	2.709	-3.002	-6.206	
2005	GLN264	CG	1.723	-3.483	-7.265	
2006	GLN264	CD	1.637	-2.485	-8.412	10
2007	GLN264	OE1	1.631	-1.274	-8.178	
2008	GLN264	NE2	1.592	-2.991	-9.63	
2009	LEU265	N	5.398	-3.825	-4.758	
2010	LEU265	CA	6.389	-3.701	-3.693	
2011	LEU265	C	7.808	-3.677	-4.263	
2012	LEU265	O	8.639	-2.888	-3.798	
2013	LEU265	CB	6.218	-4.903	-2.775	
2014	LEU265	CG	7.134	-4.809	-1.565	
2015	LEU265	CD1	6.869	-3.518	-0.802	
2016	LEU265	CD2	6.958	-6.023	-0.662	
2017	ALA266	N	7.993	-4.309	-5.411	
2018	ALA266	CA	9.286	-4.267	-6.093	20
2019	ALA266	C	9.528	-2.929	-6.785	
2020	ALA266	O	10.66	-2.434	-6.737	
2021	ALA266	CB	9.333	-5.39	-7.123	
2022	LYS267	N	8.466	-2.235	-7.167	
2023	LYS267	CA	8.641	-0.891	-7.725	
2024	LYS267	C	8.887	0.136	-6.625	
2025	LYS267	O	9.706	1.042	-6.818	
2026	LYS267	CB	7.406	-0.501	-8.523	
2027	LYS267	CG	7.223	-1.394	-9.742	
2028	LYS267	CD	6.072	-0.894	-10.604	
2029	LYS267	CE	4.779	-0.825	-9.803	
2030	LYS267	NZ	3.688	-0.267	-10.615	30
2031	ILE268	N	8.413	-0.162	-5.427	
2032	ILE268	CA	8.717	0.664	-4.254	
2033	ILE268	C	10.181	0.531	-3.84	
2034	ILE268	O	10.879	1.544	-3.697	
2035	ILE268	CB	7.827	0.171	-3.117	
2036	ILE268	CG1	6.38	0.576	-3.335	
2037	ILE268	CG2	8.311	0.638	-1.75	
2038	ILE268	CD1	5.504	0.057	-2.205	
2039	LYS269	N	10.693	-0.688	-3.902	
2040	LYS269	CA	12.068	-0.95	-3.463	
2041	LYS269	C	13.116	-0.675	-4.542	40
2042	LYS269	O	14.306	-0.554	-4.228	
2043	LYS269	CB	12.126	-2.405	-3.021	
2044	LYS269	CG	11.167	-2.628	-1.858	
2045	LYS269	CD	10.997	-4.107	-1.542	
2046	LYS269	CE	12.315	-4.756	-1.148	
2047	LYS269	NZ	12.106	-6.181	-0.856	
2048	ALA270	N	12.679	-0.53	-5.782	
2049	ALA270	CA	13.585	-0.106	-6.851	
2050	ALA270	C	13.478	1.396	-7.101	

【表 4 1】

2051	ALA270	O	14.286	1.974	-7.838	
2052	ALA270	CB	13.233	-0.863	-8.125	
2053	ASP271	N	12.486	2.017	-6.486	
2054	ASP271	CA	12.271	3.453	-6.649	
2055	ASP271	C	11.505	4.006	-5.448	
2056	ASP271	O	10.267	4.02	-5.445	
2057	ASP271	CB	11.48	3.653	-7.944	
2058	ASP271	CG	11.354	5.125	-8.337	
2059	ASP271	OD1	10.975	5.919	-7.482	
2060	ASP271	OD2	11.493	5.405	-9.517	10
2061	PRO272	N	12.238	4.705	-4.592	
2062	PRO272	CA	11.686	5.248	-3.337	
2063	PRO272	C	10.72	6.438	-3.497	
2064	PRO272	O	9.973	6.74	-2.558	
2065	PRO272	CB	12.887	5.657	-2.54	
2066	PRO272	CG	14.133	5.544	-3.406	
2067	PRO272	CD	13.673	4.968	-4.734	
2068	GLY273	N	10.586	6.971	-4.702	
2069	GLY273	CA	9.607	8.03	-4.968	
2070	GLY273	C	8.207	7.423	-5.037	
2071	GLY273	O	7.257	7.968	-4.456	
2072	LYS274	N	8.167	6.171	-5.473	20
2073	LYS274	CA	6.916	5.418	-5.566	
2074	LYS274	C	6.39	4.954	-4.21	
2075	LYS274	O	5.225	4.55	-4.144	
2076	LYS274	CB	7.138	4.184	-6.431	
2077	LYS274	CG	7.528	4.547	-7.856	
2078	LYS274	CD	7.755	3.287	-8.681	
2079	LYS274	CE	8.177	3.615	-10.107	
2080	LYS274	NZ	8.465	2.383	-10.858	
2081	THR275	N	7.12	5.182	-3.127	
2082	THR275	CA	6.593	4.814	-1.813	
2083	THR275	C	5.522	5.804	-1.352	
2084	THR275	O	4.516	5.354	-0.798	30
2085	THR275	CB	7.725	4.76	-0.789	
2086	THR275	OG1	8.169	6.074	-0.485	
2087	THR275	CG2	8.912	3.963	-1.305	
2088	LEU276	N	5.564	7.036	-1.844	
2089	LEU276	CA	4.543	8.012	-1.446	
2090	LEU276	C	3.312	7.905	-2.346	
2091	LEU276	O	2.175	8.051	-1.876	
2092	LEU276	CB	5.14	9.411	-1.538	
2093	LEU276	CG	4.182	10.462	-0.987	
2094	LEU276	CD1	3.836	10.177	0.472	
2095	LEU276	CD2	4.77	11.861	-1.133	40
2096	ALA277	N	3.53	7.375	-3.539	
2097	ALA277	CA	2.417	7.126	-4.451	
2098	ALA277	C	1.711	5.836	-4.052	
2099	ALA277	O	0.475	5.796	-4.026	
2100	ALA277	CB	2.963	7.021	-5.869	
2101	ALA278	N	2.472	4.947	-3.431	
2102	ALA278	CA	1.909	3.727	-2.859	
2103	ALA278	C	1.12	4.01	-1.591	
2104	ALA278	O	0.051	3.416	-1.427	

【表 4 2】

2105	ALA278	CB	3.048	2.773	-2.523	
2106	ILE279	N	1.472	5.064	-0.867	
2107	ILE279	CA	0.698	5.447	0.324	
2108	ILE279	C	-0.692	5.926	-0.078	
2109	ILE279	O	-1.691	5.368	0.396	
2110	ILE279	CB	1.401	6.588	1.063	
2111	ILE279	CG1	2.806	6.209	1.513	
2112	ILE279	CG2	0.577	7.041	2.264	
2113	ILE279	CD1	2.805	4.984	2.416	
2114	GLU280	N	-0.748	6.688	-1.159	10
2115	GLU280	CA	-2.037	7.217	-1.616	
2116	GLU280	C	-2.849	6.159	-2.358	
2117	GLU280	O	-4.075	6.123	-2.217	
2118	GLU280	CB	-1.784	8.404	-2.537	
2119	GLU280	CG	-0.943	9.484	-1.862	
2120	GLU280	CD	-1.616	9.992	-0.587	
2121	GLU280	OE1	-2.453	10.875	-0.699	
2122	GLU280	OE2	-1.19	9.569	0.479	
2123	GLU281	N	-2.169	5.173	-2.916	
2124	GLU281	CA	-2.857	4.083	-3.604	
2125	GLU281	C	-3.402	3.048	-2.616	
2126	GLU281	O	-4.497	2.514	-2.842	20
2127	GLU281	CB	-1.846	3.441	-4.546	
2128	GLU281	CG	-2.451	2.329	-5.39	
2129	GLU281	CD	-3.395	2.862	-6.465	
2130	GLU281	OE1	-3.893	2.017	-7.199	
2131	GLU281	OE2	-3.446	4.068	-6.653	
2132	LEU282	N	-2.776	2.957	-1.452	
2133	LEU282	CA	-3.272	2.102	-0.369	
2134	LEU282	C	-4.527	2.703	0.232	
2135	LEU282	O	-5.563	2.03	0.269	
2136	LEU282	CB	-2.212	2.019	0.727	
2137	LEU282	CG	-1.025	1.151	0.332	
2138	LEU282	CD1	0.163	1.385	1.256	30
2139	LEU282	CD2	-1.415	-0.319	0.305	
2140	LEU283	N	-4.511	4.018	0.378	
2141	LEU283	CA	-5.666	4.738	0.922	
2142	LEU283	C	-6.823	4.808	-0.066	
2143	LEU283	O	-7.989	4.766	0.346	
2144	LEU283	CB	-5.202	6.145	1.257	
2145	LEU283	CG	-4.178	6.103	2.379	
2146	LEU283	CD1	-3.386	7.399	2.461	
2147	LEU283	CD2	-4.848	5.766	3.706	
2148	ARG284	N	-6.512	4.723	-1.346	
2149	ARG284	CA	-7.561	4.67	-2.355	40
2150	ARG284	C	-8.306	3.337	-2.3	
2151	ARG284	O	-9.482	3.316	-1.923	
2152	ARG284	CB	-6.921	4.824	-3.726	
2153	ARG284	CG	-7.99	4.956	-4.798	
2154	ARG284	CD	-7.417	4.674	-6.18	
2155	ARG284	NE	-6.879	3.305	-6.258	
2156	ARG284	CZ	-7.603	2.231	-6.583	
2157	ARG284	NH1	-8.911	2.35	-6.816	
2158	ARG284	NH2	-7.021	1.032	-6.658	

