



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201940517 A

(43)公開日：中華民國 108 (2019) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：108126743

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 11 月 30 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2010/11/30 日本

2010-266760

2011/05/31 日本

2011-121771

2011/10/31 日本

2011-238818

(71)申請人：日商中外製藥股份有限公司 (日本) CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)

日本

(72)發明人：根津淳一 NEZU, JUNICHI (JP)；石黑敬弘 ISHIGURO, TAKAHIRO (JP)；成田敦 NARITA, ATSUSHI (JP)；坂本昭久 SAKAMOTO, AKIHISA (JP)；川合由美子 KAWAI, YUMIKO (JP)；井川智之 IGAWA, TOMOYUKI (JP)；倉持太一 KURAMOCHI, TAICHI (JP)

(74)代理人：洪澄文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：65 項 圖式數：26 共 359 頁

(54)名稱

細胞傷害誘導治療劑

(57)摘要

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

【發明說明書】

【中文發明名稱】 細胞傷害誘導治療劑

【技術領域】

【0001】 本發明係關於使T細胞接近標的癌細胞，藉由T細胞對於標的癌細胞之細胞傷害活性而可治療癌症之多胜肽聯合體、該多胜肽聯合體之製造方法、及含有該多胜肽聯合體當做有效成分之細胞傷害誘導治療劑。又，關於含有該該細胞傷害誘導治療劑當做有效成分之用於治療或預防各種癌症的醫藥組成物或使用該醫藥組成物之治療方法。

【先前技術】

【0002】 迄今為止顯示優異抗腫瘤效果的多數治療用抗體，係以治療癌症為目的而以醫藥品的形式開發(非專利文獻1)。該等治療用抗體已知係藉由抑制對於癌細胞增殖所必要之信號、誘發細胞死亡信號、或利用ADCC(Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity；抗體依存性細胞傷害)、CDC(Complement Dependent Cytotoxicity；補體依存性細胞傷害)，而發揮對於癌細胞之抗腫瘤效果(非專利文獻2)。藉由使抗體之Fc區域結合於存在於NK細胞或巨噬體等效應子細胞上的Fc受體，使得該等效應子細胞對於抗體所結合之標的癌細胞發揮之細胞傷害，為ADCC。補體複合體會結合於抗體之構造中所存在之補體結合部位。藉由在抗體所結合之細胞之細胞膜上，存在於該複合體中之補體成分會形成孔，促進水或離子流入細胞內並引起細胞受破壞的細胞傷害，為CDC。既有的治療用抗體雖認為具有優異的作用，但是藉由如此的抗體的投予獲得之治療成績尚未令人滿意。而，希望能開發發揮更為強力的殺細胞活性的對抗癌症的治療抗體。

【0003】 與上述動員NK細胞或巨噬體當做效應子細胞之ADCC其成為抗腫瘤效果的機制的抗體分別地，動員T細胞當做效應子細胞之細胞傷害其成為抗腫瘤效果之機制的抗體T細胞增援抗體(T cell recruiting antibody、TR抗體)，亦從1980年代便已知(非專利文獻3－5)。TR抗體係對抗T細胞上之T細胞受體(TCR)複合體之構成次單元任一者的抗體，尤其是包含結合於CD3 epsilon鏈之抗體、及結合於標的癌細胞上之抗原的抗體的雙專一性 (bi-specific)抗體。TR抗體藉由同時結合於CD3 epsilon鏈與癌抗原，使得T細胞接近癌細胞。其結果，據認為會由於T細胞具有的細胞傷害作用而發揮對於癌細胞的抗腫瘤效果。

【0004】 也已知有為TR抗體之一的稱為三功能(trifunctional)抗體的抗體(非專利文獻6、7)。其係於各臂分別包含結合於癌抗原之Fab與結合於CD3 epsilon鏈之Fab的完整IgG型之雙專一性抗體。藉由將對抗EpCAM之三功能(trifunctional)抗體catumaxomab對於帶有EpCAM陽性之癌細胞的惡性腹水患者的腹腔內投予，顯示對於惡性腹水症有治療效果。EU已認可以上述治療為目的之catumaxomab之用途。

【0005】 再者，最近逐漸了解到稱為BiTE(bispecific T-cell engager)之TR抗體顯示強力抗腫瘤作用(非專利文獻8、9)。BiTE係具有將對抗癌抗原之抗體之scFv與對抗CD3 epsilon鏈之抗體之scFv經由短的多胜肽連結子連結之分子型式的TR抗體。BiTE據報告比起至今為止已知的各種TR抗體，具有更優異的抗腫瘤作用(非專利文獻9、10)。亦即，BiTE比起其他TR抗體，能在顯著低濃度、及低效應子細胞：癌細胞比率(ET比)之下發揮抗腫瘤效果。又，亦顯示為了表現其效果，不需預先將效應子細胞以IL-2或CD28促效劑抗體等使活化。對抗CD19之BiTEblinatumomab(MT103)，遠比在臨床上已知具有優異效果的Rituxan，於體外顯示強力的對於癌細胞之傷害作用。再者，有人報告在最近實施的第一期臨床試驗、第二期臨床試驗顯示極優異之抗腫瘤效果(非專利文獻11)。

【0006】 Catumaxomab於臨床顯示藥效並認可為當做治療藥，且包含blinatumomab在內的多數BiTE發揮強力抗腫瘤效果，因此啟示動員T細胞當做效應子細胞之TR抗體中，比起通常之ADCC當做其作用機制的抗體具有極高的當做抗腫瘤藥的潛力。

【0007】 但是當三功能(trifunctional)抗體以癌抗原非依存地同時結合於T細胞與NK細胞或巨噬體等細胞時，已知會由於表現於該等細胞之受體交聯，而誘導癌抗原非依存性的各種細胞激素表現。如此的細胞激素表現的誘導，據認為與由於三功能(trifunctional)抗體之全身投予所致細胞激素風暴狀的副作用發生相關。實際上，於對於非小細胞肺癌患者進行catumaxomab全身投予的第一期臨床試驗中，5 μ g/body之極低用量係最大容許投予量，據報告使用比其更多的用量投予會引起各種嚴重的副作用(非專利文獻12)。利用如此低用量catumaxomab之投予，畢竟達不到其有效血中濃度。亦即，如此低用量的catumaxomab的投予無法獲得期待的抗腫瘤作用。

【0008】 另一方面，由於BiTE與catumaxomab不同，不具有對抗Fc γ 受體之結合部位，所以，不會發生癌抗原非依存地表現於T細胞與NK細胞或巨噬體等之受體交聯的情形。是以，顯示當投予catumaxomab時觀察到的癌抗原非依存性的細胞激素的誘導並不會發生。但是BiTE係欠缺Fc區域之低分子量型之改變抗體分子，故比起通常使用於當做治療用抗體的IgG型抗體，會存在對於患者投予之BiTE的血中半衰期顯著短的問題。實際上，對於活體投予之BiTE之血中半衰期據顯示為數小時左右(非專利文獻13、14)，於blinatumomab之臨床試驗係使用迷你泵浦持續進行靜脈內投予，而投予blinatumomab。如此的投予對於患者不僅是便利性顯著不佳的投予法，而且也存在由於機器故障等造成的醫療事故的風險，不能稱得上是理想的治療方法。

[先前技術文獻]

[非專利文獻]

【0009】 [非專利文獻1]Clin Cancer Res. (2010) 16 (1), 11-20

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

[非專利文獻3]Nature (1985) 314 (6012), 628-31

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

[非專利文獻5]Proc Natl Acad Sci USA (1986) 83 (5), 1453-7

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

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

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

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

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

[非專利文獻11]Science (2008), 321 (5891), 974-7

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

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

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

【發明內容】

[發明欲解決之課題]

【0010】 本發明係有鑑於上述情況而產生，目的在於提供使T細胞接近標的癌細胞，藉由T細胞對於標的癌細胞之細胞傷害活性而可治療癌症之多胜肽聯合體、該多胜肽聯合體之製造方法、及包含該多胜肽聯合體當做有效成分之細胞傷害誘導治療劑。又，目的在於提供包含該細胞傷害誘導治療劑當做有效成分之用於治療或預防各種癌症的醫藥組成物或使用該醫藥組成物之治療方法。

[解決課題之方式]

【0011】 本案發明人等發現維持BiTE具有的強力抗腫瘤活性、及不會癌抗原非依存地誘導細胞激素風暴等之安全性上的優異性質，而且具有長血中半衰期的新的多胜肽聯合體。再者發現：藉由將多胜肽聯合體中的抗原結合域取代，該多胜肽聯合體會以各種細胞當做標的而進行細胞傷害。本案發明人等基於該發現，解明本發明之多胜肽聯合體會傷害癌細胞。又，也發現藉由對於多胜肽聯合體導入CH1/CL界面組合控制及導入凸起配置於空隙中(Knob into Hole)(KiH)改變，能更加以良好效率進行細胞傷害。又，本案發明人等發現包含本發明之多胜肽聯合體當做有效成分之細胞傷害誘導治療劑，可治療或預防各種癌症。

【0012】 亦即，本發明提供以下。

[1] 一種多胜肽聯合體，其係包含下列域(domain)；

(1)抗原結合域、

(2)包含對於Fc γ 受體之結合活性低落的Fc區域的域、及

(3)T細胞受體複合體結合域。

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

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

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

[5] 如[4]之多胜肽聯合體，其中，二價之抗原結合域為具有F(ab')₂之構造的域。

[6] 如[5]之多胜肽聯合體，其中，具有F(ab')₂之構造的域之構成重鏈恆定區之二個多胜肽係分別連結於構成Fc區域之二個多胜肽。

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

個CH3。

[8] 如[7]之多胜肽聯合體，其中，構成CD3結合域之重鏈Fv片段連結於構成Fc區域的其中之一的CH3，構成CD3結合域之輕鏈Fv片段連結於構成Fc區域之其中另一CH3。

[9] 如[8]之多胜肽聯合體，其中，構成CD3結合域之重鏈Fv片段，有抗體之CH1域連結，且輕鏈Fv片段有抗體之CL域連結。

[10] 如[6]之多胜肽聯合體，其中，CD3結合域連結於構成F(ab')₂之一個或二個CL。

[11] 如[6]之多胜肽聯合體，其中，CD3結合域連結於構成F(ab')₂之一個或二個VH。

[12] 如[6]之多胜肽聯合體，其中，CD3結合域連結於構成F(ab')₂之一個或二個VL。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[23] 如[22]之多胜肽聯合體，其中，構成抗原結合域之一價之Fab之重鏈Fv片段以中間為CH1區域而連結於構成Fc區域之其中之一的多胜肽，該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結，且構成T細胞受體結合域之Fab之重鏈Fv片段以中間為CH1區域而連結於構成Fc區域之另一個多胜肽，該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結。

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

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

[26] 如[22]之多胜肽聯合體，其中，構成T細胞受體結合域之一價之Fab之重

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

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

[28] 如[22]之多胜肽聯合體，

其包含：

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

及

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

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

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

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

區域之胺基酸殘基彼此具有同種電荷。

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

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

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

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

[35] 如[34]之多胜肽聯合體，其中，T細胞受體結合域為CD3結合域。

[36] 如[32]或[33]之多胜肽聯合體，其中，CH1區域之胺基酸殘基及CL區域之胺基酸殘基係從由以下(a)~(f)表示之1組或2組以上之胺基酸殘基的群組構成的群組選出，且CH1區域之胺基酸殘基與CL區域之胺基酸殘基彼此具有異種電荷；

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

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

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

之胺基酸殘基且為EU編號164位之胺基酸殘基

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

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

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

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

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

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

(X)麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)；

(Y)離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

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

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

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

Lys。

[42] 如[1]至[41]中任一項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域係對於FcγI、FcγIIA、FcγIIB、FcγIIIA及/或FcγIIIB任一Fcγ受體之結合活性降低的Fc區域。

[43] 如[1]至[42]中任一項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域係構成序列編號：23記載之Fc區域、序列編號：24記載之Fc區域、序列編號：25記載之Fc區域、或序列編號：26記載之Fc區域之胺基酸經過突變之Fc區域。

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

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

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

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

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

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

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

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

234位、235位、297位。

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

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

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

[52] 如[1]至[50]中任一項之多胜肽聯合體，其中，構成Fc區域之二個多胜肽其中之一的多胜肽之胺基酸殘基當中，依照EU編號指定之356位之胺基酸突變為離胺酸，另一多胜肽之胺基酸殘基當中，依照EU編號指定之439位之胺基酸突變為麩胺酸，且任一者的多胜肽的胺基酸殘基當中，依照EU編號指定之435位之胺基酸突變為精胺酸。

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

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

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

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

[57] 如[1]至[53]中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域結合於彼此為

不同的抗原決定基。

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

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

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

[61] 一種載體，其係包含如[60]之聚核苷酸。

[62] 一種細胞，其係保持如[61]之載體。

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

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

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

[66] 如[65]之細胞傷害誘導治療劑，其中，該癌症為肝癌或肺癌。

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

[68] 如[67]之癌症之治療或預防方法，其中該癌症為肝癌或肺癌。

【0013】 又，本發明係關於包含本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法所製造之多胜肽聯合體之本發明之方法使用的套組。又，本發明係關於使用本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法所製造之多胜肽聯合體以製造細胞傷害誘導治療劑的用途。又，本發明係關於使用在本發明之方法的本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法所製造之多胜肽聯合體。

[發明之效果]

【0014】 依照本發明，可以提供一種新的多胜肽聯合體，其維持BiTE所帶有的強抗腫瘤活性、不會以癌抗原非依存的誘導細胞激素風暴等的安全性上的優異性質，且血中半衰期長。藉由將本發明之多胜肽聯合體中的抗原結合域進行取代，並含有該多胜肽聯合體當做有效成分的細胞傷害誘導治療劑會以包含癌細胞在內的各種細胞為標靶而帶來細胞傷害，能夠治療或預防各種癌症。對於患者而言可成為不僅有安全性而且身體負擔小、便利性亦高的理想治療。

【圖式簡單說明】

【0015】

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

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

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

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

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

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

之腫瘤體積之變化。

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

圖8顯示PC-10 T細胞移入模型中之GPC3 ERY10-1之體內抗腫瘤效果。白色四角(□)代表GPC3 ERY10-1投予群之腫瘤體積之變化。黑色菱形(◆)代表對照群(PBS投予)之腫瘤體積之變化。

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

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

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

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

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

圖14顯示比較GPC3 ERY19-3與GPC3 BiTE之體外細胞傷害活性之圖。白色四角(□)代表GPC3 ERY19-3、黑色四角(■)代表GPC3 BiTE之細胞傷害活性。

圖15顯示

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

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

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

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

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

圖18顯示IgG1、IgG2、IgG3及IgG4之構成Fc區域之胺基酸殘基、與kabat之EU編號(本說明書也稱為EU INDEX)之間的關係。

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

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

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

ERY17-2、白色圓圈(○)代表GPC3 ERY17-3、白色四角(□)代表GPC3 ERY10-1之細胞傷害活性。

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

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

圖23顯示比較EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3之細胞傷害活性之圖。黑色三角(▲)代表EpCAM ERY17-2、白色四角(□)代表EpCAM ERY17-3之細胞傷害活性。

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

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

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

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

【實施方式】**[實施發明之形態]**

【0016】 以下定義係為容易理解本說明書中說明的本發明而提供。

【0017】 抗體

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

【0018】 製作具有所望結合活性之抗體之方法於該技術領域之人士為公知。以下列舉製作屬於GPI固定子(anchor)型受體家族之GPC3(Int J Cancer. (2003) 103 (4), 455-65) 結合之抗體(抗GPC3抗體)之方法。與GPC3以外之抗原結合的抗體也可依據下列例示適當製作。