【表 4 3】

2159	ILE285	N	-7.588	2.233	-2.423	
2160	ILE285	CA	-8.284	0.942	-2.519	
2161	ILE285	C	-8.742	0.397	-1.155	
2162	ILE285	O	-9.703	-0.385	-1.087	
2163	ILE285	CB	-7.36	-0.039	-3.247	
2164	ILE285	CG1	-8.033	-1.383	-3.499	
2165	ILE285	CG2	-6.045	-0.238	-2.501	
2166	ILE285	CD1	-7.119	-2.327	-4.272	
2167	PHE286	N	-8.188	0.934	-0.082	
2168	PHE286	CA	-8.543	0.5	1.268	10
2169	PHE286	C	-8.451	1.645	2.27	
2170	PHE286	O	-7.544	1.66	3.115	
2171	PHE286	CB	-7.575	-0.594	1.708	
2172	PHE286	CG	-7.737	-1.948	1.025	
2173	PHE286	CD1	-6.675	-2.503	0.323	
2174	PHE286	CD2	-8.943	-2.632	1.117	
2175	PHE286	CE1	-6.822	-3.736	-0.298	
2176	PHE286	CE2	-9.09	-3.865	0.495	
2177	PHE286	CZ	-8.03	-4.417	-0.213	
2178	THR287	N	-9.377	2.584	2.193	
2179	THR287	CA	-9.413	3.636	3.212	
2180	THR287	C	-9.931	3.053	4.519	20
2181	THR287	O	-10.843	2.216	4.543	
2182	THR287	CB	-10.294	4.801	2.77	
2183	THR287	OG1	-10.207	5.833	3.745	
2184	THR287	CG2	-11.759	4.423	2.643	
2185	ILE288	N	-9.305	3.459	5.609	
2186	ILE288	CA	-9.745	2.966	6.911	
2187	ILE288	C	-10.966	3.747	7.391	
2188	ILE288	O	-11.856	3.155	8.014	
2189	ILE288	CB	-8.584	3.044	7.894	
2190	ILE288	CG1	-8.04	4.459	8.013	
2191	ILE288	CG2	-7.469	2.097	7.461	
2192	ILE288	CD1	-6.938	4.507	9.052	30
2193	ALA289	N	-11.116	4.965	6.89	
2194	ALA289	CA	-12.34	5.743	7.09	
2195	ALA289	C	-13.315	5.37	5.982	
2196	ALA289	O	-13.433	6.062	4.964	
2197	ALA289	CB	-12.003	7.228	7.013	
2198	GLU290	N	-13.969	4.239	6.174	
2199	GLU290	CA	-14.796	3.652	5.128	
2200	GLU290	C	-16.223	4.179	5.178	
2201	GLU290	O	-16.891	4.234	4.138	
2202	GLU290	CB	-14.766	2.14	5.34	
2203	GLU290	CG	-15.669	1.375	4.381	40
2204	GLU290	CD	-15.736	-0.091	4.802	
2205	GLU290	OE1	-16.751	-0.475	5.367	
2206	GLU290	OE2	-14.809	-0.819	4.472	
2207	THR291	N	-16.659	4.619	6.347	
2208	THR291	CA	-17.992	5.216	6.481	
2209	THR291	C	-17.983	6.47	7.349	
2210	THR291	O	-17.68	6.437	8.55	
2211	THR291	CB	-18.978	4.219	7.094	
2212	THR291	OG1	-18.522	3.832	8.382	

【表 4 4】

2213	THR291	CG2	-19.168	2.961	6.257
2214	ALA292	N	-18.397	7.562	6.734
2215	ALA292	CA	-18.676	8.799	7.471
2216	ALA292	C	-20.103	8.704	8.001
2217	ALA292	O	-21.051	9.169	7.355
2218	ALA292	CB	-18.552	9.986	6.521
2219	THR293	N	-20.231	8.1	9.172
2220	THR293	CA	-21.535	7.709	9.721
2221	THR293	C	-22.161	8.802	10.585
2222	THR293	O	-22.152	8.733	11.82
2223	THR293	CB	-21.308	6.447	10.546
2224	THR293	OG1	-20.564	5.523	9.756
2225	THR293	CG2	-22.617	5.788	10.962
2226	SER294	N	-22.703	9.805	9.913
2227	SER294	CA	-23.293	10.956	10.601
2228	SER294	C	-24.198	11.766	9.675
2229	SER294	O	-25.386	11.443	9.529
2230	SER294	CB	-22.167	11.822	11.164
2231	SER294	OG	-20.976	11.559	10.426
2232	ARG295	N	-23.598	12.789	9.076
2233	ARG295	CA	-24.233	13.782	8.187
2234	ARG295	C	-25.738	13.903	8.366
2235	ARG295	O	-26.524	13.3	7.627
2236	ARG295	CB	-23.905	13.424	6.747
2237	ARG295	CG	-22.4	13.455	6.518
2238	ARG295	CD	-21.819	14.841	6.786
2239	ARG295	NE	-20.362	14.859	6.577
2240	ARG295	CZ	-19.475	14.679	7.56
2241	ARG295	NH1	-19.892	14.437	8.805
2242	ARG295	NH2	-18.167	14.719	7.293
2243	PHE296	N	-26.119	14.646	9.387
2244	PHE296	CA	-27.528	14.825	9.712
2245	PHE296	C	-28.176	15.754	8.701
2246	PHE296	O	-27.736	16.899	8.529
2247	PHE296	CB	-27.623	15.428	11.11
2248	PHE296	CG	-29.052	15.695	11.562
2249	PHE296	CD1	-29.564	16.985	11.533
2250	PHE296	CD2	-29.843	14.643	12.002
2251	PHE296	CE1	-30.871	17.221	11.936
2252	PHE296	CE2	-31.149	14.879	12.406
2253	PHE296	CZ	-31.663	16.167	12.37
2254	ALA297	N	-29.2	15.255	8.032
2255	ALA297	CA	-29.931	16.073	7.065
2256	ALA297	C	-30.783	17.111	7.781
2257	ALA297	O	-31.769	16.781	8.45
2258	ALA297	CB	-30.819	15.165	6.224
2259	THR298	N	-30.369	18.361	7.668
2260	THR298	CA	-31.129	19.47	8.255
2261	THR298	C	-32.139	20.005	7.246
2262	THR298	O	-33.087	20.712	7.603
2263	THR298	CB	-30.17	20.586	8.659
2264	THR298	OG1	-29.565	21.12	7.488
2265	THR298	CG2	-29.068	20.082	9.582
2266	ALA299	N	-31.926	19.649	5.992

10

20

30

40

【表 4 5】

2267	ALA299	CA	-32.881	19.968	4.932
2268	ALA299	C	-33.091	18.734	4.068
2269	ALA299	O	-32.427	17.712	4.27
2270	ALA299	CB	-32.331	21.11	4.086
2271	ASP300	N	-34.041	18.817	3.151
2272	ASP300	CA	-34.256	17.727	2.191
2273	ASP300	C	-33.253	17.852	1.048
2274	ASP300	O	-33.498	18.545	0.053
2275	ASP300	CB	-35.679	17.801	1.648
2276	ASP300	CG	-36.682	17.714	2.793
2277	ASP300	OD1	-36.686	16.69	3.463
2278	ASP300	OD2	-37.289	18.733	3.09
2279	VAL301	N	-32.128	17.177	1.199
2280	VAL301	CA	-31.029	17.337	0.244
2281	VAL301	C	-31.065	16.261	-0.833
2282	VAL301	O	-30.956	15.062	-0.55
2283	VAL301	CB	-29.711	17.263	1.007
2284	VAL301	CG1	-28.543	17.673	0.118
2285	VAL301	CG2	-29.756	18.154	2.24
2286	GLU302	N	-31.242	16.695	-2.067
2287	GLU302	CA	-31.23	15.75	-3.184
2288	GLU302	C	-29.799	15.413	-3.603
2289	GLU302	O	-29.141	16.178	-4.318
2290	GLU302	CB	-31.98	16.355	-4.363
2291	GLU302	CG	-32.053	15.344	-5.497
2292	GLU302	CD	-32.662	15.959	-6.75
2293	GLU302	OE1	-33.484	16.852	-6.606
2294	GLU302	OE2	-32.169	15.628	-7.82
2295	ILE303	N	-29.365	14.227	-3.222
2296	ILE303	CA	-28.014	13.766	-3.539
2297	ILE303	C	-28.053	12.812	-4.726
2298	ILE303	O	-28.452	11.647	-4.6
2299	ILE303	CB	-27.438	13.076	-2.307
2300	ILE303	CG1	-27.329	14.056	-1.148
2301	ILE303	CG2	-26.066	12.49	-2.608
2302	ILE303	CD1	-26.305	15.146	-1.441
2303	GLY304	N	-27.715	13.356	-5.885
2304	GLY304	CA	-27.705	12.592	-7.139
2305	GLY304	C	-29.056	11.935	-7.402
2306	GLY304	O	-29.187	10.708	-7.311
2307	GLY305	N	-30.079	12.757	-7.573
2308	GLY305	CA	-31.432	12.229	-7.805
2309	GLY305	C	-32.226	11.982	-6.517
2310	GLY305	O	-33.289	12.584	-6.314
2311	THR306	N	-31.694	11.132	-5.653
2312	THR306	CA	-32.399	10.717	-4.431
2313	THR306	C	-32.569	11.859	-3.43
2314	THR306	O	-31.597	12.497	-3.015
2315	THR306	CB	-31.591	9.598	-3.782
2316	THR306	OG1	-31.461	8.534	-4.716
2317	THR306	CG2	-32.278	9.051	-2.537
2318	LEU307	N	-33.811	12.127	-3.066
2319	LEU307	CA	-34.093	13.162	-2.068
2320	LEU307	C	-33.971	12.6	-0.652