【0019】 抗GPC3抗體可使用公知方法以多株或單株抗體之形式取得。抗GPC3抗體，宜製作哺乳動物來源的單株抗體。哺乳動物來源的單株抗體，包含由融合瘤產生者，及以基因工程的方法以含抗體基因之表現載體轉形而得之寄主細胞所產生者等。

【0020】 單株抗體產生融合瘤，可使用公知技術依例如以下方式製作。亦即，使用GPC3蛋白質當做感作抗原，依通常之免疫方法將哺乳動物免疫。將獲得之免疫細胞以通常的細胞融合法與公知之母細胞融合。其次依照通常之篩選法，篩選單株抗體產生細胞，可選擇產生抗GPC3抗體之融合瘤。

【0021】 具體而言，單株抗體之製作係依例如以下所示方式實行。首先，

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

【0022】 對於哺乳動物免疫時使用之感作抗原，可使用該精製GPC3蛋白質。GPC3之部分胜肽也可當做感作抗原使用。於此時，該部分胜肽可利用人類GPC3之胺基酸序列以化學合成取得。又，也可將GPC3基因之一部分納入表現載體使表現而取得。再者，使用蛋白質分解酵素將GPC3蛋白質分解也可取得，但是當做部分胜肽使用之GPC3胜肽之區域及大小不限於特別之態樣。較佳區域可從序列編號：2之胺基酸序列當中相當於564-580胺基酸之胺基酸序列選擇任意序列。構成當做感作抗原之胜肽的胺基酸的數目至少為5以上，例如6以上或7以上較佳。更具體而言，可將8～50、較佳為10～30個殘基之胜肽當做感作抗原使用。

【0023】 又，將GPC3蛋白質之所望之部分多胜肽或胜肽與不同的多胜肽融合成的融合蛋白質可利用為感作抗原。為了製造當做感作抗原使用之融合蛋白質，例如可適當利用抗體之Fc片段或胜肽標籤(tag)等。表現融合蛋白質之載體，可藉由將編碼為所望之二種或更多種多胜肽片段之基因於框架內(inframe)融合，並將該融合基因以前述方式插入表現載體而製作。融合蛋白質之製作方法記載於Molecular Cloning 2nd ed. (Sambrook,J et al., Molecular Cloning 2nd ed., 9.47-9.58 (1989) Cold Spring Harbor Lab. press)。可當做感作抗原使用之GPC3之

取得方法及使用其之免疫方法，在 WO2003/000883、WO2004/022754、WO2006/006693等亦有具體記載。

【0024】 以該感作抗原免疫之哺乳動物不限於特定動物，宜考慮與細胞融合使用之母細胞之間的適合性選擇。一般的嚙齒類動物，例如小鼠、大鼠、倉鼠、或兔、猴等較佳。

【0025】 依公知方法將上述動物以感作抗原免疫。例如就一般方法而言，係藉由將感作抗原對於哺乳動物之腹腔內或皮下注射而投予以實施免疫。具體而言，將以PBS(Phosphate- Buffered Saline)或生理食鹽水等以適當稀釋倍率稀釋過的感作抗原，視所望與通常的佐劑例如佛洛依德完全佐劑混合並乳化後，將該感作抗原對於哺乳動物每4至21日投予數次。又，感作抗原免疫時可以使用適當擔體。尤其使用小分子量之部分胜肽當做感作抗原時，有時以結合有白蛋白、血藍蛋白(keyhole limpet hemocyanin)等擔體蛋白質的該感作抗原胜肽進行免疫為理想。

【0026】 又，產生所望抗體之融合瘤可使用DNA免疫並依以下方式製作。DNA免疫，係指在免疫動物中投予以能表現編碼為抗原蛋白質之基因的態樣構建之載體DNA的該免疫動物中，藉由感作抗原在該免疫動物之活體內表現，能提供免疫刺激之免疫方法。比起對於免疫動物投予蛋白質抗原之一般免疫方法，DNA免疫可期待如下的優越性。

- 可維持如GPC3之膜蛋白質之構造而提供免疫刺激
- 無需精製免疫抗原

【0027】 為了以DNA免疫獲得本發明之單株抗體，首先將表現GPC3蛋白質之DNA對於免疫動物投予。編碼為GPC3之DNA可利用PCR等公知方法合成。將獲得之DNA插入適當表現載體並對於免疫動物投予。表現載體例如可以理想地利用pcDNA3.1等市售表現載體。將載體對於活體投予之方法，可使用一般使

用之方法。例如，可藉由將吸附有表現載體之金粒子以基因槍導入免疫動物個體之細胞內而實施DNA免疫。再者，認識GPC3之抗體之製作也可使用國際公開WO2003/104453記載之方法製作。

【0028】 以此方式將哺乳動物免疫，確認血清中與GPC3結合之抗體力價上升後，從哺乳動物採取免疫細胞以供細胞融合。較佳之免疫細胞尤佳為使用脾細胞。

【0029】 與前述免疫細胞融合之細胞，可使用哺乳動物之骨髓瘤細胞。骨髓瘤細胞宜具有為了篩選的適當選擇標記。選擇標記，係指能於特定培養條件下生存之(或無法生存)之形質。選擇標記中，次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase)缺損(以下簡稱為HGPRT缺損)、或胸腺嘧啶激酶缺損(以下簡稱為TK缺損)等為公知。具HGPRT或TK缺損之細胞，具有次黃嘌呤-胺基喋呤-胸腺嘧啶感受性(以下簡稱為HAT感受性)。HAT感受性之細胞在HAT選擇培養基中無法合成DNA會死滅，但若與正常細胞融合則會利用正常細胞之補救合成路徑(salvage pathway)繼續合成DNA，故能在HAT選擇培養基中增殖。

【0030】 HGPRT 缺損 或 TK 缺損 之 細胞，各可以含 6 硫鳥嘌呤(thioguanine)、8 氮雜鳥嘌呤(以下簡稱為 8AG)、或 5' 溴去氧尿嘧啶之培養基選擇。於DNA中納入該等嘧啶類似物之正常細胞會死滅。另一方面，未納入該等嘧啶類似物之該等酵素缺損之細胞，能在選擇培養基中生存。其他稱為G418耐受性之選擇標記，係利用新黴素耐受性基因提供對於2-去氧鏈黴胺(streptomycin)系抗生物質(慶大黴素(gentamycin類似體)之耐受性。對細胞融合為理想的各種骨髓瘤細胞為公知。

【0031】 如此的骨髓瘤細胞例如可理想地使用P3(P3x63Ag8.653)(J. Immunol.(1979)123 (4), 1548-1550)、P3x63Ag8U.1(Current Topics in Microbiology

and Immunology (1978)81, 1-7)、NS-1(C. Eur. J. Immunol.(1976)6 (7), 511-519)、MPC-11(Cell(1976)8 (3), 405-415)、SP2/0(Nature (1978)276 (5685), 269-270)、FO(J. Immunol. Methods(1980)35 (1-2), 1-21)、S194/5.XX0.BU.1(J. Exp. Med.(1978)148 (1), 313-323)、R210(Nature(1979)277 (5692), 131-133)等。

【0032】基本上可依照公知方法例如 Keller 與 Milstein 等人的方法 (Methods Enzymol.(1981)73, 3-46)等，實施前述免疫細胞與骨髓瘤細胞之細胞融合。

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

【0033】免疫細胞與骨髓瘤細胞之使用比例可任意設定。例如相對於骨髓瘤細胞將免疫細胞定為1至10倍較佳。前述細胞融合使用之培養液，例如適於前述骨髓瘤細胞株增殖之RPMI1640培養液、MEM培養液、此外，可使用該種細胞培養使用之通常之培養液，再者，可理想地添加胎牛血清(FCS)等血清補液。

【0034】細胞融合係將前述免疫細胞與骨髓瘤細胞以既定量於前述培養液中充分混合，並且將預先加溫至約37℃之PEG溶液(例如平均分子量1000至6000左右)以通常30至60%(w/v)之濃度添加。藉由將混合液緩慢混合，會形成所望之融合細胞(融合瘤)。接著，逐次添加上述列舉之適當培養液，反復實施離心並去除上清液之操作，可將對於融合瘤之生長不利的細胞融合劑等除去。

【0035】以如此方式獲得之融合瘤，可藉由於通常之選擇培養液，例如HAT培養液(含次黃嘌呤、胺基喋呤、胸腺嘧啶之培養液)培養而選擇。為了使所望之融合瘤以外之細胞(非融合細胞)死滅，可使繼續進行使用上述HAT培養液之培養足夠時間(通常該足夠時間為數日至數週)。其次，以通常之極限稀釋法，實施產生所望抗體之融合瘤之篩選及單一選殖。

【0036】 以如此方式獲得之融合瘤，可利用因應細胞融合使用之骨髓瘤具有之選擇標記的選擇培養液而選擇。例如具HGPRT或TK缺損之細胞，可藉由以HAT培養液(含次黃嘌呤、胺基喋呤及胸腺嘧啶之培養液)培養而選擇。亦即，當使用HAT感受性骨髓瘤細胞於細胞融合時，可在HAT培養液中將成功與正常細胞細胞融合的細胞選擇性增殖。為了使所望融合瘤以外之細胞(非融合細胞)死滅，可以繼續使用上述HAT培養液之培養足夠時間。具體而言，一般可藉由數日至數週的培養而選擇所望之融合瘤。其次可利用通常之極限稀釋法，實施產生所望之抗體的融合瘤的篩選及單一選殖。

【0037】 所望之抗體之篩選及單一選殖，可依照基於公知抗原抗體反應之篩選方法而理想地實施。例如，結合於GPC3之單株抗體可以結合於在細胞表面表現的GPC3。如此的單株抗體例如可藉由FACS(fluorescence activated cell sorting)篩選。FACS係將與螢光抗體接觸之細胞以雷射光解析，並測定各個細胞發出之螢光，而可測定抗體對於細胞表面之結合的系統。

【0038】 為了利用FACS篩選產生本發明之單株抗體的融合瘤，首先要製備表現GPC3之細胞。用於篩選之較佳細胞為使GPC3強制表現之哺乳動物細胞。藉由以當做寄主細胞之未經轉形之哺乳動物細胞為對照，可以選擇性檢測抗體對於細胞表面之GPC3的結合活性。亦即，藉由選擇產生未結合於寄主細胞而結合於GPC3強制表現細胞的抗體的融合瘤，可以取得產生GPC3單株抗體之融合瘤。

【0039】 或抗體對於經固定化之GPC3表現細胞的結合活性可依據ELISA之原理評價。例如，將GPC3表現細胞固定化在ELISA平板的井。使融合瘤之培養上清液接觸井內之固定化細胞，以檢測結合於固定化細胞的抗體。單株抗體為小鼠來源時，與細胞結合之抗體可利用抗小鼠免疫球蛋白抗體檢測。該等篩選所選擇之產生具有對於抗原之結合能力的所望抗體的融合瘤，可利用極限稀

釋法等選殖。

【0040】 以此方式製作之產生單株抗體之融合瘤可在通常之培養液中繼代培養。而且，該融合瘤可於液態氮中長期保存。

【0041】 將該融合瘤依照通常方法培養，可從其培養上清液取得所望之單株抗體。或可將融合瘤對於與其具適合性之哺乳動物投予使增殖，並從其腹水獲取單株抗體。前者之方法對於獲得高純度抗體為適當。

【0042】 從該融合瘤等抗體產生細胞選殖的抗體基因所編碼之抗體也可適當利用。藉由將經選殖的抗體基因納入適當載體並導入寄主，可以表現該基因所編碼的抗體。抗體基因之單離與對於載體之導入、及用於將寄主細胞轉形之方法，例如已由Vandamme等人確立 (Eur.J. Biochem.(1990)192 (3), 767-775)。下列所述重組抗體之製造方法亦為公知。

【0043】 例如，可從產生抗GPC3抗體之融合瘤細胞取得編碼為抗GPC3抗體之可變區(V區)之cDNA。為此，通常首先從融合瘤萃取全體RNA。用於從細胞萃取mRNA之方法，例如可利用如下方法。

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

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

【0044】 萃取到的mRNA可使用mRNA Purification Kit (GE Health care bioscience製)等精製。或如QuickPrep mRNA Purification Kit (GE Health care bioscience製)等，也有用於從細胞直接萃取全體mRNA之市售套組。使用如此的套組，可從融合瘤取得mRNA。從獲得之mRNA使用反轉錄酵素可合成編碼為抗體V區之cDNA。cDNA可利用AMV Reverse Transcriptase First-strand cDNA Synthesis Kit(生化學工業社製)等合成。又，為了cDNA之合成及放大，可適當利用SMART RACE cDNA 放大套組(Clontech製)及使用PCR之5'-RACE法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) 85 (23), 8998-9002、Nucleic Acids Res. (1989) 17 (8),

2919-2932)。又，在如此的cDNA合成之過程中，可在cDNA的兩末端導入後述適當的限制酶部位。

【0045】 從獲得之PCR產物精製目的之cDNA片段，其次與載體DNA連結。以如此方式製作重組載體，並導入大腸菌等，選擇群落(colony)後，從形成有該群落之大腸菌製備所望之重組載體。並且針對該重組載體是否具有目的cDNA之鹼基序列，可使用公知之方法例如二去氧核苷酸鏈終結法等確認。

【0046】 為了取得編碼為可變區之基因，利用使用可變區基因放大用引子之5'-RACE法係屬簡便。首先，以從融合瘤細胞萃取之RNA當做模板，合成cDNA，獲得5'-RACE cDNA庫。5'-RACE cDNA庫之合成可適當使用SMART RACE cDNA 放大套組等市售套組。

【0047】 以獲得之5'-RACE cDNA庫為模板，以PCR法將抗體基因放大。依據公知之抗體基因序列可設計小鼠抗體基因放大用之引子。此等引子為依免疫球蛋白之次類而各不相同的鹼基序列。因此，次類理想為預先使用Iso Strip小鼠單株抗體同種型決定套組(Roche diagnostics)等市售套組決定。

【0048】 具體而言，當目的為取得例如編碼為小鼠IgG之基因時，可利用將編碼為當做重鏈之 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2a$ 、 $\gamma 2b$ 、 $\gamma 3$ 、當做輕鏈之 κ 鏈與 λ 鏈的基因放大的引子。為了放大IgG之可變區基因，一般係利用於3'側之引子黏合有相當於接近可變區之恆定區之部分的引子。另一方面，5'側之引子係利用5' RACE cDNA庫製作套組所附帶的引子。

【0049】 利用如此放大之PCR產物，可再構成由重鏈與輕鏈之組合而成的免疫球蛋白。以再構成之免疫球蛋白對於GPC3之結合活性當做指標，可以篩選所望之抗體。例如目的為取得對抗GPC3之抗體時，抗體對於GPC3之結合，更佳為專一性的。與GPC3結合之抗體可藉由例如以下方式篩選；

(1)使從融合瘤獲得之含有由cDNA編碼之V區的抗體接觸GPC3表現細胞之

步驟、

(2)檢測GPC3表現細胞與抗體之間的結合之步驟、及

(3)選擇與GPC3表現細胞結合之抗體之步驟。

【0050】 檢測抗體與GPC3表現細胞之間的結合的方法為公知。具體而言，可利用先前所述FACS等方法，檢測抗體與GPC3表現細胞間之結合。為了評價抗體之結合活性，可適當利用GPC3表現細胞之固定標本。