10

20

30

40

【表 4 6】

2321	LEU307	O	-34.803	11.799	-0.209
2322	LEU307	CB	-35.513	13.67	-2.295
2323	LEU307	CG	-35.845	14.852	-1.391
2324	LEU307	CD1	-34.946	16.039	-1.71
2325	LEU307	CD2	-37.31	15.248	-1.534
2326	ILE308	N	-32.93	13.021	0.045
2327	ILE308	CA	-32.738	12.616	1.439
2328	ILE308	C	-33.586	13.486	2.362
2329	ILE308	O	-33.481	14.719	2.356
2330	ILE308	CB	-31.253	12.742	1.764
2331	ILE308	CG1	-30.456	11.77	0.901
2332	ILE308	CG2	-30.976	12.507	3.245
2333	ILE308	CD1	-28.974	11.794	1.246
2334	ARG309	N	-34.466	12.834	3.101
2335	ARG309	CA	-35.386	13.543	3.993
2336	ARG309	C	-34.674	14.125	5.209
2337	ARG309	O	-33.807	13.486	5.824
2338	ARG309	CB	-36.447	12.563	4.474
2339	ARG309	CG	-37.117	11.841	3.312
2340	ARG309	CD	-38.079	10.778	3.83
2341	ARG309	NE	-38.721	10.055	2.721
2342	ARG309	CZ	-40.046	9.951	2.594
2343	ARG309	NH1	-40.85	10.528	3.49
2344	ARG309	NH2	-40.566	9.278	1.566
2345	ALA310	N	-35.099	15.325	5.566
2346	ALA310	CA	-34.597	15.999	6.763
2347	ALA310	C	-34.952	15.189	8.003
2348	ALA310	O	-36.005	14.542	8.07
2349	ALA310	CB	-35.223	17.386	6.853
2350	GLY311	N	-34	15.115	8.913
2351	GLY311	CA	-34.172	14.325	10.13
2352	GLY311	C	-33.475	12.968	10.042
2353	GLY311	O	-33.472	12.217	11.023
2354	GLU312	N	-32.982	12.611	8.866
2355	GLU312	CA	-32.294	11.322	8.719
2356	GLU312	C	-30.776	11.471	8.737
2357	GLU312	O	-30.236	12.577	8.599
2358	GLU312	CB	-32.743	10.651	7.429
2359	GLU312	CG	-34.243	10.386	7.453
2360	GLU312	CD	-34.639	9.537	6.252
2361	GLU312	OE1	-34.686	10.083	5.156
2362	GLU312	OE2	-34.723	8.33	6.419
2363	GLY313	N	-30.107	10.356	8.981
2364	GLY313	CA	-28.64	10.335	8.994
2365	GLY313	C	-28.079	9.813	7.673
2366	GLY313	O	-28.674	8.944	7.02
2367	VAL314	N	-26.996	10.429	7.237
2368	VAL314	CA	-26.33	10.028	5.994
2369	VAL314	C	-24.93	9.467	6.267
2370	VAL314	O	-24.127	10.02	7.033
2371	VAL314	CB	-26.28	11.246	5.073
2372	VAL314	CG1	-25.639	10.942	3.724
2373	VAL314	CG2	-27.681	11.804	4.861
2374	VAL315	N	-24.674	8.328	5.649

10

20

30

40

【表 4 7】

2375	VAL315	CA	-23.386	7.646	5.773	
2376	VAL315	C	-22.647	7.666	4.435	
2377	VAL315	O	-23.025	6.975	3.479	
2378	VAL315	CB	-23.634	6.207	6.213	
2379	VAL315	CG1	-22.325	5.437	6.347	
2380	VAL315	CG2	-24.404	6.163	7.528	
2381	GLY316	N	-21.6	8.467	4.374	
2382	GLY316	CA	-20.789	8.539	3.152	
2383	GLY316	C	-19.797	7.382	3.096	
2384	GLY316	O	-18.903	7.28	3.946	10
2385	LEU317	N	-19.978	6.508	2.121	
2386	LEU317	CA	-19.102	5.343	1.978	
2387	LEU317	C	-17.841	5.722	1.218	
2388	LEU317	O	-17.758	5.485	0.009	
2389	LEU317	CB	-19.835	4.256	1.199	
2390	LEU317	CG	-20.312	3.094	2.064	
2391	LEU317	CD1	-19.129	2.374	2.697	
2392	LEU317	CD2	-21.328	3.519	3.121	
2393	SER318	N	-16.794	6.056	1.951	
2394	SER318	CA	-15.563	6.559	1.34	
2395	SER318	C	-14.789	5.483	0.588	
2396	SER318	O	-14.286	5.777	-0.503	20
2397	SER318	CB	-14.689	7.158	2.434	
2398	SER318	OG	-13.375	7.32	1.915	
2399	ASN319	N	-14.954	4.222	0.954	
2400	ASN319	CA	-14.267	3.196	0.162	
2401	ASN319	C	-15.089	2.774	-1.058	
2402	ASN319	O	-14.498	2.343	-2.052	
2403	ASN319	CB	-13.899	1.982	1.004	
2404	ASN319	CG	-12.531	1.507	0.516	
2405	ASN319	OD1	-11.628	2.333	0.321	
2406	ASN319	ND2	-12.378	0.209	0.332	
2407	ALA320	N	-16.362	3.139	-1.091	
2408	ALA320	CA	-17.181	2.889	-2.283	30
2409	ALA320	C	-17.001	4.055	-3.248	
2410	ALA320	O	-16.897	3.856	-4.464	
2411	ALA320	CB	-18.642	2.78	-1.875	
2412	GLY321	N	-16.68	5.197	-2.666	
2413	GLY321	CA	-16.233	6.36	-3.426	
2414	GLY321	C	-14.942	6.045	-4.17	
2415	GLY321	O	-14.924	6.106	-5.404	
2416	ASN322	N	-13.958	5.508	-3.466	
2417	ASN322	CA	-12.683	5.172	-4.113	
2418	ASN322	C	-12.765	3.924	-5.006	
2419	ASN322	O	-11.954	3.769	-5.927	
2420	ASN322	CB	-11.651	4.902	-3.035	40
2421	ASN322	CG	-11.54	6.013	-1.994	
2422	ASN322	OD1	-11.701	7.211	-2.278	
2423	ASN322	ND2	-11.095	5.595	-0.824	
2424	HIS323	N	-13.785	3.103	-4.807	
2425	HIS323	CA	-14.068	1.985	-5.716	
2426	HIS323	C	-15.037	2.337	-6.846	
2427	HIS323	O	-15.541	1.435	-7.525	
2428	HIS323	CB	-14.625	0.804	-4.939	

【表 4 8】

2429	HIS323	CG	-13.581	0.008	-4.19
2430	HIS323	ND1	-13.802	-0.807	-3.144
2431	HIS323	CD2	-12.233	-0.04	-4.46
2432	HIS323	CE1	-12.634	-1.351	-2.748
2433	HIS323	NE2	-11.664	-0.875	-3.563
2434	ASP324	N	-15.353	3.608	-7.007
2435	ASP324	CA	-16.209	4.041	-8.109
2436	ASP324	C	-15.409	4.076	-9.411
2437	ASP324	O	-14.628	5.012	-9.642
2438	ASP324	CB	-16.72	5.431	-7.737
2439	ASP324	CG	-17.711	6.002	-8.74
2440	ASP324	OD1	-18.738	6.476	-8.275
2441	ASP324	OD2	-17.28	6.257	-9.859
2442	PRO325	N	-15.831	3.237	-10.349
2443	PRO325	CA	-15.082	2.989	-11.595
2444	PRO325	C	-15.201	4.099	-12.648
2445	PRO325	O	-14.504	4.065	-13.667
2446	PRO325	CB	-15.653	1.713	-12.134
2447	PRO325	CG	-16.9	1.346	-11.345
2448	PRO325	CD	-17.01	2.374	-10.232
2449	ASP326	N	-16.008	5.11	-12.361
2450	ASP326	CA	-16.206	6.248	-13.259
2451	ASP326	C	-15.146	7.312	-12.983
2452	ASP326	O	-14.924	8.216	-13.797
2453	ASP326	CB	-17.597	6.826	-12.994
2454	ASP326	CG	-18.675	5.753	-13.155
2455	ASP326	OD1	-19.125	5.571	-14.277
2456	ASP326	OD2	-18.963	5.068	-12.179
2457	GLY327	N	-14.468	7.162	-11.857
2458	GLY327	CA	-13.318	8.005	-11.542
2459	GLY327	C	-12.061	7.145	-11.594
2460	GLY327	O	-11.166	7.366	-12.418
2461	PHE328	N	-12.046	6.12	-10.76
2462	PHE328	CA	-10.893	5.218	-10.705
2463	PHE328	C	-11.119	4.009	-11.602
2464	PHE328	O	-11.92	3.114	-11.3
2465	PHE328	CB	-10.653	4.81	-9.257
2466	PHE328	CG	-10.261	5.995	-8.376
2467	PHE328	CD1	-9.098	6.702	-8.651
2468	PHE328	CD2	-11.07	6.379	-7.314
2469	PHE328	CE1	-8.737	7.784	-7.858
2470	PHE328	CE2	-10.709	7.459	-6.519
2471	PHE328	CZ	-9.542	8.161	-6.791
2472	GLU329	N	-10.377	4.006	-12.696
2473	GLU329	CA	-10.511	2.993	-13.752
2474	GLU329	C	-10.048	1.63	-13.253
2475	GLU329	O	-8.847	1.399	-13.092
2476	GLU329	CB	-9.673	3.409	-14.962
2477	GLU329	CG	-10.104	4.752	-15.557
2478	GLU329	CD	-9.106	5.864	-15.215
2479	GLU329	OE1	-8.54	5.804	-14.132
2480	GLU329	OE2	-8.904	6.724	-16.059
2481	ASN330	N	-10.987	0.698	-13.249
2482	ASN330	CA	-10.826	-0.597	-12.566

10

20

30

40

【表 4 9】

2483	ASN330	C	-10.252	-0.375	-11.171
2484	ASN330	O	-9.065	-0.629	-10.929
2485	ASN330	CB	-9.925	-1.547	-13.355
2486	ASN330	CG	-9.943	-2.959	-12.75
2487	ASN330	OD1	-9.958	-3.151	-11.523
2488	ASN330	ND2	-9.893	-3.939	-13.632
2489	PRO331	N	-11.157	-0.201	-10.224
2490	PRO331	CA	-10.787	0.129	-8.843
2491	PRO331	C	-10.287	-1.061	-8.012
2492	PRO331	O	-9.994	-0.904	-6.822
2493	PRO331	CB	-12.044	0.673	-8.25
2494	PRO331	CG	-13.21	0.356	-9.172
2495	PRO331	CD	-12.608	-0.26	-10.416
2496	ASP332	N	-10.198	-2.236	-8.615
2497	ASP332	CA	-9.742	-3.417	-7.889
2498	ASP332	C	-8.267	-3.667	-8.179
2499	ASP332	O	-7.609	-4.447	-7.478
2500	ASP332	CB	-10.557	-4.617	-8.358
2501	ASP332	CG	-12.048	-4.356	-8.173
2502	ASP332	OD1	-12.43	-3.961	-7.08
2503	ASP332	OD2	-12.784	-4.566	-9.127
2504	THR333	N	-7.744	-2.97	-9.173
2505	THR333	CA	-6.339	-3.153	-9.535
2506	THR333	C	-5.433	-2.224	-8.735
2507	THR333	O	-5.283	-1.042	-9.06
2508	THR333	CB	-6.189	-2.877	-11.026
2509	THR333	OG1	-7.072	-3.748	-11.718
2510	THR333	CG2	-4.769	-3.147	-11.514
2511	PHE334	N	-4.84	-2.772	-7.688
2512	PHE334	CA	-3.868	-2.017	-6.89
2513	PHE334	C	-2.589	-1.762	-7.684
2514	PHE334	O	-1.817	-2.686	-7.979
2515	PHE334	CB	-3.543	-2.812	-5.63
2516	PHE334	CG	-2.485	-2.162	-4.744
2517	PHE334	CD1	-2.784	-1	-4.047
2518	PHE334	CD2	-1.221	-2.728	-4.638
2519	PHE334	CE1	-1.82	-0.404	-3.246
2520	PHE334	CE2	-0.256	-2.132	-3.837
2521	PHE334	CZ	-0.556	-0.969	-3.142
2522	ASP335	N	-2.407	-0.509	-8.064
2523	ASP335	CA	-1.206	-0.106	-8.794
2524	ASP335	C	-0.697	1.24	-8.283
2525	ASP335	O	-1.322	2.277	-8.525
2526	ASP335	CB	-1.55	-0.019	-10.277
2527	ASP335	CG	-0.276	0.2	-11.084
2528	ASP335	OD1	0.34	-0.792	-11.448
2529	ASP335	OD2	0.15	1.347	-11.159
2530	ILE336	N	0.532	1.249	-7.794
2531	ILE336	CA	1.118	2.426	-7.127
2532	ILE336	C	1.596	3.552	-8.058
2533	ILE336	O	2.207	4.512	-7.579
2534	ILE336	CB	2.303	1.948	-6.301
2535	ILE336	CG1	3.437	1.48	-7.203
2536	ILE336	CG2	1.873	0.817	-5.375

10

20

30

40

【表 5 0】

2537	ILE336	CD1	4.676	1.131	-6.396	
2538	GLU337	N	1.41	3.407	-9.361	
2539	GLU337	CA	1.712	4.496	-10.291	
2540	GLU337	C	0.434	5.236	-10.681	
2541	GLU337	O	0.487	6.246	-11.393	
2542	GLU337	CB	2.393	3.936	-11.533	
2543	GLU337	CG	3.788	3.412	-11.213	
2544	GLU337	CD	4.442	2.871	-12.481	
2545	GLU337	OE1	3.934	3.167	-13.552	
2546	GLU337	OE2	5.372	2.089	-12.348	10
2547	ARG338	N	-0.697	4.719	-10.229	
2548	ARG338	CA	-1.982	5.376	-10.464	
2549	ARG338	C	-2.095	6.636	-9.615	
2550	ARG338	O	-1.809	6.625	-8.412	
2551	ARG338	CB	-3.085	4.393	-10.082	
2552	ARG338	CG	-4.484	4.977	-10.234	
2553	ARG338	CD	-5.532	3.961	-9.809	
2554	ARG338	NE	-5.375	2.729	-10.591	
2555	ARG338	CZ	-6.357	1.847	-10.77	
2556	ARG338	NH1	-7.549	2.056	-10.207	
2557	ARG338	NH2	-6.143	0.757	-11.509	
2558	GLY339	N	-2.423	7.735	-10.271	20
2559	GLY339	CA	-2.685	8.98	-9.55	
2560	GLY339	C	-4.038	8.895	-8.852	
2561	GLY339	O	-5.086	9.045	-9.489	
2562	ALA340	N	-3.994	8.767	-7.534	
2563	ALA340	CA	-5.202	8.646	-6.691	
2564	ALA340	C	-5.871	9.982	-6.335	
2565	ALA340	O	-6.419	10.145	-5.237	
2566	ALA340	CB	-4.817	7.907	-5.414	
2567	ARG341	N	-5.844	10.917	-7.27	
2568	ARG341	CA	-6.395	12.25	-7.043	
2569	ARG341	C	-7.904	12.179	-6.87	
2570	ARG341	O	-8.571	11.307	-7.436	30
2571	ARG341	CB	-6.045	13.131	-8.235	
2572	ARG341	CG	-4.535	13.264	-8.387	
2573	ARG341	CD	-4.175	14.135	-9.583	
2574	ARG341	NE	-2.718	14.303	-9.691	
2575	ARG341	CZ	-2.142	15.463	-10.016	
2576	ARG341	NH1	-2.898	16.534	-10.271	
2577	ARG341	NH2	-0.813	15.551	-10.092	
2578	HIS342	N	-8.378	13.009	-5.954	
2579	HIS342	CA	-9.801	13.12	-5.603	
2580	HIS342	C	-10.342	11.888	-4.88	
2581	HIS342	O	-11.547	11.621	-4.961	40
2582	HIS342	CB	-10.644	13.367	-6.855	
2583	HIS342	CG	-10.32	14.641	-7.606	
2584	HIS342	ND1	-10.757	15.877	-7.303	
2585	HIS342	CD2	-9.536	14.758	-8.731	
2586	HIS342	CE1	-10.259	16.758	-8.195	
2587	HIS342	NE2	-9.504	16.064	-9.078	
2588	HIS343	N	-9.49	11.15	-4.184	
2589	HIS343	CA	-10.02	10.075	-3.346	
2590	HIS343	C	-10.572	10.661	-2.053	

【表 5 1】

2591	HIS343	O	-9.984	11.572	-1.455	
2592	HIS343	CB	-8.988	8.965	-3.085	
2593	HIS343	CG	-7.691	9.253	-2.333	
2594	HIS343	ND1	-7.374	10.313	-1.562	
2595	HIS343	CD2	-6.597	8.421	-2.319	
2596	HIS343	CE1	-6.125	10.166	-1.079	
2597	HIS343	NE2	-5.643	8.993	-1.549	
2598	VAL344	N	-11.634	10.052	-1.563	
2599	VAL344	CA	-12.278	10.521	-0.331	
2600	VAL344	C	-11.732	9.82	0.915	10
2601	VAL344	O	-12.271	9.998	2.015	
2602	VAL344	CB	-13.787	10.343	-0.45	
2603	VAL344	CG1	-14.412	11.457	-1.282	
2604	VAL344	CG2	-14.141	8.977	-1.019	
2605	ALA345	N	-10.581	9.178	0.768	
2606	ALA345	CA	-9.947	8.411	1.849	
2607	ALA345	C	-9.419	9.24	3.02	
2608	ALA345	O	-9.242	8.703	4.12	
2609	ALA345	CB	-8.757	7.686	1.237	
2610	PHE346	N	-9.169	10.518	2.787	
2611	PHE346	CA	-8.763	11.424	3.867	
2612	PHE346	C	-9.885	12.363	4.291	20
2613	PHE346	O	-9.652	13.29	5.083	
2614	PHE346	CB	-7.571	12.253	3.409	
2615	PHE346	CG	-6.223	11.583	3.635	
2616	PHE346	CD1	-5.295	11.513	2.605	
2617	PHE346	CD2	-5.921	11.048	4.881	
2618	PHE346	CE1	-4.061	10.916	2.825	
2619	PHE346	CE2	-4.687	10.451	5.101	
2620	PHE346	CZ	-3.756	10.388	4.073	
2621	GLY347	N	-11.068	12.169	3.731	
2622	GLY347	CA	-12.177	13.091	3.979	
2623	GLY347	C	-12.007	14.367	3.158	
2624	GLY347	O	-10.882	14.764	2.825	30
2625	PHE348	N	-13.123	14.988	2.822	
2626	PHE348	CA	-13.084	16.264	2.097	
2627	PHE348	C	-13.98	17.307	2.752	
2628	PHE348	O	-14.185	17.307	3.976	
2629	PHE348	CB	-13.497	16.085	0.64	
2630	PHE348	CG	-12.375	15.613	-0.285	
2631	PHE348	CD1	-12.654	14.749	-1.333	
2632	PHE348	CD2	-11.075	16.06	-0.081	
2633	PHE348	CE1	-11.633	14.322	-2.172	
2634	PHE348	CE2	-10.054	15.633	-0.918	
2635	PHE348	CZ	-10.332	14.763	-1.963	
2636	GLY349	N	-14.438	18.227	1.918	40
2637	GLY349	CA	-15.269	19.339	2.376	
2638	GLY349	C	-14.484	20.194	3.353	
2639	GLY349	O	-13.286	20.433	3.165	
2640	VAL350	N	-15.121	20.525	4.458	
2641	VAL350	CA	-14.426	21.29	5.493	
2642	VAL350	C	-13.865	20.408	6.613	
2643	VAL350	O	-12.964	20.854	7.327	
2644	VAL350	CB	-15.384	22.334	6.062	