【0051】 以結合活性為指標之抗體之篩選方法，亦宜使用利用噬菌體載體之淘選法。從多株抗體表現細胞群，以重鏈與輕鏈之次類之庫的形式取得抗體基因時，利用噬菌體載體之篩選方法係屬有利。編碼為重鏈與輕鏈之可變區之基因，可藉由以適當連結子序列連結，而形成單鏈Fv(scFv)。藉由將編碼為scFv之基因插入噬菌體載體，可取得於表面表現scFv之噬菌體。該噬菌體與所望抗原接觸後，藉由回收與抗原結合之噬菌體，可以回收編碼為具目的結合活性之scFv的DNA。該操作可視需要反復實施，而將具所望之結合活性之scFv濃縮。

【0052】 獲得編碼為目的抗GPC3抗體之V區的cDNA後，將該cDNA以認識插入於該cDNA之兩末端的限制酶部位之限制酶消化者。較佳之限制酶，係認識構成抗體基因之鹼基序列中出現頻度低之鹼基序列並消化。再者，為了將1副本的消化片段以正確方向插入載體，宜插入提供附著末端之限制酶。藉由將以上述方式經消化之編碼為抗GPC3抗體之V區的cDNA插入適當表現載體，可以取得抗體表現載體。此時，若將編碼為抗體恆定區(C區)之基因、與編碼為前述V區之基因於框架內融合，則可取得嵌合抗體。在此，嵌合抗體係指恆定區與可變區之來源不同者。因此，除了小鼠—人類等的異種嵌合抗體，人類—人類同種嵌合抗體也包含在本發明之嵌合抗體。藉由預先在具恆定區之表現載體插入前述V區基因，可以構建嵌合抗體表現載體。具體而言，可於例如保持有編碼為所望之抗體恆定區(C區)之DNA的表現載體之5'側，適當配置消化前述V區基因

之限制酶之限制酶認識序列。藉由將以相同組合之限制酶消化過的兩者於框架內融合，可以構建嵌合抗體表現載體。

【0053】 為了製造抗GPC3單株抗體，可以將抗體基因於由表現控制區控制之下表現的方式納入表現載體。用於表現抗體之表現控制區，例如包含增強子或啟動子。又，也可在胺基末端附加適當的信號序列，以使表現的抗體分泌到細胞外。後面記載之實施例係使用具胺基酸序列MGWSCIILFLVATATGVHS (序列編號：72)之胜肽當做信號序列，但是也可加成其他適當的信號序列。將表現的多胜肽在上述序列之羧基末端部分切斷，切斷的多胜肽可以成熟多胜肽之形式分泌到細胞外。其次，藉由以該表現載體將適當的寄主細胞轉形，可以取得表現編碼為抗GPC3抗體之DNA的重組細胞。

【0054】 為了表現抗體基因，可將編碼為抗體重鏈(H鏈)及輕鏈(L鏈)之DNA納入分別的表現載體。藉由納入有H鏈與L鏈之載體，對於相同寄主細胞同時轉形(co-transfect)，可以表現具備H鏈與L鏈之抗體分子。或可將編碼為H鏈及L鏈之DNA納入單一的表現載體，而將寄主細胞轉形（參照國際公開WO 94/11523）。

【0055】 用以藉由將經單離之抗體基因導入適當寄主而製作抗體之寄主細胞與表現載體的多數組合為公知。該等表現系均可應用於單離本發明之抗原結合域或CD3結合域。真核細胞當做寄主細胞時，可適當使用動物細胞、植物細胞、或真菌細胞。具體而言，動物細胞例如以下細胞。

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

(2)兩生類細胞：非洲爪蟾卵母細胞等

(3)昆蟲細胞：sf9、sf21、Tn5等

【0056】 或植物細胞以煙草(Nicotiana tabacum)等煙草 (Nicotiana)屬來源

之細胞而得之抗體基因表現系為公知。植物細胞之轉形可以適當利用癒傷組織培養之細胞。

【0057】 又，真菌細胞可以利用如下的細胞。

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

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

【0058】 又，利用原核細胞之抗體基因之表現系亦為公知。例如使用細菌細胞時，可以適當利用大腸菌(*E. coli*)、枯草菌等細菌細胞。於該等細胞中，以轉形導入含有目的抗體基因之表現載體。藉由將經轉形之細胞於體外培養，可從該轉形細胞之培養物獲取所望之抗體。

【0059】 重組抗體之產生，除了上述寄主細胞，尚可利用基因轉殖動物。亦即，從導入有編碼為所望抗體之基因的動物，可獲取該抗體。例如，抗體基因藉由於框架內插入編碼為乳汁中固有產生之蛋白質的基因內部，可以構建融合基因。乳汁中分泌之蛋白質，例如可利用山羊 β 酪蛋白等。將含有插入有抗體基因之融合基因的DNA片段注入山羊胚，並將該經注入之胚胎導入雌山羊體內。從接受胚胎的山羊產生之基因轉殖山羊(或其子孫)所產之乳汁，可以取得所望之抗體與乳汁蛋白質之融合蛋白質。又，為了增加從基因轉殖山羊產生之含所望之抗體之乳汁量，可對於基因轉殖山羊投予荷爾蒙(Bio/Technology (1994), 12 (7), 699-702)。

【0060】 本說明書記載之多胜肽聯合體對於人類投予時，該聯合體中之抗原結合域，可適當採用以降低對於人類之異種抗原性等為目的經人為改變過的基因重組型抗體來源的抗原結合域。基因重組型抗體例如包含人類化(Humanized)抗體等。該等改變抗體可使用公知方法適當製造。

【0061】 本說明書記載之用於製作多胜肽聯合體中的抗原結合域所使用

之抗體之可變區，通常由插入在4個框架區(FR)的3個互補性決定區(complementarity-determining region ; CDR)構成。CDR係實質上決定抗體之結合專一性之區域。CDR之胺基酸序列富有多樣性。另一方面，構成FR之胺基酸序列，即使在具有不同之結合專一性的抗體之間也常會顯示高度同一性。所以，一般可利用CDR之移植而將某抗體之結合專一性移植到其他抗體。

【0062】 人類化抗體也稱為再構成(reshaped)人類抗體。具體而言，將人類以外之動物例如小鼠抗體之CDR移植到人類抗體而成之人類化抗體等為公知。為了獲得人類化抗體之一般基因重組方法亦為已知。具體而言，就將小鼠抗體之CDR移植到人類FR的方法而言，例如Overlap Extension PCR為公知。於Overlap Extension PCR，係對於用於合成人類抗體FR之引子中，附加編碼為待移植之小鼠抗體之CDR的鹼基序列。引子各準備4個FR。一般將小鼠CDR移植到人類FR時，選擇與小鼠之FR具高同一性之人類FR時，對於維持CDR機能為有利。亦即，一般較佳為利用與相鄰於待移植之小鼠CDR的FR之胺基酸序列為高同一性之胺基酸序列構成之人類FR。

【0063】 又，連結之鹼基序列可設計為彼此於框架內連接。藉由各引子，可個別合成人類FR。其結果，可獲得於各FR附加有編碼為小鼠CDR之DNA的產物。各產物之編碼為小鼠CDR之鹼基序列，可設計成彼此重疊。接著，使以人類抗體基因為模板而合成之產物之重疊的CDR部分彼此黏合，進行互補鏈合成反應。利用該反應，人類FR經由小鼠CDR之序列而連結。

【0064】 最後，將連結有3個CDR與4個FR之V區基因，利用黏合在其5'末端與3'末端並附加有適當之限制酶認識序列的引子，將其全長放大。藉由將以上述方式獲得之DNA與編碼為人類抗體C區之DNA以於框架內融合之方式插入於表現載體中，藉此可製作人類型抗體表現用載體。將該重組載體導入寄主並樹立重組細胞後，培養該重組細胞，使編碼為該人類化抗體之DNA表現，藉此

使該培養細胞之培養物中產生該人類化抗體(參照歐洲專利公開EP 239400、國際公開WO1996/002576)。

【0065】 以定性或定量測定以上述方式製作之人類化抗體對於抗原之結合活性並進行評價，可以理想地選擇當經由CDR連結時該CDR會形成良好之抗原結合部位的人類抗體之FR。視需要，可以將FR之胺基酸殘基取代，使再構成人類抗體之CDR能形成適當的抗原結合部位。例如，應用將小鼠CDR移植到人類FR時使用之PCR法，可對於FR導入胺基酸序列之突變。具體而言，可對於與FR黏合之引子導入部分的鹼基序列的突變。以如此的引子合成之FR，導入有鹼基序列之突變。以上述方法測定並評價將胺基酸取代過的突變型抗體對於抗原之結合活性，可以選擇具所望性質之突變FR序列(Sato, K.et al., Cancer Res, 1993, 53, 851-856)。

【0066】 又，可以將具有人類抗體基因所有曲目的基因轉殖動物(參照國際公開WO1993/012227、WO1992/003918、WO1994/002602、WO1994/025585、WO1996/034096、WO1996/033735)當做免疫動物，以DNA免疫取得所望之人類抗體。

【0067】 再者，使用人類抗體庫以淘選取得人類抗體之技術亦為已知。例如，將人類抗體之V區以單鏈抗體(scFv)之形式，以噬菌體呈現法使表現在噬菌體之表面。可以選擇表現與抗原結合之scFv的噬菌體。藉由解析選擇之噬菌體之基因，可以決定編碼為與抗原結合之人類抗體之V區的DNA序列。決定與抗原結合之scFv之DNA序列後，將該V區序列與所望之人類抗體C區之序列於框架內融合後插入適當表現載體，可以製作表現載體。將該表現載體導入上述列舉之適當表現細胞中，並使編碼為該人類抗體之基因表現，可取得該人類抗體。該等方法已為公知(參照國際公開WO1992/001047、WO1992/020791、WO1993/006213、WO1993/011236、WO1993/019172、WO1995/001438、

WO1995/015388)。

【0068】 抗原結合域

本說明書中，「抗原結合域」係指含抗原之一部分或全部專一性結合且互補之區而成之抗體之部分。抗原之分子量大時，抗體可以僅結合於抗原之特定部分。該特定部分稱為抗原決定基。抗原結合域可由一或多數抗體之可變域提供。較佳為，抗原結合域包含抗體輕鏈可變區(VL)與抗體重鏈可變區(VH)。如此之抗原結合域，例如「scFv(single chain Fv)」、「單鏈抗體(single chain antibody)」、「Fv」、「scFv2(single chain Fv 2)」、「Fab」或「F(ab')₂」等。

【0069】 本發明之多胜肽聯合體中的抗原結合域，可以與相同之抗原決定基結合。在此，相同之抗原決定基，可存在於由序列編號：2或序列編號：4記載之胺基酸序列構成之蛋白質中。或本發明之多胜肽聯合體中的抗原結合域，可以與互不相同的抗原決定基結合。在此，不同之抗原決定基可存在於由序列編號：2或序列編號：4記載之胺基酸序列構成的蛋白質中。

【0070】 專一性

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

【0071】 抗原

本說明書中，抗原不特別限定，可為不含CD3的任意抗原。抗原，例如受體、癌抗原、MHC抗原、分化抗原等。受體例如：造血因子受體家族、細胞激素受體家族、酪胺酸激酶型受體家族、絲胺酸/蘇胺酸激酶型受體家族、TNF受體家族、G蛋白質共軛型受體家族、GPI固定子型受體家族、酪胺酸磷解酶型受體家族、

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

【0072】 上述受體家族所屬之具體受體，例如人類或小鼠紅血球生成素(EPO)受體(Blood (1990) 76 (1), 31-35、Cell (1989) 57 (2), 277-285)、人類或小鼠顆粒球群落刺激因子(G-CSF)受體(Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (1990) 87 (22), 8702-8706、mG-CSFR、Cell (1990) 61 (2), 341-350)、人類或小鼠血小板生成素(TPO)受體(Proc Natl Acad Sci U S A. (1992) 89 (12), 5640-5644、EMBO J. (1993) 12(7), 2645-53)、人類或小鼠胰島素受體(Nature (1985) 313 (6005), 756-761)、人類或小鼠Flt-3配體受體(Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (1994) 91 (2), 459-463)、人類或小鼠血小板來源增殖因子(PDGF)受體(Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (1988) 85 (10) 3435-3439)、人類或小鼠干擾素(IFN)- α 、 β 受體(Cell (1990) 60 (2), 225-234. 及Cell (1994) 77 (3), 391-400)、人類或小鼠瘦體素(leptin)受體、人類或小鼠成長荷爾蒙(GH)受體、人類或小鼠介白素(IL)-10受體、人類或小鼠胰島素狀增殖因子(IGF)-I受體、人類或小鼠白血病抑制因子(LIF)受體、人類或小鼠毛狀體神經營養因子(CNTF)受體等。

【0073】 癌抗原係伴隨細胞之惡化而表現之抗原，也稱為腫瘤專一性抗

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

【0074】 MHC抗原主要分類為MHC class I抗原與MHC class II抗原，MHC class I抗原包含HLA-A、-B、-C、-E、-F、-G、-H，MHC class II抗原包含HLA-DR、-DQ、-DP。

【0075】 分化抗原可包含CD1、CD2、CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、CD13、CD14、CD15s、CD16、CD18、CD19、CD20、CD21、CD23、CD25、CD28、CD29、CD30、CD32、CD33、CD34、CD35、CD38、CD40、CD41a、CD41b、CD42a、CD42b、CD43、CD44、CD45、CD45RO、CD48、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD51、CD54、CD55、CD56、CD57、CD58、CD61、CD62E、CD62L、CD62P、CD64、CD69、CD71、CD73、CD95、CD102、CD106、CD122、CD126、CDw130。

【0076】 抗原決定基

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

【0077】 直線狀抗原決定基，係含有認識胺基酸一次序列之抗原決定基的抗原決定基。直線狀抗原決定基典型上在固有序列含至少3個，且最普通為至少5個，例如約8～約10個、6～20個胺基酸。

【0078】 立體構造抗原決定基係與直線狀抗原決定基為對照，為含抗原決定基之胺基酸之一次序列並非所認識之抗原決定基之單一規定成分之抗原決定基(例如，胺基酸之一次序列不一定由規定抗原決定基之抗體所認識之抗原決定基)。立體構造抗原決定基可能包含相對於直線狀抗原決定基為增大之數目之胺基酸。關於立體構造抗原決定基之認識，抗體係認識胜肽或蛋白質之三維構造。例如當蛋白質分子折疊並形成三維構造時，形成立體構造抗原決定基之某胺基酸及/或多胜肽主鏈成為並排，且抗體可認識抗原決定基。決定抗原決定基之立體構造之方法，例如包含X射線結晶學、二維核磁共振分光學及部位專一性旋轉標定及電磁場磁性共振分光學，但不限於該等。例如，參照Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology (1996)、第66卷、Morris(編)。

【0079】 以下例示確認含對於GPC3之抗原結合域之待驗多胜肽聯合體對於抗原決定基之結合的確認方法，但是確認含對於GPC3以外之抗原的抗原結合域的待驗多胜肽聯合體其對於抗原決定基之結合之確認方法，也可依據下列例示適當實施。

【0080】 例如含對於GPC3之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體，其認識GPC3分子中存在之線狀抗原決定基之情事，例如可以如下方式確認。為了上述目的，合成由構成GPC3之細胞外域的胺基酸序列構成線狀胜肽。該胜肽可以化學合成。或，利用GPC3之cDNA中編碼為相當於細胞外域的胺基酸序列的區域，以基因工程的方法獲得。其次，評價由構成細胞外域之胺基酸序列構成的線狀胜肽、及含對於GPC3之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體之間的結合活性。例如，可藉由經固定化之線狀胜肽為抗原之ELISA，而評價該多胜肽聯合體對於該

胜肽之結合活性。或，基於該多胜肽聯合體對於GPC3表現細胞之結合中，由於線狀胜肽所致之抑制的水平，解明對於線狀胜肽之結合活性。由於該等試驗，可以解明該多胜肽聯合體對於線狀胜肽之結合活性。

【0081】 又，含對於GPC3之抗原結合域的驗多胜肽聯合體認識立體構造抗原決定基之情事，可如以下方式確認。為了上述目的，製備表現GPC3之細胞。例如含對於GPC3之抗原結合域之待驗多胜肽聯合體當接觸GPC3表現細胞時會強力結合於該細胞，另一方面，該多胜肽聯合體對於由構成經固定化之GPC3之細胞外域的胺基酸序列構成線狀胜肽實質上不結合時等。在此，實質上不結合，係指為對於人類GPC3表現細胞之結合活性之80%以下、通常50%以下、較佳為30%以下、尤佳為15%以下之結合活性。

【0082】 測定含對於GPC3之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體對於GPC3表現細胞之結合活性之方法，例如Antibodies A Laboratory Manual記載之方法(Ed Harlow, David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988) 359-420)。亦即，可依照以GPC3表現細胞當做抗原之ELISA或FACS(fluorescence activated cell sorting)之原理評價。

【0083】 ELISA格式中，含對於GPC3之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體對於GPC3表現細胞之結合活性，可藉由比較酵素反應所生成之信號水平而定量的評價。亦即於固定化有GPC3表現細胞之ELISA平板添加待驗多胜肽聯合體，並且利用認識待驗多胜肽聯合體之酵素標識抗體而檢測與細胞結合之待驗多胜肽聯合體。或者，於FACS，製作待驗多胜肽聯合體之稀釋系列，並藉由決定對於GPC3表現細胞之抗體結合力價(titer)，可比較待驗多胜肽聯合體對於GPC3表現細胞之結合活性。

【0084】 待驗多胜肽聯合體對於懸浮於緩衝液等之細胞表面上表現的抗原的結合，可利用流式細胞計數儀檢測。流式細胞計數儀例如已知有以下裝置。

FACSCanto™ II

FACSAria™

FACSArray™

FACSVantage™ SE

FACSCalibur™ (均為BD Biosciences公司之商品名)

EPICS ALTRA HyPerSort

Cytomics FC 500

EPICS XL-MCL ADC EPICS XL ADC

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

【0085】 例如，就含對於GPC3之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體對於抗原之結合活性之理想測定方法，例如以下方法。首先，以認識與表現GPC3之細胞反應之待驗多胜肽聯合體的經FITC標記的二次抗體染色。將待驗多胜肽聯合體以適當的緩衝液稀釋，將該聯合體製備為所望濃度後使用。例如，可使用10μg/ml至10 ng/ml之間的任一濃度。其次，利用FACSCalibur(BD公司)測定螢光強度及細胞數。抗體對於該細胞之結合量，係反映在使用CELL QUEST Software(BD公司)解析而得之螢光強度，亦即幾何平均值(Geometric Mean)。亦即，由該幾何平均值，可測定由待驗多胜肽聯合體之結合量表示之待驗多胜肽聯合體之結合活性。

【0086】 含對於GPC3之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體，與多胜肽聯合體共有抗原決定基之情事，可藉由兩者對於相同抗原決定基之彼此競爭而確認。多胜肽聯合體間之彼此競爭，可利用交叉阻斷試驗等檢測。例如彼此競爭ELISA分析係較佳的交叉阻斷試驗。

【0087】 具體而言，交叉阻斷試驗中，係在微滴定平板的井上塗覆的GPC3蛋白質，於成為候選的彼此競爭多胜肽聯合體存在下、或不存在下預備溫育後，

添加待驗多胜肽聯合體。與井中之GPC3蛋白質結合之待驗多胜肽聯合體之量，間接相關於與對於相同抗原決定基之結合成為彼此競爭的候選者的彼此競爭多胜肽聯合體之結合能力。亦即，若競合多胜肽聯合體對於相同抗原決定基之親和性愈大，則待驗多胜肽聯合體對於塗覆有GPC3蛋白質之井之結合活性愈低。

【0088】 經由GPC3蛋白質而與井結合之待驗多胜肽聯合體之量，可藉由預先標記多胜肽聯合體而輕易測定。例如，經生物素標記的多胜肽聯合體，可利用抗生物素過氧化酶接合體以及適當基質而測定。利用過氧化酶等酵素標記之交叉阻斷試驗，特別稱為彼此競爭ELISA分析。多胜肽聯合體能以可檢測或測定之其他標記物質標記。具體而言，放射標記或螢光標記等為公知。

【0089】 與於候選的彼此競爭多胜肽聯合體不存在下實施之對照試驗所得之結合活性比較，彼此競爭多胜肽聯合體若能阻斷含對於GPC3之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體之結合至少20%、較佳為至少20—50%、更佳為至少50%，則該待驗多胜肽聯合體與彼此競爭多胜肽聯合體係實質上結合於相同抗原決定基，或對於相同抗原決定基之結合為彼此競爭的多胜肽聯合體。

【0090】 含對於GPC3之抗原結合域的待驗多胜肽聯合體所結合之抗原決定基之構造在鑑定時，待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體共有抗原決定基之情形，可藉由比較兩者之多胜肽聯合體對於在構成該抗原決定基之胜肽導入有胺基酸突變之胜肽的結合活性而評價。

【0091】 如此測定結合活性之方法，例如可藉由比較前述ELISA格式中，待驗多胜肽聯合體及對照多胜肽聯合體對於導入有突變的線狀胜肽的結合活性而測定。就ELISA以外之方法而言，也可藉由將對於結合於管柱之該突變胜肽的結合活性，以使待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體流下該管柱後溶出到溶出液中之多胜肽聯合體進行定量而測定。使突變胜肽例如與GST之融合胜肽吸附於管柱之方法為公知。

【0092】 又，當鑑定的抗原決定基為立體抗原決定基時，待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體共有抗原決定基之情事，可藉由以下方法評價。首先，製備表現GPC3之細胞以及表現對於抗原決定基導入有突變之GPC3的細胞。對於該等細胞懸浮於PBS等適當緩衝液而成的細胞懸浮液添加待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體。其次，對於經適當緩衝液洗滌的細胞懸浮液，添加能夠認識待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體的經FITC標記的抗體。利用FACSCalibur(BD公司)測定標記抗體所染色之細胞之螢光強度及細胞數。將待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體之濃度以適當緩衝液適當稀釋以製備為所望濃度後使用。例如可使用10 μ g/ml至10 ng/ml之間的任一濃度。標記抗體對於該細胞之結合量，反映於使用CELL QUEST Software(BD公司)解析所獲得之螢光強度，亦即幾何平均值。亦即藉由獲得該幾何平均值，可以測定以標記抗體之結合量所代表之待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體之結合活性。

【0093】 本方法中，例如「實質上不結合於突變GPC3表現細胞」之情事，可藉由以下方法判斷。首先，將已對於表現突變GPC3之細胞結合之待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體以標記抗體染色。接著，檢測細胞之螢光強度。螢光檢測使用FACSCalibur當做流式細胞計數儀時，獲得之螢光強度可以使用CELL QUEST Software解析。從多胜肽聯合體存在下及非存在下之幾何平均值，將其比較值(Δ 幾何平均)依下列計算式計算，可以求得多胜肽聯合體之結合所致之螢光強度之增加比例。

【0094】 Δ 幾何平均值 = 幾何平均值 (多胜肽聯合體存在下) / 幾何平均值 (多胜肽聯合體非存在下)

【0095】 將由解析獲得之反映待驗多胜肽聯合體對於突變GPC3表現細胞之結合量的幾何平均比較值(突變GPC3分子 Δ 幾何平均值)，與反映待驗多胜肽聯合體對於GPC3表現細胞之結合量的 Δ 幾何平均值比較值進行比較。於該情形，

求取對於突變GPC3表現細胞及GPC3表現細胞之 Δ 幾何平均比較值時使用之待驗多胜肽聯合體之濃度調整為彼此相同或實質上為相同濃度尤佳。可利用預先確認認識GPC3中之抗原決定基的多胜肽聯合體當做對照多胜肽聯合體。

【0096】 待驗多胜肽聯合體對於突變GPC3表現細胞之 Δ 幾何平均比較值，若比起待驗多胜肽聯合體對於GPC3表現細胞之 Δ 幾何平均比較值之至少80%、較佳為50%、更佳為30%、尤佳為15%還小，則判定為「實質上不結合於突變GPC3表現細胞」。求取幾何平均值(Geometric Mean)之計算式，記載於CELL QUEST Software User's Guide(BD biosciences公司)。若比較比較值而其實質上可視為相同之程度，則可評價待驗多胜肽聯合體與對照多胜肽聯合體之抗原決定基為相同。

【0097】 Fv(可變片段(variable fragment))

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

【0098】 本說明書中，Fv例如以下之包含(1)二價之抗原結合域、(2)構成IgG1、IgG2a、IgG3或IgG4之Fc區域之胺基酸當中含不具對於Fc γ 受體之結合活性之Fc區域的域、及(3)至少一價之CD3結合域之多胜肽聯合體中，輕鏈Fv片段及重鏈Fv片段含以具對於抗原CD3之結合的態樣組合並且構成CD3結合域之一組Fv亦為較佳；

二價之scFv當中，一價之scFv以中間為構成CD3結合域之重鏈Fv片段而連結

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

【0099】 scFv、單鏈抗體、或sc(Fv)₂

本說明書中，「scFv」、「單鏈抗體」、或「sc(Fv)₂」的用語係指在單一多胜肽鏈內，包含來自於重鏈及輕鏈兩者的可變區但是欠缺恆定區之抗體片段。一般而言，單鏈抗體更包含可形成能進行抗原結合的所望之構造的VH域與VL域之間的多胜肽連結子。單鏈抗體於The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 113卷, Rosenberg、及、Moore編, Springer-Verlag, New York, 269～315(1994)中，由Pluckthun詳細考察。同樣地，參照國際專利申請案公開WO1988/001649及美國專利第4,946,778號及美國專利第5,260,203號。特定態樣中，單鏈抗體也可為雙專一性、及/或人類化。

【0100】 scFv係構成Fv之VH與VL以胜肽連結子連結成的抗原結合域(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85 (16), 5879-5883)。利用該胜肽連結子，VH與VL可以保持在接近的狀態。

【0101】 sc(Fv)₂係二個VL與二個VH之4個可變區以胜肽連結子等連結子連結成構成單鏈的單鏈抗體(J Immunol. Methods (1999) 231 (1-2), 177-189)。該二個VH與VL也可來自不同的單株抗體。例如Journal of Immunology (1994) 152 (11), 5368-5374揭示在相同抗原中存在認識二種抗原決定基之雙專一性(bispecific sc(Fv)₂)。sc(Fv)₂可以利用該技術領域人士公知之方法製作。例如，可藉由將scFv以胜肽連結子等連結子連結而製作。

【0102】 本說明書中，構成sc(Fv)₂之抗原結合域之構成，例如二個VH及二個VL以單鏈多胜肽之N末端側為基點，而依VH、VL、VH、VL([VH]連結子[VL]連結子[VH]連結子[VL])之順序排列為特徵的抗體，但二個VH與2個VL之順序不

特別限於上述構成，可以任意順序排列。例如以下順序之構成。

[VL]連結子[VH]連結子[VH]連結子[VL]

[VH]連結子[VL]連結子[VL]連結子[VH]

[VH]連結子[VH]連結子[VL]連結子[VL]

[VL]連結子[VL]連結子[VH]連結子[VH]

[VL]連結子[VH]連結子[VL]連結子[VH]

【0103】 針對sc(Fv)₂之分子形態，在WO2006/132352已有詳細記載，該技術領域之人士可依據此等記載製作用於製作本說明書揭示之多胜肽聯合體用的適當所望之sc(Fv)₂。

【0104】 又，本發明之多胜肽聯合體也可接合PEG等擔體高分子或抗癌劑等有機化合物。又，可以插入糖鏈附加序列並且適當附加使糖鏈獲得所望之效果。

【0105】 結合抗體可變區之連結子，可使用能以基因工程導入之任意胜肽連結子、或合成化合物連結子(例如參照Protein Engineering, 9 (3), 299-305, 1996)揭示之連結子等，但本發明中以胜肽連結子較佳。胜肽連結子之長度不特別限定，可以視目的由該技術領域之人士適當選擇，但較佳長度為5個胺基酸以上(上限不特別限定，但通常為30個胺基酸以下，較佳為20個胺基酸以下)，尤佳為15個胺基酸。sc(Fv)₂含有3個胜肽連結子時，可全部使用同長度之胜肽連結子，也可使用不同長度之胜肽連結子。

【0106】 例如為胜肽連結子時：

Ser

Gly · Ser

Gly · Gly · Ser

Ser · Gly · Gly

Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：5)

Ser · Gly · Gly · Gly(序列編號：6)

Gly · Gly · Gly · Gly · Ser(序列編號：7)

Ser · Gly · Gly · Gly · Gly(序列編號：8)

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

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

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

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

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

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

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

【0107】 合成化學物連結子(化學交聯劑)為胜肽交聯通常可用之交聯劑，例如N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)、二琥珀醯亞胺基辛二酸酯(DSS)、雙(磺基琥珀醯亞胺基)辛二酸酯(BS3)、二硫代雙(琥珀醯亞胺基丙酸酯)(DSP)、二硫代雙(磺基琥珀醯亞胺基丙酸酯)(DTSSP)、乙二醇雙(琥珀醯亞胺基琥珀酸酯)(EGS)、乙二醇雙(磺基琥珀醯亞胺基琥珀酸酯)(磺基-EGS)、二琥珀醯亞胺基酒石酸鹽(DST)、二磺基琥珀醯亞胺基酒石酸鹽(磺基-DST)、雙[2-(琥珀醯亞胺氧基羰氧基)乙基]砒(BSO-COES)、雙[2-(磺基琥珀醯亞胺氧基羰氧基)乙基]砒(磺基-BSO-COES)等，該等交聯劑有市售。

【0108】 結合4個抗體可變區時，通常需要3個連結子，但可全部使用相同連結子也可使用不同的連結子。

【0109】 Fab、F(ab')₂、或Fab'

「Fab」由一條輕鏈、及一條重鏈之CH1區域及可變區構成。Fab分子之重鏈

無法與其他重鏈分子形成雙硫鍵。

【0110】 「F(ab')₂」及「Fab'」，係指將免疫球蛋白(單株抗體)以蛋白質分解酵素胃蛋白酶或木瓜酶等處理以製造，在鉸鏈區中之2條H鏈間存在之雙硫鍵的前後消化而生成之抗體片段。例如可製造將IgG以木瓜酶處理，將鉸鏈區中之2條H鏈間存在之雙硫鍵之上游切斷而由VL(L鏈可變區)與CL(L鏈恆定區)構成的L鏈、及由VH(H鏈可變區)與CH_γ1(H鏈恆定區中之γ1區)構成之H鏈片段在C末端區以雙硫鍵結合之相同的2個抗體片段。該等2個相同的抗體片段分別稱為Fab'。

【0111】 「F(ab')₂」包含二條輕鏈、及鏈間之雙硫鍵以形成於2條重鏈間之方式含有CH1域及CH2域之一部分恆定區之二條重鏈。構成本說明書揭示之多胜肽聯合體之F(ab')₂，可藉由將具所望之抗原結合域的全長單株抗體等以胃蛋白酶等蛋白質分解酵素予以部分消化後，使Fc片段吸附於PROTEIN A管柱而去除以理想地取得。該蛋白質分解酵素只要是藉由適當設定pH等酵素之反應條件而消化全長抗體以限制地產生F(ab')₂者即不特別限定，例如胃蛋白酶或無花果蛋白酶(ficin)等。