【表 5 2】

2645	VAL350	CG1	-15.675	23.433	5.047
2646	VAL350	CG2	-16.682	21.709	6.561
2647	HIS351	N	-14.217	19.133	6.631
2648	HIS351	CA	-13.875	18.287	7.784
2649	HIS351	C	-12.75	17.284	7.532
2650	HIS351	O	-12.711	16.259	8.223
2651	HIS351	CB	-15.113	17.514	8.23
2652	HIS351	CG	-16.205	18.349	8.87
2653	HIS351	ND1	-16.137	18.987	10.054
2654	HIS351	CD2	-17.46	18.588	8.36
2655	HIS351	CE1	-17.304	19.619	10.29
2656	HIS351	NE2	-18.122	19.372	9.242
2657	GLN352	N	-11.876	17.53	6.568
2658	GLN352	CA	-10.852	16.518	6.26
2659	GLN352	C	-9.793	16.385	7.357
2660	GLN352	O	-9.716	17.193	8.291
2661	GLN352	CB	-10.178	16.785	4.923
2662	GLN352	CG	-9.244	17.98	4.902
2663	GLN352	CD	-8.308	17.803	3.712
2664	GLN352	OE1	-7.316	18.528	3.568
2665	GLN352	NE2	-8.572	16.766	2.934
2666	CYS353	N	-9.049	15.296	7.271
2667	CYS353	CA	-8.044	14.964	8.287
2668	CYS353	C	-6.883	15.962	8.319
2669	CYS353	O	-6.101	16.072	7.366
2670	CYS353	CB	-7.524	13.567	7.961
2671	CYS353	SG	-6.412	12.816	9.17
2672	LEU354	N	-6.724	16.61	9.464
2673	LEU354	CA	-5.607	17.549	9.666
2674	LEU354	C	-4.308	16.852	10.059
2675	LEU354	O	-3.224	17.358	9.747
2676	LEU354	CB	-5.967	18.561	10.748
2677	LEU354	CG	-6.805	19.7	10.188
2678	LEU354	CD1	-7.148	20.701	11.284
2679	LEU354	CD2	-6.054	20.396	9.057
2680	GLY355	N	-4.414	15.6	10.478
2681	GLY355	CA	-3.223	14.791	10.772
2682	GLY355	C	-2.835	13.936	9.566
2683	GLY355	O	-2.119	12.936	9.702
2684	GLN356	N	-3.078	14.499	8.393
2685	GLN356	CA	-2.896	13.81	7.119
2686	GLN356	C	-1.414	13.677	6.799
2687	GLN356	O	-0.939	12.562	6.544
2688	GLN356	CB	-3.598	14.696	6.094
2689	GLN356	CG	-3.657	14.117	4.691
2690	GLN356	CD	-4.524	15.024	3.818
2691	GLN356	OE1	-4.609	14.834	2.599
2692	GLN356	NE2	-5.231	15.939	4.463
2693	ASN357	N	-0.67	14.7	7.191
2694	ASN357	CA	0.781	14.7	7.005
2695	ASN357	C	1.476	13.761	7.989
2696	ASN357	O	2.328	12.977	7.554
2697	ASN357	CB	1.258	16.137	7.203
2698	ASN357	CG	2.78	16.244	7.261

10

20

30

40

【表 5 3】

2699	ASN357	OD1	3.324	16.808	8.217	
2700	ASN357	ND2	3.444	15.745	6.233	
2701	LEU358	N	0.896	13.592	9.166	
2702	LEU358	CA	1.515	12.727	10.168	
2703	LEU358	C	1.271	11.264	9.826	
2704	LEU358	O	2.234	10.487	9.791	
2705	LEU358	CB	0.908	13.034	11.53	
2706	LEU358	CG	1.612	12.261	12.639	
2707	LEU358	CD1	3.089	12.639	12.712	
2708	LEU358	CD2	0.931	12.493	13.982	10
2709	ALA359	N	0.102	10.986	9.272	
2710	ALA359	CA	-0.235	9.616	8.887	
2711	ALA359	C	0.571	9.151	7.679	
2712	ALA359	O	1.204	8.089	7.756	
2713	ALA359	CB	-1.723	9.558	8.566	
2714	ARG360	N	0.794	10.045	6.728	
2715	ARG360	CA	1.585	9.681	5.546	
2716	ARG360	C	3.078	9.603	5.853	
2717	ARG360	O	3.747	8.677	5.374	
2718	ARG360	CB	1.354	10.721	4.459	
2719	ARG360	CG	-0.081	10.681	3.954	
2720	ARG360	CD	-0.325	11.752	2.898	20
2721	ARG360	NE	-0.144	13.097	3.463	
2722	ARG360	CZ	0.509	14.076	2.833	
2723	ARG360	NH1	0.602	15.283	3.393	
2724	ARG360	NH2	1.045	13.853	1.631	
2725	LEU361	N	3.518	10.379	6.83	
2726	LEU361	CA	4.921	10.356	7.239	
2727	LEU361	C	5.238	9.078	8.005	
2728	LEU361	O	6.174	8.36	7.628	
2729	LEU361	CB	5.159	11.566	8.133	
2730	LEU361	CG	6.612	11.69	8.572	
2731	LEU361	CD1	7.537	11.811	7.365	
2732	LEU361	CD2	6.778	12.888	9.498	30
2733	GLU362	N	4.306	8.658	8.846	
2734	GLU362	CA	4.499	7.431	9.622	
2735	GLU362	C	4.413	6.2	8.73	
2736	GLU362	O	5.31	5.352	8.793	
2737	GLU362	CB	3.418	7.347	10.694	
2738	GLU362	CG	3.519	8.493	11.693	
2739	GLU362	CD	2.341	8.447	12.662	
2740	GLU362	OE1	1.268	8.901	12.284	
2741	GLU362	OE2	2.517	7.891	13.736	
2742	LEU363	N	3.541	6.253	7.736	
2743	LEU363	CA	3.389	5.125	6.814	
2744	LEU363	C	4.61	4.946	5.927	40
2745	LEU363	O	5.174	3.844	5.889	
2746	LEU363	CB	2.184	5.364	5.914	
2747	LEU363	CG	0.977	4.517	6.298	
2748	LEU363	CD1	0.35	4.995	7.601	
2749	LEU363	CD2	-0.056	4.54	5.179	
2750	GLN364	N	5.151	6.047	5.432	
2751	GLN364	CA	6.296	5.955	4.529	
2752	GLN364	C	7.559	5.544	5.276	

【表 5 4】

2753	GLN364	O	8.219	4.588	4.843	
2754	GLN364	CB	6.505	7.308	3.86	
2755	GLN364	CG	7.624	7.232	2.83	
2756	GLN364	CD	7.846	8.592	2.181	
2757	GLN364	OE1	7.741	9.637	2.835	
2758	GLN364	NE2	8.108	8.565	0.886	
2759	ILE365	N	7.707	6.019	6.503	
2760	ILE365	CA	8.879	5.644	7.298	
2761	ILE365	C	8.835	4.171	7.691	
2762	ILE365	O	9.772	3.438	7.339	10
2763	ILE365	CB	8.94	6.511	8.554	
2764	ILE365	CG1	9.202	7.973	8.208	
2765	ILE365	CG2	10.012	5.996	9.506	
2766	ILE365	CD1	10.539	8.151	7.497	
2767	VAL366	N	7.667	3.695	8.099	
2768	VAL366	CA	7.555	2.301	8.53	
2769	VAL366	C	7.703	1.335	7.361	
2770	VAL366	O	8.611	0.497	7.417	
2771	VAL366	CB	6.21	2.076	9.217	
2772	VAL366	CG1	6.011	0.606	9.565	
2773	VAL366	CG2	6.085	2.923	10.477	
2774	PHE367	N	7.094	1.641	6.225	20
2775	PHE367	CA	7.145	0.701	5.097	
2776	PHE367	C	8.524	0.663	4.453	
2777	PHE367	O	9.066	-0.434	4.254	
2778	PHE367	CB	6.125	1.099	4.034	
2779	PHE367	CG	4.662	1.012	4.458	
2780	PHE367	CD1	3.726	1.83	3.841	
2781	PHE367	CD2	4.258	0.112	5.435	
2782	PHE367	CE1	2.391	1.767	4.216	
2783	PHE367	CE2	2.924	0.052	5.813	
2784	PHE367	CZ	1.99	0.88	5.206	
2785	ASP368	N	9.187	1.808	4.423	
2786	ASP368	CA	10.522	1.869	3.83	30
2787	ASP368	C	11.52	1.102	4.686	
2788	ASP368	O	12.115	0.138	4.185	
2789	ASP368	CB	10.964	3.326	3.707	
2790	ASP368	CG	10.101	4.09	2.701	
2791	ASP368	OD1	10.208	5.31	2.678	
2792	ASP368	OD2	9.508	3.443	1.847	
2793	THR369	N	11.438	1.285	5.995	
2794	THR369	CA	12.381	0.606	6.892	
2795	THR369	C	12.07	-0.88	7.076	
2796	THR369	O	13.004	-1.658	7.287	
2797	THR369	CB	12.376	1.294	8.252	40
2798	THR369	OG1	11.058	1.242	8.778	
2799	THR369	CG2	12.797	2.756	8.149	
2800	LEU370	N	10.848	-1.302	6.793	
2801	LEU370	CA	10.523	-2.729	6.862	
2802	LEU370	C	11.145	-3.486	5.703	
2803	LEU370	O	12.038	-4.319	5.916	
2804	LEU370	CB	9.012	-2.919	6.78	
2805	LEU370	CG	8.302	-2.463	8.044	
2806	LEU370	CD1	6.792	-2.589	7.882	

【表 5 5】

2807	LEU370	CD2	8.79	-3.256	9.248	
2808	PHE371	N	10.872	-3.006	4.502	
2809	PHE371	CA	11.266	-3.75	3.303	
2810	PHE371	C	12.728	-3.529	2.918	
2811	PHE371	O	13.332	-4.398	2.278	
2812	PHE371	CB	10.333	-3.34	2.169	
2813	PHE371	CG	8.861	-3.634	2.463	
2814	PHE371	CD1	7.935	-2.599	2.503	
2815	PHE371	CD2	8.447	-4.94	2.692	
2816	PHE371	CE1	6.601	-2.867	2.784	10
2817	PHE371	CE2	7.112	-5.209	2.971	
2818	PHE371	CZ	6.19	-4.172	3.019	
2819	ARG372	N	13.335	-2.472	3.436	
2820	ARG372	CA	14.773	-2.281	3.231	
2821	ARG372	C	15.606	-2.901	4.353	
2822	ARG372	O	16.834	-2.982	4.229	
2823	ARG372	CB	15.084	-0.795	3.116	
2824	ARG372	CG	14.397	-0.176	1.904	
2825	ARG372	CD	14.777	1.291	1.76	
2826	ARG372	NE	14.497	2.015	3.008	
2827	ARG372	CZ	14.919	3.257	3.251	
2828	ARG372	NH1	14.646	3.835	4.423	20
2829	ARG372	NH2	15.631	3.911	2.331	
2830	ARG373	N	14.958	-3.347	5.418	
2831	ARG373	CA	15.671	-4.087	6.457	
2832	ARG373	C	15.659	-5.559	6.09	
2833	ARG373	O	16.694	-6.238	6.097	
2834	ARG373	CB	14.937	-3.926	7.783	
2835	ARG373	CG	15.657	-4.637	8.922	
2836	ARG373	CD	16.912	-3.879	9.335	
2837	ARG373	NE	16.548	-2.554	9.862	
2838	ARG373	CZ	16.405	-2.304	11.165	
2839	ARG373	NH1	16.663	-3.261	12.059	30
2840	ARG373	NH2	16.046	-1.087	11.576	
2841	VAL374	N	14.474	-6.032	5.749	
2842	VAL374	CA	14.314	-7.425	5.338	
2843	VAL374	C	13.644	-7.499	3.971	
2844	VAL374	O	12.43	-7.307	3.841	
2845	VAL374	CB	13.473	-8.164	6.376	
2846	VAL374	CG1	13.297	-9.625	5.984	
2847	VAL374	CG2	14.086	-8.075	7.77	
2848	PRO375	N	14.432	-7.873	2.976	
2849	PRO375	CA	13.929	-8.036	1.606	
2850	PRO375	C	13.088	-9.304	1.369	
2851	PRO375	O	12.539	-9.472	0.275	40
2852	PRO375	CB	15.165	-8.072	0.76	
2853	PRO375	CG	16.384	-8.221	1.658	
2854	PRO375	CD	15.865	-8.159	3.084	
2855	GLY376	N	12.945	-10.158	2.371	
2856	GLY376	CA	12.162	-11.386	2.21	
2857	GLY376	C	11.071	-11.52	3.271	
2858	GLY376	O	11.012	-12.523	3.992	
2859	ILE377	N	10.225	-10.508	3.367	
2860	ILE377	CA	9.092	-10.568	4.299	

【表 5 6】

2861	ILE377	C	7.921	-11.295	3.645
2862	ILE377	O	7.217	-10.731	2.801
2863	ILE377	CB	8.663	-9.148	4.656
2864	ILE377	CG1	9.836	-8.352	5.203
2865	ILE377	CG2	7.529	-9.169	5.674
2866	ILE377	CD1	9.433	-6.919	5.526
2867	ARG378	N	7.743	-12.55	4.009
2868	ARG378	CA	6.648	-13.342	3.451
2869	ARG378	C	5.468	-13.417	4.409
2870	ARG378	O	5.629	-13.304	5.627
2871	ARG378	CB	7.186	-14.734	3.163
2872	ARG378	CG	8.265	-14.671	2.089
2873	ARG378	CD	8.975	-16.01	1.929
2874	ARG378	NE	9.756	-16.33	3.134
2875	ARG378	CZ	9.57	-17.431	3.864
2876	ARG378	NH1	8.587	-18.28	3.556
2877	ARG378	NH2	10.338	-17.659	4.931
2878	ILE379	N	4.277	-13.531	3.854
2879	ILE379	CA	3.096	-13.713	4.703
2880	ILE379	C	3.14	-15.13	5.272
2881	ILE379	O	3.519	-16.07	4.563
2882	ILE379	CB	1.841	-13.536	3.855
2883	ILE379	CG1	2.108	-12.589	2.692
2884	ILE379	CG2	0.702	-12.984	4.709
2885	ILE379	CD1	0.882	-12.447	1.798
2886	ALA380	N	2.872	-15.267	6.56
2887	ALA380	CA	2.895	-16.598	7.174
2888	ALA380	C	1.533	-17.277	7.07
2889	ALA380	O	1.435	-18.51	7.097
2890	ALA380	CB	3.306	-16.471	8.635
2891	VAL381	N	0.498	-16.47	6.917
2892	VAL381	CA	-0.839	-17.005	6.651
2893	VAL381	C	-1.231	-16.745	5.2
2894	VAL381	O	-0.782	-15.768	4.59
2895	VAL381	CB	-1.847	-16.359	7.599
2896	VAL381	CG1	-1.705	-16.897	9.018
2897	VAL381	CG2	-1.747	-14.839	7.57
2898	PRO382	N	-1.999	-17.662	4.635
2899	PRO382	CA	-2.615	-17.424	3.329
2900	PRO382	C	-3.477	-16.166	3.352
2901	PRO382	O	-4.045	-15.802	4.391
2902	PRO382	CB	-3.422	-18.651	3.039
2903	PRO382	CG	-3.29	-19.627	4.198
2904	PRO382	CD	-2.414	-18.938	5.231
2905	VAL383	N	-3.721	-15.621	2.172
2906	VAL383	CA	-4.415	-14.327	2.051
2907	VAL383	C	-5.892	-14.388	2.452
2908	VAL383	O	-6.376	-13.473	3.126
2909	VAL383	CB	-4.302	-13.886	0.593
2910	VAL383	CG1	-5.05	-12.578	0.343
2911	VAL383	CG2	-2.838	-13.751	0.177
2912	ASP384	N	-6.478	-15.572	2.355
2913	ASP384	CA	-7.876	-15.767	2.759
2914	ASP384	C	-8.031	-15.962	4.271

10

20

30

40

【表 5 7】

2915	ASP384	O	-9.156	-16.094	4.761	
2916	ASP384	CB	-8.42	-17.003	2.048	
2917	ASP384	CG	-8.293	-16.849	0.534	
2918	ASP384	OD1	-9.1	-16.128	-0.032	
2919	ASP384	OD2	-7.312	-17.346	-0.002	
2920	GLU385	N	-6.926	-15.995	5	
2921	GLU385	CA	-6.994	-16.177	6.448	
2922	GLU385	C	-6.674	-14.884	7.194	
2923	GLU385	O	-6.638	-14.896	8.429	
2924	GLU385	CB	-6.01	-17.259	6.874	10
2925	GLU385	CG	-6.219	-18.561	6.111	
2926	GLU385	CD	-7.651	-19.079	6.248	
2927	GLU385	OE1	-8.017	-19.462	7.349	
2928	GLU385	OE2	-8.266	-19.256	5.205	
2929	LEU386	N	-6.406	-13.81	6.463	
2930	LEU386	CA	-6.082	-12.519	7.093	
2931	LEU386	C	-7.266	-11.953	7.874	
2932	LEU386	O	-8.342	-11.71	7.315	
2933	LEU386	CB	-5.676	-11.542	5.996	
2934	LEU386	CG	-4.348	-11.943	5.365	
2935	LEU386	CD1	-4.081	-11.153	4.091	
2936	LEU386	CD2	-3.204	-11.773	6.357	20
2937	PRO387	N	-7.063	-11.798	9.173	
2938	PRO387	CA	-8.132	-11.39	10.091	
2939	PRO387	C	-8.419	-9.89	10.047	
2940	PRO387	O	-7.84	-9.095	10.805	
2941	PRO387	CB	-7.647	-11.801	11.445	
2942	PRO387	CG	-6.191	-12.224	11.339	
2943	PRO387	CD	-5.817	-12.105	9.873	
2944	PHE388	N	-9.314	-9.528	9.143	
2945	PHE388	CA	-9.775	-8.145	9.012	
2946	PHE388	C	-10.688	-7.79	10.176	
2947	PHE388	O	-11.522	-8.597	10.603	
2948	PHE388	CB	-10.558	-7.999	7.709	30
2949	PHE388	CG	-9.785	-8.343	6.437	
2950	PHE388	CD1	-8.78	-7.498	5.987	
2951	PHE388	CD2	-10.097	-9.492	5.721	
2952	PHE388	CE1	-8.076	-7.809	4.831	
2953	PHE388	CE2	-9.393	-9.804	4.565	
2954	PHE388	CZ	-8.381	-8.963	4.121	
2955	LYS389	N	-10.5	-6.599	10.707	
2956	LYS389	CA	-11.364	-6.141	11.792	
2957	LYS389	C	-12.626	-5.52	11.203	
2958	LYS389	O	-12.542	-4.581	10.4	
2959	LYS389	CB	-10.611	-5.115	12.633	
2960	LYS389	CG	-11.439	-4.708	13.847	40
2961	LYS389	CD	-10.677	-3.763	14.767	
2962	LYS389	CE	-11.487	-3.466	16.023	
2963	LYS389	NZ	-10.719	-2.637	16.96	
2964	HIS390	N	-13.775	-6.068	11.571	
2965	HIS390	CA	-15.055	-5.523	11.102	
2966	HIS390	C	-15.385	-4.226	11.836	
2967	HIS390	O	-15.845	-4.213	12.983	
2968	HIS390	CB	-16.162	-6.548	11.316	