【0112】 Fc區域

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

【0113】 本說明書記載之多胜肽聯合體中，包含構成IgG1、IgG2、IgG3或IgG4之Fc區域的胺基酸當中對於Fcγ受體之結合活性降低的Fc區域。

【0114】 抗體同種型係由恆定區之構造決定。IgG1、IgG2、IgG3、IgG4

之各同種型之恆定區，各稱為C γ 1、C γ 2、C γ 3、C γ 4。構成人類C γ 1、C γ 2、C γ 3、C γ 4之Fc區域的多胜肽的胺基酸序列例如序列編號：23、24、25、26。構成各胺基酸序列之胺基酸殘基、與kabat之EU編號(本說明書也稱為EU INDEX)之間的關係如圖18所示。

【0115】 Fc區域，係指包含二條輕鏈及以鏈間之雙硫鍵形成在2條重鏈間之方式包含CH1域及CH2域間之恆定區之一部分的二條重鏈的F(ab')₂以外的區。構成本說明書揭示之多胜肽聯合體之Fc區域，可藉由將IgG1、IgG2、IgG3、IgG4單株抗體等以胃蛋白酶等蛋白質分解酵素部分消化後，使吸附於PROTEIN A管柱之區分再溶出而理想地取得。該蛋白質分解酵素只要是藉由適當設定pH等酵素之反應條件而消化全長抗體以限制地產生F(ab')₂者即不特別限定，例如胃蛋白酶或無花果蛋白酶(ficin)等。

【0116】 Fc γ 受體

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

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

【0117】 又，「Fc配體」或「效應子配體」係指與抗體之Fc區域結合而形成Fc/Fc配體複合體之任意生物來源的分子，較佳為多肽。Fc配體對於Fc之結合，較佳為誘發1或更多的效應子機能。Fc配體包含Fc受體、FcγR、FcαR、FcεR、FcRn、C1q、C3、甘露聚糖結合凝集素、甘露糖受體、葡萄球菌之PROTEIN A、葡萄球菌之蛋白質G及病毒之FcγR，但不限於該等。Fc配體也包含與FcγR相同之Fc受體之家族Fc受體相同體(FcRH)(Davis et al.,(2002)Immunological Reviews 190, 123-136)。Fc配體也包含與Fc結合之未曾發現的分子。

【0118】 對於Fcγ受體之結合活性

Fc區域對於FcγI、FcγIIA、FcγIIB、FcγIIIA及/或FcγIIIB中任一Fcγ受體之結合活性降低之情事，除可藉由上述記載之FACS或ELISA格式，也可利用ALPHA篩選 (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay)或利用表面等離子共振(SPR)現象之BIAcore法等確認 (Proc.Natl.Acad.Sci.USA (2006) 103 (11), 4005-4010)。

【0119】 ALPHA篩選，係使用捐出者與接受者2個珠粒的ALPHA技術，

第 45 頁，共 101 頁(發明說明書)

2125-12026AA-PF

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

【0120】 例如，經生物素標記之多胜肽聯合體結合於捐出者珠粒，且於接受者珠粒有以谷胱甘肽S轉移酶(GST)標籤化之Fc γ 受體結合。於不存在彼此競爭之具突變Fc區域之多胜肽聯合體時，具野生型Fc區域之多胜肽聯合體會與Fc γ 受體交互作用，產生520-620 nm之信號。具未經標籤化之突變Fc區域的多胜肽聯合體，會與具野生型Fc區域之多胜肽聯合體彼此競爭Fc γ 受體間之交互作用。彼此競爭之結果，可藉由定量表現的螢光減少而決定相對的結合親和性。抗體等多胜肽聯合體使用Sulfo-NHS-生物素等予以生物素化之方法為公知。就將Fc γ 受體以GST標籤化之方法，可適當採用將編碼為Fc γ 受體之聚核苷酸與編碼為GST之聚核苷酸於框架內融合成的融合基因保持於可表現之載體之細胞等中表現，並使用谷胱甘肽管柱精製之方法等。獲得之信號例如可使用GRAPHPAD PRISM(GraphPad公司、San Diego)等軟體，利用非線形迴歸解析，並擬合於單部位彼此競爭(one-site competition)模型而適當解析。

【0121】 若將觀察交互作用之物質的其中之一(配體)固定在感應晶片的金薄膜上，並從感應晶片的背側照光使在金薄膜與玻璃的境界面發生全反射，則一部分反射光會形成反射強度降低的部分(SPR信號)。若觀察交互作用之物質的其中另一者(分析物)流到感應晶片之表面並且配體與分析物結合，則經固定化的配體分子的質量會增加，且感應晶片表面之溶媒之折射率會改變。由於該折

射率之改變，SPR信號之位置會偏移(反之，若結合解離，會回到信號的位置)。Biacore系統取上述偏移量，亦即在感應晶片表面之質量變化為縱軸，表示質量之時間變化當做測定數據(傳感圖)。從傳感圖的曲線可以求取動力學：結合速度常數(k_a)與解離速度常數(k_d)，從該常數之比可求取親和性(KD)。BIACORE法也可適用抑制測定法。抑制測定法例如記載於Proc.Natl.Acad.Sci.USA (2006) 103 (11), 4005-4010。

【0122】 本說明書中，對於Fc γ 受體之結合活性降低，係例如基於上述解析方法，比起當為對照之多胜肽聯合體之彼此競爭活性，待驗多胜肽聯合體之彼此競爭活性顯示50%以下、較佳為45%以下、40%以下、35%以下、30%以下、20%以下、15%以下、尤佳為10%以下、9%以下、8%以下、7%以下、6%以下、5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1%以下之結合活性。

【0123】 當做對照之多胜肽聯合體，可以適當使用具IgG1、IgG2、IgG3或IgG4單株抗體之Fc區域的多胜肽聯合體。該Fc區域之構造，記載於序列編號：23(RefSeq註冊編號AAC82527.1之N末端加成A)、24(RefSeq註冊編號AAB59393.1之N末端加成A)、25(RefSeq註冊編號CAA27268.1之N加成A)、26(RefSeq註冊編號AAB59394.1之N末端加成A)。又，當使用具某特定同種型之抗體之Fc區域之突變體的多胜肽聯合體當做待驗物質時，藉由以具該特定同種型之抗體之Fc區域的多胜肽聯合體當做對照，可以驗證該突變體具有之突變對於Fc γ 受體之結合活性的效果。如上述，可以適當製作已驗證對於Fc γ 受體之結合活性降低之具Fc區域之突變體之多胜肽聯合體。

【0124】 如此的突變體，例如依EU編號於特定胺基酸231A-238S缺失(WO 2009/011941)、C226S、C229S、P238S、(C220S)(J.Rheumatol (2007) 34, 11)、C226S、C229S(Hum. Antibod.Hybridomas (1990) 1(1), 47-54)、C226S、C229S、E233P、L234V、L235A(Blood (2007) 109, 1185-1192)等突變體為公知。

【0125】 亦即，構成特定同種型之抗體之Fc區域的胺基酸，依EU編號指定之下列任一胺基酸；220位、226位、229位、231位、232位、233位、234位、235位、236位、237位、238位、239位、240位、264位、265位、266位、267位、269位、270位、295位、296位、297位、298位、299位、300位、325位、327位、328位、329位、330位、331位、332位經取代之具Fc區域之多胜肽聯合體為理想。Fc區域之起源抗體之同種型不特別限定，可以適當利用以IgG1、IgG2、IgG3或IgG4單株抗體為起源之Fc區域，但較佳為使用以IgG1抗體為起源之Fc區域。

【0126】 例如，構成IgG1抗體之Fc區域的胺基酸當中，具施有依EU編號指定之下列任一取代(數字代表依EU編號指定之胺基酸殘基之位置，位於數字前之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基，位於數字後之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基)；

(a)L234F、L235E、P331S、

(b)C226S、C229S、P238S、

(c)C226S、C229S、

(d)C226S、C229S、E233P、L234V、L235A

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

【0127】 又，構成IgG2抗體之Fc區域之胺基酸當中，施以依EU編號指定之下列任一取代(數字代表依EU編號指定之胺基酸殘基之位置，位於數字前之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基，位於數字後之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基)；

(e)H268Q、V309L、A330S、P331S

(f)V234A

(g)G237A

(h)V234A、G237A

(i)A235E、G237A

(j)V234A、A235E、G237A

之具有Fc區域的多胜肽聯合體也可適當使用。

【0128】 又，構成IgG3抗體之Fc區域之胺基酸當中，施有依EU編號指定下列任一取代(數字代表依EU編號指定之胺基酸殘基之位置，位於數字前之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基，位於數字後之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基)；

(k)F241A

(l)D265A

(m)V264A

之具Fc區域的多胜肽聯合體也可適當使用。

【0129】 又，構成IgG4抗體之Fc區域之胺基酸當中，施有依EU編號指定下列任一取代(數字代表依EU編號指定之胺基酸殘基之位置，位於數字前之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基，位於數字後之單字母胺基酸記號代表取代前之胺基酸殘基)；

(n)L235A、G237A、E318A

(o)L235E

(p)F234A、L235A

的具Fc區域的多胜肽聯合體也可適當使用。

【0130】 其他較佳例，例如構成IgG1抗體之Fc區域之胺基酸當中，依EU編號指定之下列任一胺基酸；233位、234位、235位、236位、237位、327位、330位、331位取代為對應的IgG2或IgG4中其EU編號所對應之胺基酸的具Fc區域的多胜肽聯合體。

【0131】 其他較佳例，例如構成IgG1抗體之Fc區域之胺基酸當中，依EU編號指定之下列任一或更多胺基酸；234位、235位、297位取代為其他胺基酸之Fc區域的多胜肽聯合體。取代後存在之胺基酸種類不特別限定，但具有234位、235位、297位中任一或更多胺基酸取代為丙胺酸之具Fc區域的多胜肽聯合體尤佳。

【0132】 其他較佳例，例如構成IgG1抗體之Fc區域之胺基酸當中，依EU編號指定之下列任一胺基酸；265位取代為其他胺基酸之具Fc區域之多胜肽聯合體。取代後存在之胺基酸之種類不特別限定，但以265位之胺基酸取代為丙胺酸之具Fc區域的多胜肽聯合體尤佳。

【0133】 以雙專一性抗體為起源之Fc區域

本說明書中，就對於Fc γ 受體之結合活性降低之Fc區域而言，可以適當使用以雙專一性抗體(bispecific抗體)為起源之Fc區域。雙專一性抗體，可係具二種不同的專一性的抗體。IgG型雙專一性抗體可藉由融合2種產生IgG抗體之融合瘤而產生的雜交融合瘤(hybrid hybridoma(quadroma)分泌(Milstein C et al.Nature (1983) 305, 537-540)。

【0134】 又，IgG型雙專一性抗體係藉由將構成目的之二種IgG之L鏈及H鏈的基因共計四種基因導入細胞並使其共表現而分泌。但該等方法產生之IgG之H鏈與L鏈之組合理論上有10種。從10種IgG精製出由目的組合之H鏈L鏈構成的IgG有困難。再者，目的組合者的分泌量在理論上顯著降低，故需要大規模培養，製造上成本會更增加。

【0135】 此時藉由對於構成H鏈之Fc區域的CH3區域施以適當胺基酸取代，可以優先分泌針對H鏈為異組合的IgG。具體而言，將其中之一的H鏈的CH3區域存在的胺基酸側鏈取代為較大側鏈(knob(「突起」之意))，將另一H鏈CH3區域存在之胺基酸側鏈取代為較小側鏈(hole(「空隙」之意))，能使突起配置在

空隙內，而促進異種H鏈形成及抑制同種H鏈形成之方法(WO1996/027011、Ridgway JB et al., Protein Engineering (1996) 9, 617-621、Merchant AM et al. Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681)。

【0136】 又，關於L鏈比起H鏈可變區，L鏈可變區之多樣性較低，因此期待可獲得能賦予兩H鏈結合能力的共通L鏈。藉由將該共通L鏈與兩H鏈基因導入細胞並使IgG表現，可以良好效率表現雙專一性IgG(Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681)。但是，任意選擇二種抗體時，含相同L鏈之可能性低，難以實行上述構想，也有人提出選擇對應於任意不同之H鏈顯示高結合能力之共通L鏈的方法(WO2004/065611)。

【0137】 又，將由多胜肽組合、或多胜肽構成之異種多聚體之組合之控制方法利用在構成Fc區域之二個多胜肽的組合，而製作雙專一性抗體之技術也為已知。即，可採用藉由將形成構成Fc區域之二個多胜肽內的界面的胺基酸殘基改變，抑制具相同序列之構成Fc區域之多胜肽之組合，而控制為構形成序列不同之二個Fc區域的多胜肽聯合體形成之方法，可採用在雙專一性抗體之製作(WO2006/106905)。

【0138】 本發明之含Fc區域之域，可適當使用以上述雙專一性抗體為起源之構成Fc區域之二個多胜肽。更具體而言，係構成Fc區域之二條多胜肽，可使用如下特徵之兩條多胜肽:其中之一之多胜肽的胺基酸序列當中，依EU編號指定之349位之胺基酸為半胱胺酸、366位之胺基酸為色胺酸，另一多胜肽之胺基酸序列當中，依EU編號指定之356位之胺基酸為半胱胺酸、366位之胺基酸為絲胺酸，368位之胺基酸為丙胺酸，407位之胺基酸為纈胺酸。

【0139】 於另一態樣中，本發明之含Fc區域之域，可使用如以下特徵之兩個多胜肽:構成Fc區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之409位之胺基酸為天冬胺酸，另一多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號

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

【0140】 另一態樣中，本發明之含Fc區域之域，可使用如以下特徵之兩個多胜肽:構成Fc區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之370位之胺基酸為麩胺酸，另一多胜肽之胺基酸序列當依EU編號指定之357位之胺基酸為離胺酸。

【0141】 又另一態樣中，本發明之含Fc區域之域，可使用如以下特徵之兩個多胜肽:構成Fc區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之439位之胺基酸為麩胺酸，另一多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之356位之胺基酸為離胺酸。

【0142】 又，本發明之含Fc區域之域，宜使用該等組合態樣；

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

以下列為特徵之二個多胜肽:構成Fc區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之409位之胺基酸為天冬胺酸、439位之胺基酸為麩胺酸，且另一多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之399位之胺基酸為離胺酸、356位之胺基酸為離胺酸(本態樣中，439位之麩胺酸也可換成360位之天冬胺酸、392位之天冬胺酸或439位之天冬胺酸)、

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

麩胺酸，且另一多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之357位之胺基酸為離胺酸、356位之胺基酸為離胺酸，或

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

【0143】 又，於另一態樣，本發明之含Fc區域之域，可理想地使用以下列為特徵之二個多胜肽:構成Fc區域之二條多胜肽，其中之一為多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之356位之胺基酸為離胺酸，且另一多胜肽之胺基酸序列當中依EU編號指定之435位之胺基酸為精胺酸、439位之胺基酸為麩胺酸。