【表 5 8】

2969	HIS390	CG	-17.525	-6.094	10.826	
2970	HIS390	ND1	-17.895	-5.893	9.545	
2971	HIS390	CD2	-18.62	-5.81	11.607	
2972	HIS390	CE1	-19.181	-5.487	9.511	
2973	HIS390	NE2	-19.629	-5.437	10.786	
2974	ASP391	N	-15.053	-3.138	11.167	
2975	ASP391	CA	-15.269	-1.789	11.683	
2976	ASP391	C	-15.392	-0.871	10.48	
2977	ASP391	O	-14.395	-0.539	9.835	
2978	ASP391	CB	-14.068	-1.414	12.553	10
2979	ASP391	CG	-14.172	-0.02	13.18	
2980	ASP391	OD1	-14.984	0.771	12.707	
2981	ASP391	OD2	-13.241	0.324	13.884	
2982	SER392	N	-16.582	-0.335	10.283	
2983	SER392	CA	-16.835	0.448	9.075	
2984	SER392	C	-16.261	1.863	9.129	
2985	SER392	O	-15.99	2.431	8.07	
2986	SER392	CB	-18.342	0.537	8.868	
2987	SER392	OG	-18.876	1.383	9.878	
2988	THR393	N	-15.944	2.392	10.297	
2989	THR393	CA	-15.451	3.768	10.313	
2990	THR393	C	-13.931	3.822	10.468	20
2991	THR393	O	-13.294	4.722	9.909	
2992	THR393	CB	-16.183	4.53	11.411	
2993	THR393	OG1	-17.557	4.561	11.04	
2994	THR393	CG2	-15.703	5.972	11.528	
2995	ILE394	N	-13.365	2.816	11.118	
2996	ILE394	CA	-11.899	2.665	11.203	
2997	ILE394	C	-11.525	1.204	10.92	
2998	ILE394	O	-11.205	0.419	11.824	
2999	ILE394	CB	-11.37	3.095	12.577	
3000	ILE394	CG1	-11.744	4.533	12.921	
3001	ILE394	CG2	-9.847	2.978	12.624	
3002	ILE394	CD1	-10.977	5.529	12.055	30
3003	TYR395	N	-11.59	0.854	9.649	
3004	TYR395	CA	-11.29	-0.503	9.179	
3005	TYR395	C	-9.792	-0.786	9.302	
3006	TYR395	O	-8.997	0.149	9.447	
3007	TYR395	CB	-11.747	-0.572	7.721	
3008	TYR395	CG	-11.784	-1.967	7.101	
3009	TYR395	CD1	-10.958	-2.272	6.026	
3010	TYR395	CD2	-12.648	-2.927	7.612	
3011	TYR395	CE1	-10.991	-3.543	5.465	
3012	TYR395	CE2	-12.682	-4.199	7.052	
3013	TYR395	CZ	-11.852	-4.502	5.982	
3014	TYR395	OH	-11.882	-5.763	5.427	40
3015	GLY396	N	-9.433	-2.053	9.421	
3016	GLY396	CA	-8.007	-2.401	9.468	
3017	GLY396	C	-7.732	-3.871	9.759	
3018	GLY396	O	-8.601	-4.74	9.609	
3019	LEU397	N	-6.493	-4.132	10.134	
3020	LEU397	CA	-6.031	-5.497	10.406	
3021	LEU397	C	-5.334	-5.577	11.751	
3022	LEU397	O	-4.297	-4.938	11.961	

【表 5 9】

3023	LEU397	CB	-5.051	-5.894	9.311	
3024	LEU397	CG	-5.773	-6.502	8.12	
3025	LEU397	CD1	-5.037	-6.225	6.822	
3026	LEU397	CD2	-5.979	-7.996	8.325	
3027	HIS398	N	-5.87	-6.402	12.634	
3028	HIS398	CA	-5.274	-6.514	13.967	
3029	HIS398	C	-4.348	-7.718	14.107	
3030	HIS398	O	-3.651	-7.848	15.12	
3031	HIS398	CB	-6.363	-6.528	15.033	
3032	HIS398	CG	-6.737	-5.14	15.525	10
3033	HIS398	ND1	-7.052	-4.804	16.79	
3034	HIS398	CD2	-6.795	-3.984	14.781	
3035	HIS398	CE1	-7.311	-3.482	16.851	
3036	HIS398	NE2	-7.152	-2.975	15.607	
3037	ALA399	N	-4.306	-8.567	13.094	
3038	ALA399	CA	-3.343	-9.671	13.12	
3039	ALA399	C	-2.7	-9.903	11.756	
3040	ALA399	O	-3.373	-10.014	10.724	
3041	ALA399	CB	-4.014	-10.936	13.633	
3042	LEU400	N	-1.383	-10.004	11.794	
3043	LEU400	CA	-0.567	-10.204	10.589	
3044	LEU400	C	0.772	-10.856	10.935	20
3045	LEU400	O	1.712	-10.165	11.35	
3046	LEU400	CB	-0.307	-8.845	9.946	
3047	LEU400	CG	0.615	-8.952	8.736	
3048	LEU400	CD1	0.005	-9.826	7.644	
3049	LEU400	CD2	0.973	-7.572	8.197	
3050	PRO401	N	0.815	-12.178	10.881	
3051	PRO401	CA	2.084	-12.9	10.974	
3052	PRO401	C	2.88	-12.822	9.671	
3053	PRO401	O	2.413	-13.242	8.602	
3054	PRO401	CB	1.686	-14.312	11.269	
3055	PRO401	CG	0.197	-14.466	10.993	
3056	PRO401	CD	-0.308	-13.08	10.625	30
3057	VAL402	N	4.074	-12.267	9.78	
3058	VAL402	CA	5.008	-12.183	8.653	
3059	VAL402	C	6.358	-12.814	8.998	
3060	VAL402	O	7.008	-12.485	9.998	
3061	VAL402	CB	5.194	-10.723	8.25	
3062	VAL402	CG1	3.968	-10.185	7.523	
3063	VAL402	CG2	5.553	-9.84	9.44	
3064	THR403	N	6.772	-13.729	8.146	
3065	THR403	CA	8.039	-14.428	8.342	
3066	THR403	C	9.135	-13.709	7.571	
3067	THR403	O	9.102	-13.66	6.335	
3068	THR403	CB	7.888	-15.853	7.827	40
3069	THR403	OG1	6.715	-16.403	8.406	
3070	THR403	CG2	9.077	-16.723	8.22	
3071	TRP404	N	10.089	-13.156	8.298	
3072	TRP404	CA	11.177	-12.406	7.66	
3073	TRP404	C	12.136	-13.344	6.931	
3074	TRP404	O	12.984	-12.835	6.21	
3075	TRP404	CB	11.969	-11.654	8.719	
3076	TRP404	CG	11.163	-10.949	9.79	

【表 6 0】

3077	TRP404	CD1	10.886	-11.444	11.043	
3078	TRP404	CD2	10.559	-9.637	9.729	
3079	TRP404	NE1	10.155	-10.524	11.721	
3080	TRP404	CE2	9.943	-9.428	10.972	
3081	TRP404	CE3	10.506	-8.656	8.749	
3082	TRP404	CZ2	9.278	-8.237	11.225	
3083	TRP404	CZ3	9.838	-7.468	9.009	
3084	TRP404	CH2	9.226	-7.257	10.239	
3085	TRP404	OXT	12.117	-14.53	7.239	
3086	HEM1	FE	-8.08	12.05	10.226	10
3087	HEM1	NA	-9.653	12.085	9.078	
3088	HEM1	C1A	-10.7	13.004	9.077	
3089	HEM1	C2A	-11.687	12.681	8.118	
3090	HEM1	C3A	-11.292	11.525	7.568	
3091	HEM1	C4A	-10.019	11.174	8.129	
3092	HEM1	CHB	-9.224	10.115	7.699	
3093	HEM1	C1B	-7.931	9.83	8.181	
3094	HEM1	NB	-7.308	10.582	9.182	
3095	HEM1	C4B	-6.086	9.964	9.364	
3096	HEM1	C3B	-5.946	8.85	8.506	
3097	HEM1	C2B	-7.068	8.771	7.746	
3098	HEM1	CMB	-7.416	7.755	6.682	20
3099	HEM1	CAB	-4.833	8.031	8.591	
3100	HEM1	CBB	-4.44	7.051	7.74	
3101	HEM1	CHC	-5.212	10.298	10.374	
3102	HEM1	C1C	-5.439	11.223	11.336	
3103	HEM1	NC	-6.519	12.039	11.384	
3104	HEM1	C4C	-6.227	12.887	12.426	
3105	HEM1	C3C	-4.926	12.636	13.002	
3106	HEM1	C2C	-4.491	11.556	12.313	
3107	HEM1	CMC	-3.265	10.712	12.532	
3108	HEM1	CAC	-4.462	13.435	14.055	
3109	HEM1	CBC	-3.452	13.231	14.936	
3110	HEM1	CHD	-7.061	13.855	12.91	30
3111	HEM1	C1D	-8.237	14.203	12.292	
3112	HEM1	ND	-8.777	13.572	11.18	
3113	HEM1	C4D	-9.915	14.313	10.916	
3114	HEM1	C3D	-10.045	15.413	11.808	
3115	HEM1	C2D	-9.006	15.334	12.673	
3116	HEM1	CMD	-8.71	16.241	13.844	
3117	HEM1	CAD	-11.178	16.421	11.802	
3118	HEM1	CBD	-10.91	17.624	10.918	
3119	HEM1	CGD	-12.079	18.574	10.862	
3120	HEM1	O1D	-13.198	18.167	11.204	
3121	HEM1	O2D	-11.889	19.736	10.477	40
3122	HEM1	CHA	-10.849	14.026	9.961	
3123	HEM1	CMA	-12.005	10.703	6.498	
3124	HEM1	CAA	-12.907	13.51	7.748	
3125	HEM1	CBA	-14.087	13.112	8.645	
3126	HEM1	CGA	-15.442	13.596	8.14	
3127	HEM1	O1A	-15.522	14.131	7.009	
3128	HEM1	O2A	-16.439	13.4	8.866	

【図面の簡単な説明】

【0215】

【図1】図1は、アミコラトプシス・オリエンタリス株SC15847（PTA1043 50

）による、エポチロンBのエポチロンFへのWO00/39276（1999年12月21日に出願した米国特許出願第09/468,854号）に示されたバイオトランスフォーメーションの模式図を示す。

【0216】

【図2】図2は、エポチロンBヒドロキシラーゼをコードする核酸配列のクローニング用PCRプライマーをデザインするのに用いた、配列番号5～22の核酸配列アラインメントを示す。

【0217】

【図3】図3は、エポチロンBヒドロキシラーゼ（配列番号2）とEryF（PDBコード1JIN鎖A；配列番号76）との配列アラインメントを示す。星印は同一の配列を、
コロン（:）は類似の残基を示す。

10

【0218】

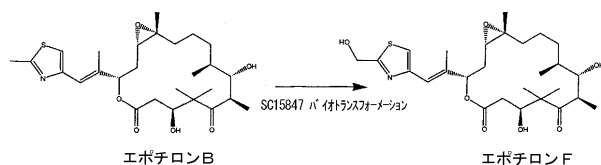
【図4】図4は、図3に示すEryFとの配列アラインメントに基づくエポチロンBヒドロキシラーゼのホモロジーモデルを示す。

【0219】

【図5】図5は、EryF（PDBコード1JIN鎖A；実線で示す）と比較したエポチロンBヒドロキシラーゼモデル（破線で示す）のエネルギープロットを示す。51残基の平均ウィンドウサイズ（すなわち、ある残基位置でのエネルギーは該残基を中央位置とした配列にある51残基のエネルギーの平均として計算）を用いた。

【図1】

Figure 1. エポチロンBのエポチロンFへのバイオトランスフォーメーション



【図2】

Figure 2. PCRプライマーをデザインするのに使用した核酸配列アラインメント:

プライマー P450-1*および P450-1a*をデザインするのに使用したアラインメント

STMSUACB NO:5)	tctcatcgccggccacgagac (SEQ ID
STMSUBCB NO:6)	tgctggctcgccggccacgagac (SEQ ID
3702259 NO:7)	tgctcatcaccggccacgagac (SEQ ID
SSU65940 NO:8)	--ctgttcgcccggccacgagac (SEQ ID
STMOLFP NO:9)	tgctcatcgccggccacgagac (SEQ ID
SERCP450A NO:10)	tgctggctcgccggccacgagac (SEQ ID

プライマー P450-2*および P450-2'をデザインするのに使用したアラインメント

STMSUACB NO:11)	cgccgctggaggaaactgct (SEQ ID
STMSUBCB NO:12)	ggcgccgctcgaggagctgct (SEQ ID
3702259 NO:13)	ccgcaccctggaggagctgct (SEQ ID
SSU65940 NO:14)	cgccgctggaggagatgct (SEQ ID
STMOLFP NO:15)	cgccgctggaggagatgct (SEQ ID
SERCP450A NO:16)	cgccgctcgaggagaccct (SEQ ID

プライマー P450-3'をデザインするのに使用したアラインメント

STMSUACB NO:17)	ttcggttcggcgctgaccagtgcctgggc (SEQ ID
STMSUBCB NO:18)	ttcggttcggcgctgaccagtgcctggga (SEQ ID
3702259 NO:19)	ttcggtggggccccaccagtgcctgggc (SEQ ID
SSU65940 NO:20)	ttcggtcacggcgctccacaagtgcctgggc (SEQ ID
STMOLFP NO:21)	ttcggtcacggcgctccaccagtgcctgggc (SEQ ID
SERCP450A NO:22)	ttcggtcacggcgctccaccagtgcctgggc (SEQ ID

【手続補正書】

【提出日】平成16年8月27日(2004.8.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2005514031000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/40359										
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C07H 21/02, 21/04; C12N 9/04; C07K 1/00, 14/00, 17/00 US CL : 536/23.1, 23.2; 435/190; 530/350 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC												
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 536/23.1, 23.2; 435/190; 530/350 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS search terms: epothilone, hydroxylase, crystallography review												
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT												
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.										
X	BETLACH et al. Characterization of the Macrolide P-450 Hydroxylase from <i>Streptomyces venezuelae</i> Which Converts Narbomycin to Picromycin. <i>Biochemistry</i> . 1998, Vol. 37, pages 14937-14942, see picK and EryK.	1, 4-6, 8, 11-13										
X	TANG et al. Cloning and Heterologous Expression of the Epothilone Gene Cluster. <i>Science</i> . January 2000. Vol. 287, pages 640-642, see epoK.	1, 4-6, 8, 11-13										
X,T	US 2003/0219877 A1 (TANG et al) 27 November 2003.	1, 4-6, 8, 11-13										
Y	HALPERT et al. Structure-Function of Cytochromes P450 and Flavin-containing Monooxygenases. <i>Drug Metabolism and Disposition</i> . 1998, Vol. 26. No. 12, pages 1223-1231.	31-40										
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.												
* Special categories of cited documents: <table border="0"> <tr> <td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date</td> <td>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>"&" document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention											
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone											
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art											
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family											
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed												
Date of the actual completion of the international search 09 January 2004 (09.01.2004)		Date of mailing of the international search report 27 MAY 2004										
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer Kathleen M Kerr <i>Kathleen M Kerr for</i> Telephone No. (703) 308-0196										

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/40359

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, claim(s) 1, 4-6, 8, 10-14 and 31-40, drawn to nucleic acid sequences encoding epothilone B hydroxylase and mutant/variants thereof, polypeptides thereof (related to SEQ ID NO:2), and methods of making mutant polypeptides thereof.

Group II, claim(s) 16 and 20-24, drawn to nucleic acid sequences encoding ferredoxin, vectors, host cells, and methods thereof.

Group III, claim(s) 18, drawn to ferredoxin polypeptides.

Group IV, claim(s) 25 and 27, drawn to microorganisms that hydroxylate epothilones having a terminal alkyl group to produce epothilones having a terminal hydroxyalkyl group and methods of making formula I using said microorganisms or enzymes derived therefrom.

Group V, claim(s) 28, drawn to a method of producing formula A using SEQ ID NO:31 (a variant of SEQ ID NO:2).

Group VI, claim(s) 29, drawn to formula A.

The inventions listed as Groups I-VI do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons. Group I is drawn to a special technical feature of an epothilone B hydroxylase. Included in this Group are the polynucleotides, polypeptides and related methods. The special technical feature is specific to the structure and function of epothilone B hydroxylase as disclosed in the application.

The products of Group II do not share the special technical feature of Group I because the claims lack a common structure and function with the polynucleotides of Group I. Moreover, Group II lacks a special technical feature in and of itself due to the plethora of known ferredoxin-encoding polynucleotides in the art (e.g., Ta *et al.* Cloning, sequencing, and overexpression of a [2Fe-2S] ferredoxin gene from *Escherichia coli*. J. Biol. Chem. (1992) 267(16): 11120-5). Without a special technical feature having common structural and functional characteristics to be shared, the products of Group II cannot be grouped with other products. For these same reasons, Group III also lacks a special technical feature and cannot be grouped with other products. The products of Group IV also do not share the special technical feature of Group I having no defined structure and a different named function.

The methods of Group V are drawn to a second method of using the polypeptides of Group I that have a special technical feature. Grouped in Group I are the products sharing the special technical feature AND a first method of making or using the products.

The product of Group VI do not share the special technical feature of Group I because the claims lack a common structure and function with the polynucleotides of Group I. Moreover, the product of Group VI is an epothilone, a small organic molecule, while the products of Group I are biological molecules of polynucleotides and encoded polypeptides.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/40359

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claim Nos.: 30 and 41
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 30 and 41 are non-statutory subject matter because they are considered data only.
2. ☒ Claim Nos.: 2,3,7,9,15,17 and 26
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 2, 3, 7, 9, 15, 17, and 26 refer to SEQ ID NOs that contain no data as amended on March 3, 2003.
3. ☐ Claim Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
 4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1, 4-6, 8, 10-14, and 31-40
- Remark on Protest** ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 9/02	C 1 2 P 17/18	Z 4 C 0 8 6
C 1 2 N 15/01	C 1 2 N 5/00	A
C 1 2 P 17/18	C 1 2 N 15/00	X
// A 6 1 K 31/365	A 6 1 K 31/365	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04	
C 0 7 D 493/04	C 0 7 D 493/04	1 1 1

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

- (72)発明者 ジョナサン・デイビッド・バッシュ
アメリカ合衆国 1 3 2 1 4 ニューヨーク州デウィット、ウェリントン・ロード 2 1 6 番
- (72)発明者 シュージェン・チアン
アメリカ合衆国 1 4 1 0 4 ニューヨーク州マンリアス、エッジワース・ドライブ 4 8 8 4 番
- (72)発明者 スオーウィン・リュー
アメリカ合衆国 1 3 1 0 4 ニューヨーク州マンリアス、ファイアソーン・サークル 4 9 9 7 番
- (72)発明者 アクバー・ネイイーム
アメリカ合衆国 1 8 9 4 0 ペンシルベニア州ニュータウン、クインス・サークル 4 2 番
- (72)発明者 スン・ユファ
アメリカ合衆国 1 3 0 5 7 ニューヨーク州イースト・シラキュース、アパートメント・ナンバー 2
、ディアフィールド・ロード 2 1 9 番
- (72)発明者 ヨウ・リ
アメリカ合衆国 1 3 0 7 8 ニューヨーク州ジェイムズビル、ウエスターリー・テラス 6 3 1 6 番

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA08 BA80 CA04 DA06 DA08 EA04 GA11 GA25 HA03
HA14
4B050 CC01 CC03 CC04 DD02 LL01 LL05
4B064 AE54 BH03 BH07 CA02 CA03 CA04 CA19 CA21 CB12 CC24
CE03 CE08 CE16 DA05 DA16
4B065 AA01Y AA26X AA50X AB01 AC14 BA02 BA16 BB13 BD14 CA18
CA28 CA44
4C071 AA01 BB01 CC12 DD35 EE02 FF18 GG03 HH05 HH08 JJ04
KK30 LL01
4C086 AA04 CA03 ZB35