【0144】 本發明之含Fc區域之域，藉由使用以上述雙專一性抗體為起源之構成Fc區域之二條多胜肽，可以將本發明之抗原結合域及/或CD3結合域以所望之組合配置。

【0145】 C末端之異質性(heterogeneity)有所改善之Fc區域

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

【0146】 T細胞受體複合體結合域

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

細胞受體複合體，也可為T細胞受體本身，也可為與T細胞受體一起構成T細胞受體複合體之適體(adaptor)分子。適體較佳為CD3。

【0147】 T細胞受體結合域

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

【0148】 T細胞受體可為可變區也可為恆定區，但較佳的CD3結合域所結合之抗原決定基，為存在於恆定區的抗原決定基。恆定區之序列例如RefSeq註冊編號CAA26636.1之T細胞受體 α 鏈(序列編號：67)、RefSeq註冊編號C25777之T細胞受體 β 鏈(序列編號：68)、RefSeq註冊編號A26659之T細胞受體 γ 1鏈(序列編號：69)、RefSeq註冊編號AAB63312.1之T細胞受體 γ 2鏈(序列編號：70)、RefSeq註冊編號AAA61033.1之T細胞受體 δ 鏈(序列編號：71)之序列。

【0149】 CD3結合域

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

【0150】 本發明之CD3結合域只要是構成人類CD3之 γ 鏈、 δ 鏈或 ϵ 鏈序列所存在之抗原決定基即可，可為與任何抗原決定基結合者。本發明中，較佳為使用包含與人類CD3複合體之 ϵ 鏈之細胞外區所存在之抗原決定基結合之CD3抗體之輕鏈可變區(VL)與CD3抗體之重鏈可變區(VH)的CD3結合域。如此的CD3結合域，可以適當使用包含OKT3抗體(Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980) 77, 4914-4917)或各種公知之CD3抗體之輕鏈可變區(VL)與CD3抗體之重鏈可變區(VH)的CD3結合域。又，可以適當使用將構成人類CD3之 γ 鏈、 δ 鏈或 ϵ 鏈依前述

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

【0151】 多胜肽聯合體

本發明之多胜肽聯合體只要包含前述

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

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

【0152】 該抗體構造(3)有CD3結合域結合時，該CD3結合域可經由胜肽鍵結合於該抗體構造之恆定區之C末端。就另一態樣而言，該CD3結合域可經由胜肽鍵而結合於該抗體構造之重鏈可變區或輕鏈可變區之N末端。就該其他態樣而言，該CD3結合域可經由胜肽鍵而與該抗體構造之輕鏈恆定區之C末端結合。結合之CD3結合域可採用具所望構造之CD3結合域，但較佳為適當使用Fv，更佳為scFv。與該抗體構造結合之CD3結合域之價數不限定。為了對於該抗體構造結合

二價之CD3結合域，可將構成該抗體構造之恆定區的二個Fc區域之各C末端經由胜肽鍵結合各為一價之CD3結合域。又，為了於該抗體構造結合二價之CD3結合域，可以對於二個Fc區域當中一個Fc區域之C末端經由胜肽鍵結合二價之scFv即sc(Fv)₂。於該情形中，藉由使用以前述雙專一性抗體為起源之Fc區域，可有效率地取得構成該抗體構造之恆定區的二個Fc區域其中一個Fc區域僅在C末端結合二價之scFv即有sc(Fv)₂結合之多胜肽聯合體。又，為了於該抗體構造結合一價之CD3結合域，可將二個Fc區域當中其中之一的Fc區域之C末端經由胜肽鍵而結合一價之scFv。於該情形，藉由使用以前述雙專一性抗體為起源之Fc區域，可以有效率地取得僅在構成該抗體構造之恆定區的二個Fc區域其中之一的Fc區域之C末端結合有一價之scF之本發明之多胜肽聯合體。

【0153】 又，(3)當CD3結合域經由胜肽鍵而結合於該抗體構造之恆定區之C末端時，也可適當使用構成CD3結合域之重鏈Fv片段連結於構成Fc區域其中之一的恆定區之C末端(CH3域)，且構成CD3結合域之輕鏈Fv片段連結於構成Fc區域之另一恆定區之C末端(CH3域)而成的多胜肽聯合體。於該情形，當將重鏈Fv片段或輕鏈Fv片段與恆定區之C末端(CH3域)連結時，可適當插入Gly·Gly·Gly·Gly·Ser(序列編號：7)等連結子。連結子之重複數不限定，可從1~10、較佳為2~8、更佳為2~6之數選擇，亦即可適當插入由1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的重複構成的Gly·Gly·Gly·Gly·Ser(序列編號：7)等連結子。

【0154】 再者，當製作構成CD3結合域之重鏈Fv片段連結於構成Fc區域其中之一之恆定區之C末端(CH3域)，且構成CD3結合域之輕鏈Fv片段連結於構成Fc區域之另一恆定區之C末端(CH3域)而成的多胜肽聯合體時，為了強化該重鏈Fv片段與輕鏈Fv片段之組合，可以適當實施使該重鏈Fv片段與輕鏈Fv片段間形成雙硫鍵的胺基酸殘基的改變。

【0155】 於另一態樣中，當製作構成CD3結合域之重鏈Fv片段連結於構成

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

【0156】 於又另一態樣中，為了於該抗體構造結合二價之CD3結合域，可將該抗體構造之二個輕鏈恆定區之各C末端或輕鏈可變區之各N末端經由胜肽鍵而結合各一價之CD3結合域。又，為了於該抗體構造結合二價之CD3結合域，可於二個輕鏈恆定區之各C末端或輕鏈可變區之各N末端經由胜肽鍵結合二價之scFv即sc(Fv)₂。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體為起源之Fc區域，可以有效取得該抗體構造之二個輕鏈可變區其中之一的輕鏈可變區之C末端或N末端結合有二價之scFv即sc(Fv)₂之多胜肽聯合體。又，為了於該抗體構造結合一價之CD3結合域，可於二個輕鏈可變區其中之一之輕鏈可變區之C末端或N末端經由胜肽鍵結合一價之scFv。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體為起源之Fc區域，可以有效率地取得該抗體構造之二個輕鏈可變區其中之一之輕鏈可變區之N末端或C末端結合有一價之scFv之本發明之多胜肽聯合體。

【0157】 於另一態樣，為了於該抗體構造結合二價之CD3結合域，可於該抗體構造之二個重鏈可變區之各N末端經由胜肽鍵各結合一價之CD3結合域。又，為了於該抗體構造結合二價之CD3結合域，可於二個重鏈可變區其中之一之重鏈可變區之N末端經由胜肽鍵結合二價之scFv即sc(Fv)₂。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體為起源之Fc區域，可以有效率地取得僅於該抗體構造之二個重鏈可變區其中之一之重鏈可變區之N末端結合有二價之scFv即sc(Fv)₂之多胜肽聯合體。又，為了於該抗體構造結合一價之CD3結合域，可於二個重鏈可變區其中之一之重鏈可變區之N末端經由胜肽鍵結合一價之scFv。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體為起源之Fc區域，可以有效率的取得該抗體構造之二

個重鏈可變區其中之一之重鏈可變區之N末端結合有一價之scFv的本發明之多胜肽聯合體。

【0158】 又，製作上述多胜肽聯合體時，各域直接以胜肽鍵結合以外，各域也可經由胜肽連結子以胜肽鍵結合。於該情形採用之連結子，除了上述記載例示之連結子以外，也可適當使用例如具His標籤、HA標籤、myc標籤、FLAG標籤等胜肽標籤之連結子。又，也可適當利用氫鍵、雙硫鍵、共價鍵、離子性交互作用或該等結合的組合而彼此結合之性質。例如，可利用抗體之CH1與CL間之親和性，將異Fc區域組合時使用前述以雙專一性抗體為起源之Fc區域。再者，如實施例所記載，也可適當利用於域間形成之雙硫鍵。

【0159】 本發明之多胜肽聯合體之其他構造，例如也可適當使用(1)抗原結合域為一價之Fv及一價之Fab構造。於該情形，可藉由於構成本發明之多胜肽聯合體之(2)對於Fcγ受體之結合活性降低的二個Fc區域其中之一Fc區域經由胜肽鍵連結的重鏈CH1區域經由胜肽鍵連結一價之Fv中之重鏈Fv片段(VH)或輕鏈Fv片段(VL)，並且於該重鏈CH1區域經由雙硫鍵結合之輕鏈CH區域經由胜肽鍵連結一價之Fv中另一VL或VH片段，使用藉此於重鏈CH1區域及輕鏈CL區域之末端結合之VH及VL形成抗體結合域之構造。二個Fc區域之中上述不同的另一Fc區域之N末端可經由胜肽鍵連結(1)抗體結合域、及(3)形成CD3結合域之sc(Fv)2。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體當做起源之Fc區域，可製作構成該多胜肽聯合體之二個Fc區域其中之一的Fc區域經由胜肽鍵結合有重鏈CH1區域，於另一Fc區域經由胜肽鍵連結有sc(Fv)2的多胜肽聯合體。上述多胜肽聯合體在製作時，各域可以直接胜肽鍵結合，此外各域也可以經由胜肽連結子之胜肽鍵結合。於該情形，採用之連結子除上述記載例示之連結子以外，也可適當使用具例如His標籤、HA標籤、myc標籤、FLAG標籤等胜肽標籤之連結子。

【0160】 本發明之多胜肽聯合體之另一構造，例如宜使用(1) 二價之scFv構造當做抗原結合域。如此構造之態樣，可以製作具以下構造的多胜肽聯合體：二價之scFv其中之一為(3)經由構成CD3結合域之VH而於(2)對於Fc γ 受體之結合活性降低之二個Fc區域其中之一之Fc區域以胜肽鍵連結，並且二價之scFv其中另一者經由(3)構成CD3結合域之VL而以(2) 胜肽鍵連結於對於Fc γ 受體之結合活性降低之二個Fc區域其中另一Fc區域。於該情形，可使用前述以雙專一性抗體當做起源之Fc區域。製作上述多胜肽聯合體時，各域可直接胜肽鍵結合，此外，各域可以經由胜肽連結子之胜肽鍵結合。於該情形，採用之連結子除了上述記載例示之連結子以外，也可適當使用具例如His標籤、HA標籤、myc標籤、FLAG標籤等胜肽標籤之連結子。

【0161】 (1)使用二價之scFv當做抗原結合域之構造之另一態樣，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：二價之scFv其中之一 (3)經由構成CD3結合域之scFv而以胜肽鍵連結於(2)對於Fc γ 受體之結合活性降低之二個Fc區域其中之一之Fc區域，且二價之scFv其中另一者以胜肽鍵連結於(2)對於Fc γ 受體之結合活性降低之二個Fc區域之中另一Fc區域。於該情形，藉由使用前述以雙專一性抗體當做起源之Fc區域，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成該多胜肽聯合體之二個Fc區域其中之一之Fc區域經由構成CD3結合域之scFv經由胜肽鍵連結有構成抗原結合域之scFv，於另一Fc區域以胜肽鍵連結有構成抗原結合域之scFv。製作上述多胜肽聯合體時，各域除以直接胜肽鍵結合以外，各域也可經由胜肽連結子之胜肽鍵結合。於該情形採用之連結子除上述例示之連結子以外，也可適當使用具例如His標籤、HA標籤、myc標籤、FLAG標籤等胜肽標籤之連結子。

【0162】 本發明之多胜肽聯合體之另一構造，例如可適當使用抗原結合域及T細胞受體複合體結合域各為一價之Fab構造者。如此構造之態樣，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成抗原結合域之一價之Fab之重鏈Fv片段經由CH1

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

【0163】 就如此構造之另一態樣而言，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成抗原結合域之一價之Fab之重鏈Fv片段經由CH1區域而連結於構成Fc區域之其中之一之多胜肽、該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結、構成T細胞受體結合域之Fab之輕鏈Fv片段經由CH1區域而連結於構成Fc區域之另一個多胜肽、該Fab之重鏈Fv片段與CL區域連結。又，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成T細胞受體結合域之一價之Fab之重鏈Fv片段經由CH1區域而連結於構成Fc區域之其中之一之多胜肽、該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結、構成抗原結合域之Fab之輕鏈Fv片段經由CH1區域而連結於構成Fc區域之另一個多胜肽、該Fab之重鏈Fv片段與CL區域連結。

【0164】 再者，如此構造之另一態樣，可製作具以下構造之多胜肽聯合體：構成抗原結合域之一價之Fab之重鏈Fv片段經由CH1區域而連結於構成Fc區域之其中之一之多胜肽、該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結、構成T細胞受體結合域之Fab之重鏈Fv片段經由CL區域而連結於構成Fc區域之另一個多胜肽、該Fab之輕鏈Fv片段與CH1區域連結。又，可製作具以下構造的多胜肽聯合體：構成T細胞受體結合域之一價之Fab之重鏈Fv片段經由CH1區域而連結於構成Fc區域之其中之一之多胜肽、該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結、構成抗原結合域之Fab之重鏈Fv片段經由CL區域而連結於構成Fc區域之另一個多胜肽、該Fab之輕鏈Fv片段與CH1區域連結。

【0165】 本發明之多胜肽聯合體之其他構造、抗原結合域及T細胞受體複合體結合域各為一價之Fab構造之一態樣，較佳為如下的多胜肽，包含：

(1) 抗原結合域，其係與抗原結合之一價之Fab構造之重鏈Fv片段經由CH1

區域而連結於構成前述Fc區域之其中之一之多胜肽、該Fab構造之輕鏈Fv片段與CL區域連結，及

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

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

【0166】 該組合控制構造之一態樣，可製作該T細胞受體複合體結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷之多胜肽聯合體。

【0167】 該組合控制構造之另一態樣，可製作該抗原結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及T細胞受體複合體結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷之多胜肽聯合體。

【0168】 該組合控制構造之又另一態樣，可製作該T細胞受體複合體結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且抗原結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及T細胞受體複合體結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷之多胜肽聯合體。

【0169】 又，該組合控制構造之一態樣，可製作該T細胞受體複合體結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈Fv

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

【0170】 又，該組合控制構造之另一態樣，可製作該T細胞受體複合體結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該T細胞受體複合體結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該T細胞受體複合體結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該T細胞受體結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具有異種電荷之多胜肽聯合體。

【0171】 又，該組合控制構造之一態樣可製作該抗原結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該T細胞受體複合體結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具異種電荷之多胜肽聯合體。

【0172】 再者，該組合控制構造之另一態樣，可製作該T細胞受體複合體結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該T細胞受體複合體結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具同種電荷，且該抗原結合域中之重鏈Fv片段所連結之CH1區域之胺基酸殘基及該抗原結合域中之輕鏈Fv片段所連結之CL區域之胺基酸殘基彼此具異種電荷之多胜肽聯合體。

【0173】 又，就該組合控制構造之不同態樣，可製作該T細胞受體複合體

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

【0174】 CH1區域與CL區域之電荷之控制

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

【0175】 於此情形，例如若控制使抑制T細胞受體結合域之重鏈與抗原結合域之輕鏈及/或抗原結合域之重鏈與T細胞受體結合域之輕鏈間之組合，則可優先取得所望之多胜肽聯合體分子。

【0176】 例如，將形成T細胞受體結合域之重鏈CH1與抗原結合域之輕鏈CL間之界面的胺基酸殘基改變為具正電荷之胺基酸殘基，將形成抗原結合域之重鏈CH1與T細胞受體結合域之輕鏈CL間之界面的胺基酸殘基改變為具負電荷之胺基酸殘基之例。藉由該改變，由於非目的之T細胞受體結合域之重鏈CH1與抗原結合域之輕鏈CL之組合，由於形成界面之胺基酸殘基均為正電荷故受抑制，非目的之抗原結合域之重鏈CH1與T細胞受體結合域之輕鏈CL之組合，由於形成界面之胺基酸殘基均為負電荷故受抑制。其結果，可以有效率地取得產生目的之T細胞受體結合域之重鏈CH1與T細胞受體結合域之輕鏈CL之組合及目的

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

【0177】 又，藉由利用本發明之組合控制，可抑制CH1彼此(T細胞受體結合域之重鏈與抗原結合域之重鏈)、或CL彼此(T細胞受體結合域之輕鏈與抗原結合域之輕鏈)之組合。

【0178】 若為該技術領域之人士，可針對欲以本發明控制組合之所望多胜肽聯合體，適當知曉組合時接近CH1與CL之界面的胺基酸殘基的種類。

【0179】 又，該技術領域之人士可以利用公共的資料庫適當取得人類、猴、小鼠及兔等生物中可利用為抗體之CH1或CL的序列。更具體而言，可以後述實施例記載之手段取得CH1或CL之胺基酸序列資訊。

【0180】 例如，如後述實施例所示，當T細胞受體結合域或構成抗原結合域之VH及VL所分別連結之CH1與CL組合時，接近(相對或接觸)CH1與CL之界面的胺基酸殘基，就具體例而言例如以下組合。

- CH1之EU編號147位(例如序列編號：1記載之胺基酸序列中的147位)之離胺酸(K)，及相對(接觸)之CL之EU編號180位之蘇胺酸(T)

- CH1之EU編號147位之離胺酸(K)、與相對(接觸)之CL之EU編號131位之絲胺酸(S)

- CH1之EU編號147位之離胺酸(K)、與相對(接觸)之CL之EU編號164位之蘇胺酸(T)

- CH1之EU編號147位之離胺酸(K)、與相對(接觸)之CL之EU編號138位之天

冬醯胺(N)

・ CH1之EU編號147位之離胺酸(K)・與相對(接觸)之CL之EU編號123位之麩胺酸(E)

・ CH1之EU編號175位之麩醯胺(Q)・與相對(接觸)之CL之EU編號160位之麩醯胺(Q)

・ CH1之EU編號213位之離胺酸(K)・與相對(接觸)之CL之EU編號123位之麩胺酸(E)

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

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

【0181】 如後述實施例所示，藉由改變該等胺基酸殘基並實施本發明之方法，可優先取得所望之多胜肽聯合體。

【0182】 該等胺基酸殘基已知在人類及小鼠係高度保守 (J. Mol. Recognit. (2003) 16, 113-120)，故針對實施例所示之多胜肽聯合體以外之CH1與CL之組合，也可藉由改變對應於上述胺基酸殘基之胺基酸殘基，而控制本發明之多胜肽聯合體之恆定區之組合。

【0183】 即本發明提供一種多胜肽聯合體，其係重鏈與輕鏈之組合受控制之多胜肽聯合體，且由以下(a)～(f)所示胺基酸殘基之組合構成的群組中選出的1組或2組以上的胺基酸殘基具同種電荷；

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

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

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

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

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

(f)CH1所含之胺基酸殘基且EU編號175位之胺基酸殘基、及CL所含之胺基酸殘基且為EU編號160位之胺基酸殘基。

【0184】 本發明之另一態樣提供一種抗體，其中，以下(g)所示之胺基酸殘基之組合的胺基酸殘基具同種電荷；

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

【0185】 上述組合記載之各胺基酸殘基，如後述實施例所示，在組合時彼此係接近。該技術領域之人士可針對所望之CH1或CL，使用市售軟體的同源性模擬(homology modeling)等，可以發現上述(a)～(g)記載之胺基酸殘基所對應之部位，並適當改變該部位之胺基酸殘基。

【0186】 上述抗體中「具電荷之胺基酸殘基」，例如從以下(X)或(Y)任一群組所含之胺基酸殘基中選出較佳；

(X)麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)、

(Y)離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

【0187】 上述多胜肽聯合體中，「具同種電荷」，係指例如2個以上之胺基酸殘基中任一者具上述(X)或(Y)中任一群組所含之胺基酸殘基。「具相反電

荷」，係指例如2個以上之胺基酸殘基當中至少1個胺基酸殘基具有上述(X)或(Y)中任一群組所含之胺基酸殘基時，另一胺基酸殘基具有不同群組所含之胺基酸殘基。

【0188】 又，上述多胜肽聯合體之製造方法、及改變使上述(a)~(g)所示胺基酸殘基之群組之胺基酸殘基為具同種電荷之胺基酸殘基之本發明之組合控制方法亦為本發明之較佳態樣。

【0189】 本發明中，供「改變」之胺基酸殘基，不限於上述恆定區之胺基酸殘基。若為該技術領域之人士，可針對多胜肽突變體或異種多聚體，使用市售軟體之同源性模擬，發現形成界面之胺基酸殘基，並以控制組合之方式改變該部位之胺基酸殘基。

【0190】 於在重鏈可變區與輕鏈可變區之界面導入電荷排斥而抑制非目的之重鏈與輕鏈之組合的技術，於重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)之界接觸之胺基酸殘基，例如重鏈可變區FR2之39位(例如WO2006/106905中記載為序列編號：6之胺基酸序列中的39號)之麩醯胺(Q)、及相對(接觸)之輕鏈可變區FR2之38位(例如WO2006/106905中記載為序列編號：8之胺基酸序列的44號)之麩醯胺(Q)。再者，重鏈可變區FR2之45位(例如WO2006/106905中記載為序列編號：6之胺基酸序列中的45號)之白胺酸(L)、與相對之輕鏈可變區FR2之44位(例如WO2006/106905中記載為序列編號：8之胺基酸序列中的50號)之脯胺酸(P)為理想例。又，針對該等部位之編號法，係參考Kabat等人的文獻(Kabat EA et al. 1991. Sequence of Proteins of Immunological Interest. NIH)。

【0191】 該等胺基酸殘基已知於人類及小鼠係高度保守 (J. Mol. Recognit. (2003) 16, 113-120)，故針對實施例所示之多胜肽聯合體以外之VH與VL之組合，也可藉由改變上述胺基酸殘基所對應的胺基酸殘基，而控制抗體之可變區之組合。

【0192】 更具體而言，含重鏈可變區及輕鏈可變區之抗體中，可獲以下(1)與(2)、或(3)與(4)之胺基酸殘基為具同種電荷之胺基酸殘基的抗體；

- (1)為重鏈可變區所含之胺基酸殘基且為相當於EU編號39位之胺基酸殘基、
- (2)為輕鏈可變區所含之胺基酸殘基且為相當於EU編號38位之胺基酸殘基、
- (3)為重鏈可變區所含之胺基酸殘基且為相當於EU編號45位之胺基酸殘基、
- (4)為輕鏈可變區所含之胺基酸殘基且為相當於EU編號44位之胺基酸殘基。

【0193】 上述(1)與(2)、(3)與(4)記載之各胺基酸殘基在組合時彼此係接近。該技術領域之人士針對所望之重鏈可變區或輕鏈可變區，可使用市售軟體的同源性模擬，而找出上述(1)～(4)記載之胺基酸殘基所對應的部位，並適當改變該部位之胺基酸殘基。

【0194】 上述抗體中，「具電荷之胺基酸殘基」，例如從以下(X)或(Y)中任一群組所含之胺基酸殘基選擇較佳；

- (X)麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)、
- (Y)離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

- 【0195】 上述(1)～(4)記載之胺基酸殘基，通常在人類及小鼠中分別為
- (1)麩醯胺(Q)、
 - (2)麩醯胺(Q)、
 - (3)白胺酸(L)、
 - (4)脯胺酸(P)

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

於該位置之胺基酸殘基之種類，並適當針對該胺基酸殘基進行改變(例如取代為電荷胺基酸)。

【0196】 於將重鏈可變區與輕鏈可變區之界面存在之形成疏水性核的胺基酸殘基改變為具電荷之極性胺基酸，並抑制非目的之重鏈與輕鏈之組合之技術，就在重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)之界面可形成疏水性核之胺基酸殘基而言，例如重鏈可變區上之45位之白胺酸(L)、與相對之輕鏈可變區上之44位之脯胺酸(P)為理想例。

【0197】 一般而言，「疏水性核(hydrophobic core)」，係指在組合的多胜肽的內側聚集疏水性胺基酸之側鏈而形成之部分。疏水性胺基酸例如包含丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、纈胺酸等。又，疏水性核之形成，有時會與疏水性胺基酸以外之胺基酸殘基(例如酪胺酸)相關。該疏水性核與親水性胺基酸之側鏈露於外側的親水性表面，一起成為促進水溶性多胜肽組合之驅動力。若有不同的2個域的疏水性胺基酸存在分子表面並暴露於水分子，則熵(Entropy)增大，自由能增大。因此，為了使2個域的自由能減少並穩定化，會彼此組合，且界面之疏水性胺基酸會埋入分子內部，而形成疏水性核。

【0198】 發生多胜肽組合時，藉由將形成疏水性核之疏水性胺基酸改變為帶電荷之極性胺基酸，可抑制疏水性核形成，其結果據認為將會抑制多胜肽之組合。

【0199】 本發明之多胜肽聯合體可以更適用其他公知技術。例如以促進第一VH(VH1)與第一VL(VL1)、及/或第二VH(VH2)與第二VL(VL2)之組合之方式，除了本發明之「改變」，再將其中一H鏈之可變區存在之胺基酸側鏈取代為較大側鏈(knob; 突起)，並將另一H鏈之相對可變區存在之胺基酸側鏈取代為較小側鏈(hole; 空隙)，藉此將突起配置於空隙，而促進VH1與VL1、及/或VH2與VL2

之組合，其結果可進一步抑制VH1與VL2、及/或VH2與VL1之多胜肽間之組合(WO1996/027011、Ridgway JB et al., Protein Engineering (1996) 9, 617-621、Merchant AM et al. Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681)。

【0200】 製作上述多胜肽聯合體時，除了將各域直接以胜肽鍵結合以外，也可將各域以經由胜肽連結子之胜肽鍵結合。於該情形，採用之連結子除了上述例示之連結子以外，可以適當使用具例如His標籤、HA標籤、myc標籤、FLAG標籤等胜肽標籤之連結子。又，氫鍵、雙硫鍵、共價鍵、離子性交互作用或該等結合的組合而彼此結合之性質也可適當利用。例如可利用抗體之CH1與CL間之親和性，或於異Fc區域之組合時使用前述以雙專一性抗體當做起源之Fc區域。再者，如實施例所記載，域間形成之雙硫鍵也可適當利用。

【0201】 本發明之多胜肽聯合體，例如圖17、圖19及圖24記載之態樣。

【0202】 本發明之多胜肽聯合體可依照與前述重組抗體之製造方法相同手法製作。

【0203】 又，本發明係關於編碼為本發明之多胜肽聯合體之聚核苷酸。本發明之多胜肽聯合體可以納入任意的表現載體。於表現載體將適當寄主轉形，可製成多胜肽聯合體之表現細胞。培養多胜肽聯合體之表現細胞，並從培養上清液回收表現產物，則可與得該聚核苷酸所編碼之多胜肽聯合體。即本發明係關於含編碼為本發明之多胜肽聯合體之聚核苷酸的載體、保持該載體之細胞、及包含培養該細胞並從培養上清液回收多胜肽聯合體之步驟的多胜肽聯合體之製造方法。該等可以依照與例如前述重組抗體為同樣的手法獲得。

【0204】 醫藥組成物

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

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

【0205】 又，本發明中，包含

(1)抗原結合域、

(2)含對於Fc γ 受體之結合活性降低之Fc區域之域、及

(3)CD3結合域、

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

【0206】 本發明中，「包含(1)抗原結合域、(2)含對於Fc γ 受體之結合活性降低之Fc區域之含、及(3)CD3結合域、之多胜肽聯合體為有效成分」，係指含有該多胜肽聯合體當做主要的活性成分，並不限制該多胜肽聯合體之含有率。

【0207】 再者，本發明之醫藥組成物、或細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑中，可視需要摻合多種類之多胜肽聯合體。例如利用製成與相同抗原結合之多數之本發明之多胜肽聯合體之雞尾酒，有可能強化對於表現該抗原之細胞的細胞傷害作用。或除了含有對於一個抗原之抗原結合域的本發明之多胜肽聯合體以外，更摻合含有其他與癌抗原結合之抗原結合域的本發明之多胜肽聯合體，可提高治療效果。

【0208】 又，視需要可將本發明之多胜肽聯合體包封入微膠囊(經基甲基纖維素、明膠、聚[甲基甲基丙烯酸]等微膠囊)、膠體藥劑運送系(微脂體、白蛋白微球體、微乳劑、奈米粒子及奈米膠囊等)(參照"Remington's Pharmaceutical

Science 16th edition", Oslo Ed. (1980)等)。再者，藥劑製成緩釋性藥劑之方法亦為公知，該方法可適用在本發明之多胜肽聯合體(J.Biomed.Mater.Res. (1981) 15, 267-277、Chemtech. (1982) 12, 98-105、美國專利第3773719號、歐洲專利公開公報EP58481號、EP133988號、Biopolymers (1983) 22, 547-556)。

【0209】 本發明之醫藥組成物、或細胞增殖抑制劑及抗癌劑，可經口、非經口投予任一者對於患者投予。較佳為非經口投予。該投予方法具體而言例如注射投予、經鼻投予、經肺投予、經皮投予等。注射投予例如靜脈內注射、肌肉內注射、腹腔內注射、皮下注射等。例如以注射投予可將本發明之醫藥組成物、或細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑全身或局部投予。又，可依患者年紀、症狀選擇適當投予方法。投予量例如一次投予體重每1 kg可從0.0001 mg至1000 mg之範圍選擇投予量。或，可從例如每位患者在0.001 mg/體重至100000 mg/體重的範圍選擇投予量。但是本發明之醫藥組成物不限於該等投予量。

【0210】 本發明之醫藥組成物可依常法製劑化（例如 Remington's Pharmaceutical Science, latest edition, Mark Publishing Company, Easton, U.S.A），也可同時含有醫藥上可容許之擔體或添加物。例如界面活性劑、賦形劑、著色料、著香料、保存料、安定劑、緩衝劑、懸浮劑、等張化劑、黏結劑、崩散劑、潤滑劑、流動性促進劑、矯味劑等。又，不限於該等，可適當使用其他常用的擔體。具體而言，例如：輕質矽酸酐、乳糖、結晶纖維素、甘露醇、澱粉、羧甲纖維素鈣、羧甲纖維素鈉、羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、聚乙烯縮醛二乙基胺基乙酸酯、聚乙烯吡咯烷酮、明膠、中鏈脂肪酸三甘油酯、聚氧乙烯硬化蓖麻子油60、白糖、羧甲纖維素、玉米澱粉、無機鹽類等可當做擔體。

【0211】 又，本發明提供藉由使某癌抗原表現細胞與與該癌抗原結合之本發明之多胜肽聯合體接觸，引起該癌抗原表現細胞之傷害之方法、或抑制細胞

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

【0212】 本發明中，「接觸」係藉由在例如試驗管內培養之癌抗原表現細胞之培養液中添加該與癌抗原結合之本發明之多胜肽聯合體而實行。於該情形，添加之多胜肽聯合體之形狀，可適當使用溶液或由冷凍乾燥等獲得之固體等形狀。以水溶液添加時，可為純粹僅含本發明之多胜肽聯合體之水溶液，也可為含例如上述記載之界面活性劑、賦形劑、著色料、著香料、保存料、安定劑、緩衝劑、懸浮劑、等張化劑、黏結劑、崩散劑、潤滑劑、流動性促進劑、矯味劑等之溶液。添加濃度不特別限定，就培養液中之最終濃度而言，較佳為1 pg/ml至1 g/ml之範圍，更佳為1 ng/ml至1 mg/ml，又更佳為於1 μg/ml至1 mg/ml。

【0213】 又，本發明中，「接觸」在另一態樣中，也可藉由對於將癌抗原表現細胞移植到體內之非人類動物，或內在具表現該癌抗原之癌細胞的動物投予而實行。投予方法可以利用經口、非經口投予任一者實施。特佳為非經口投予的投予方法，該投予方法具體而言，例如注射投予、經鼻投予、經肺投予、經皮投予等。注射投予如靜脈內注射、肌肉內注射、腹腔內注射、皮下注射等。例如利用注射投予可將本發明之醫藥組成物、或細胞傷害誘導治療劑、細胞增殖抑制劑及抗癌劑對全身或局部投予。又，可由待驗動物年紀、症狀選擇適當投予方法。以水溶液投予時，可為純粹僅含本發明之多胜肽聯合體之水溶液，也可為含有例如上述記載之界面活性劑、賦形劑、着色料、着香料、保存料、

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

【0214】 由於本發明之多胜肽聯合體之接觸引起表現構成該多胜肽聯合體之抗原結合域所結合之抗原的細胞中的細胞傷害的評價或測定方法，可適當使用以下方法。就於試管內評價或測定該細胞傷害活性之方法而言，例如細胞傷害性T細胞活性等測定法。本發明之多胜肽聯合體是否具T細胞性傷害活性，可以利用公知方法測定(例如 Current protocols in Immunology, Chapter 7. Immunologic studies in humans, Editor, John E, Coligan et al., John Wiley & Sons, Inc.,(1993)等)。活性測定時，使用與本發明其抗原結合域所結合之抗原為不同之抗原且與試驗使用之細胞未表現之抗原結合之多胜肽聯合體，與本發明之多胜肽聯合體同樣當做對照，藉由本發明之多胜肽聯合體比起當做對照使用之多胜肽聯合體顯示較強細胞傷害活性，可以判定活性。

【0215】 又，為了於活體內評價或測定細胞傷害活性，例如將表現構成本發明之多胜肽聯合體之抗原結合域所結合之抗原的細胞，移植到非人類待驗動物之皮內或皮下後，於當日或次日起每日或數日間隔將待驗多胜肽聯合體對於靜脈或腹腔內投予。藉由經日測定腫瘤大小，可以將該腫瘤大小的變化的差異規定為細胞傷害活性。與試管內的評價同樣投予成為對照之多胜肽聯合體，本發明之多胜肽聯合體之投予群中，腫瘤大小比起對照多胜肽聯合體之投予群中之腫瘤大小顯著為小時，可判定具細胞傷害活性。

【0216】 本發明之多胜肽聯合體之接觸對於表現構成該多胜肽聯合體之抗原結合域所結合之抗原的細胞增殖的抑制效果其評價或測定方法，可理想地使用經放射線同位素標定的胸腺嘧啶攝入細胞之測定或MTT法。又，就評價或

測定於活體內之細胞增殖抑制活性的方法而言，可以理想地使用與上述記載於活體內評價或測定細胞傷害活性之方法為相同之方法。

【0217】 又，本發明提供用於在本發明之方法使用的套組，其包含本發明之多胜肽聯合體或依照本發明之製造方法製造之多胜肽聯合體。該套組中可以更包裝有藥學上可容許之擔體、介質、記載使用方法之指示書等。

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

【0218】 又，本說明書引用的所有先前技術文獻，當做參照納入於本說明書。

[實施例]

【0219】 以下以實施例更詳細說明本發明，但該等實施例並不限制本發明之範圍。

【0220】 [實施例1]GPC3 ERY2之製作與探討

(1)大概內容

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

(圖17C)。又，製作當做比較之通常之IgG型抗GPC3抗體。此時，將IgG型抗GPC3抗體製作為已知ADCC活性會更增強，製作糖鏈部分的岩藻醣含量減低之抗體、亦即低岩藻醣型抗體。

【0221】 (2)GPC3 BiTE之製作

藉由以抗GPC3抗體之表現載體當做模板，各取得以PCR法之放大之編碼為H鏈可變區(anti-GPC3 VH)、L鏈可變區(anti-GPC3 VL)的cDNA。以附加有適當序列之引子及該cDNA為模板的PCR法，製作編碼為具將anti-GPC3 VH與anti-GPC3 VL以重複Gly·Gly·Gly·Gly·Ser(序列編號：7)3次之序列構成的連結子連結的胺基酸序列的anti-GPC3 scFv的cDNA片段。

【0222】 又，製作具有編碼為抗CD3抗體(M12)之H鏈可變區(M12 VH)、及L鏈可變區(M12 VL)之部分序列之鹼基序列，且其末端序列具互補序列之一連串的寡核苷酸。利用聚合酶反應設計使該等一連串寡核苷酸經由其互補序列部分而連結，且合成相當於該H鏈可變區(M12 VH)、及L鏈可變區(M12 VL)之聚核苷酸。將該寡核苷酸混合後，以PCR法將該等寡核苷酸連結，取得編碼為各可變區之胺基酸序列之2條cDNA。使用以附加有適當的序列之引子及該等cDNA為模板的PCR法，製作編碼為具將M12 VL與M12 VH以具有重複Gly·Gly·Gly·Gly·Ser(序列編號：7) 3次之序列構成的連結子連結的胺基酸序列的編碼為M12 scFv的cDNA片段。

【0223】 其次，以加成有適當序列之引子及各編碼為anti-GPC3 scFv與M12 scFv之cDNA片段為模板的PCR法，製作將anti-GPC3 scFv與M12 scFv以Gly·Gly·Gly·Gly·Ser序列(序列編號：7)構成之連結子連結，並且編碼為其C末端加成有His標籤(8個His)之(不含於序列編號：33記載之胺基末端之19個胺基酸)胺基酸序列的cDNA片段。

【0224】 藉由以附加適當序列之引子及以編碼為序列編號：33記載之胺基

末端之19個胺基酸以外的胺基酸序列的cDNA片段當做模板的PCR法，製作於該cDNA片段之5'側附加編碼為EcoRI切斷序列、kozac序列、及分泌信號序列之鹼基序列，並於其3'側附加有Not I切斷序列之cDNA片段。將該cDNA片段以EcoRI、NotI切斷，並納入哺乳動物細胞用表現載體，取得GPC3 BiTE(序列編號：33、信號序列胺基末端19個胺基酸不包含在成熟序列)之表現載體。

【0225】 將該載體以電穿孔法對於CHO細胞DG44株進行基因導入。極限稀釋後，於1 mg/mL Geneticine存在下培養經基因導入之細胞，藉此單離藥劑耐受性細胞株。使用對於His標籤之抗體，對於獲得之細胞株之培養上清液進行西方墨點解析，藉此選擇表現GPC3 BiTE之細胞株。

【0226】 將前述細胞株大量培養所得之培養上清液添加到SP Sepharose FF管柱(GE Healthcare公司)。洗滌該管柱後，將含GPC3 BiTE之級分利用NaCl之濃度梯度溶出。再將該級分添加到HisTrap HP管柱(GE Healthcare公司)。將該管柱洗滌後，利用咪唑的濃度梯度溶出含GPC3 BiTE之級分。將該級分以超過濾膜濃縮後，將濃縮液添加到Superdex 200管柱(GE Healthcare公司)。藉由僅回收單體之GPC3 BiTE級分，獲得精製GPC3 BiTE。

【0227】 (3)GPC3 ERY2之製作

以使用與上述方法同樣附加適當序列之引子的PCR法、及使用QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit(Stratagene公司)之方法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各表現GPC3 ERY2_Hk(序列編號：34、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、及GPC3 ERY2_Hh(序列編號：35、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的表現載體。

【0228】 將該等表現載體同時導入FreeStyle293-F細胞(Invitrogen公司)，暫時表現GPC3 ERY2。將獲得之培養上清液添加到Anti FLAG M2管柱(Sigma公司)，洗滌該管柱後，實施利用0.1 mg/mL FLAG胜肽(Sigma公司)之溶出。將含

GPC3 ERY2之級分添加到HisTrap HP管柱(GE Healthcare公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度之溶出。將含GPC3 ERY2之級分以超過濾膜濃縮後，將濃縮液添加到Superdex 200管柱(GE Healthcare公司)，藉由僅回收該溶出液之單體之GPC3 ERY2級分，而獲得精製GPC3 ERY2。

【0229】 (4)低岩藻糖型抗GPC3抗體之製作

將抗GPC3抗體(WO2006/006693中記載為人類化GC33抗體)之表現載體利用電穿孔法對於GDP岩藻糖剔除CHO細胞DXB11株(Cancer Sci. (2010) 101(10), 2227-33)進行基因導入。極限稀釋後於0.5 mg/mL Geneticine存在下培養，以選擇藥劑耐受性株，獲得低岩藻糖型抗GPC3抗體表現株。從培養該細胞並製備之培養上清液，利用使用Hitrap^(R) ProteinA (Pharmacia公司)之通常之親和性精製，製備抗體級分。其次，將該抗體級分供應使用Superdex 20026/60(Pharmacia公司)之凝膠過濾精製，分取溶出液之單體級分，藉此獲得低岩藻糖型GPC3抗體。

【0230】 (5)使用人類末梢血單核球之細胞傷害活性之測定

(5-1)人類末梢血單核球(PBMC)溶液之製備

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

【0231】 (5-2)細胞傷害活性之測定

細胞傷害活性係以使用xCELLigence即時細胞分析儀 (Roche diagnostics公

司)之細胞增殖抑制率評價。標的細胞使用使SK-HEP-1細胞株強制表現人類GPC3而樹立之SK-pca13a細胞株。將SK-pca13a從培養皿剝離，接種100 μ L/井在E-Plate 96(Roche diagnostics公司)平板，使成為1 $\times$ 10⁴ cells/井，並使用xCELLigence即時細胞分析儀開始測定活細胞。隔日從xCELLigence即時細胞分析儀取出平板，於該平板添加製備為各濃度(0.004、0.04、0.4、4 nM)之各抗體50 μ L。於室溫反應15分鐘後，添加於(5-1)製備之人類PBMC溶液50 μ L(2 $\times$ 10⁵ cells/井)，於xCELLigence即時細胞分析儀再度放置該平板，開始測定活細胞。反應係於5%二氧化碳、37 $^{\circ}$ C條件下進行，從添加人類PBMC 72小時後之細胞指數值，以下式求取細胞增殖抑制率(%)。又，計算使用之細胞指數值，係指常態化使即將抗體添加前之細胞指數值成為1後之數值。

【0232】 細胞增殖抑制率(%)=(A-B) $\times$ 100/(A-1)

【0233】 A為未添加抗體之井中的細胞指數值之平均值(僅有標的細胞與人類PBMC)，B代表各井中之細胞指數值之平均值。試驗進行三重複。

【0234】 以從人類血液製備的PBMC(Peripheral Blood Mononuclear Cell)當做效應子細胞，測定GPC3 BiTE、GPC3 ERY2、及IgG型GPC3抗體之細胞傷害活性，結果認為GPC3 BiTE具有極強活性(圖1)。該活性遠比低岩藻糖型抗GPC3抗體強，可認為GPC3 BiTE可成為凌駕IgG型抗體之優良的癌治療藥。另一方面，GPC3 ERY2雖觀察到高於IgG型抗GPC3抗體之活性，但是不及GPC3 BiTE之活性。由此，可認為僅是將Fc附加於BiTE，並無法創製目的之分子。

【0235】 [實施例2]GPC3 ERY5、GPC3 ERY6、GPC3 ERY7之製作與碳討
其次，藉由使對於癌抗原(GPC3)之結合域為2價，嘗試藉由提高對於癌細胞之結合活性以提高比活性。分別製作於GPC3 ERY2更附加1個對抗GPC3之scFv之形式的GPC3 ERY5(圖17D)、附加之對抗GPC3之結合域不是scFv而是Fab形式之GPC3 ERY7(圖17F)。又，也製作對抗GPC3 ERY5之CD3 epsilon的scFv係兩臂

分離之形式的GPC3 ERY6(圖17E)。

【0236】 亦即，依照使用與上述方法同樣附加適當序列之引子的PCR法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各編碼為GPC3 ERY5_Hh、GPC3 ERY6_Hk、GPC3 ERY6_Hh、GPC3 ERY7_Hh、GPC3 ERY7_L之聚核苷酸的一連串表現載體。

【0237】 將以下所示組合之表現載體導入FreeStyle293-F細胞，使各目的分子暫性表現。

【0238】 A・目的分子：GPC3 ERY5

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

【0239】 B・目的分子：GPC3 ERY6

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

【0240】 C・目的分子：GPC3 ERY7

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

【0241】 將獲得之培養上清液添加到Anti FLAG M2管柱(Sigma公司)，洗滌該管柱後，進行以0.1 mg/mL FLAG胜肽(Sigma公司)所為之溶出。將含目的分子之級分添加到HisTrap HP管柱(GE Healthcare公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度所為之溶出。將含目的分子之級分以超過濾膜濃縮後，將該級分添加到Superdex 200管柱(GE Healthcare公司)，藉由僅回收溶出液之單體級分，獲得經精製之各目的分子。

【0242】 比較該等多胜肽聯合體與GPC3 BiTE的細胞傷害活性。其結果顯示，該等多胜肽聯合體之細胞傷害活性均不及GPC3 BiTE之活性 (圖2~4)。由此，可認為:僅對於BiTE之構造、或模仿其之構造附加Fc，並對於癌抗原以2價結合之構成，無法創製目的之分子。

【0243】 [實施例3]GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1之製作與探討

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

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

【0244】 亦即，依照與上述方法附加同樣的適當序列之PCR法等該技術領域之人士公知之方法製作各插入有編碼為GPC3 ERY8-2_Hk(序列編號：41、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY8-2_Hh(序列編號：42、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY9-1_H(序列編號：43、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY9-1_L-His(序列編號：44、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY9-1_L-FLAG(序列編號：45、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY10-1_Hh(序列編號：46、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

【0245】 將以下所示組合之表現載體導入於FreeStyle293-F細胞，使各目的分子暫時性表現。

【0246】 D · 目的分子：GPC3 ERY8-2

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

【0247】 E · 目的分子：GPC3 ERY9-1

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

【0248】 F · 目的分子：GPC3 ERY10-1

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

【0249】 將獲得之培養上清液添加到Anti FLAG M2管柱(Sigma公司)，洗滌該管柱後，實施以0.1 mg/mL FLAG胜肽(Sigma公司)所為之溶出。將含目的分子之級分添加到HisTrap HP管柱(GE Healthcare公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度所為之溶出。將含目的分子之級分超過濾而濃縮後，將該級分添加到Superdex 200管柱(GE Healthcare公司)，藉由僅回收溶出液之單體級分，獲得經精製之各目的分子。

【0250】 針對該等分子，調查體外(in vitro)的細胞傷害活性，結果任一分子均明確顯示與GPC3 BiTE為同等以上之細胞傷害活性(圖5)。尤其，GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1明顯認為高於GPC3 BiTE之細胞傷害活性。本發明中，即使在對抗癌抗原之IgG加成對於CD3 epsilon之scFv的分子中，也會具有與BiTE同等以上之細胞傷害活性之情事，係首次明白的。尤其，如 GPC3 ERY9-1、GPC3

ERY10-1般之對於癌抗原之結合域與對於CD3 epsilon之結合域間的距離大的分子中，觀察到比起BiTE明顯為強之細胞傷害活性係料想外之結果。

【0251】 (2)GPC3 ERY8-2、及、GPC3 ERY10-1之體內(in vivo)藥效之評價：

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

【0252】 亦即，利用PC-10 pre-mix模型之GPC3 ERY8-2的藥效試驗中，實施如下之試驗。將從健康正常人自願者抽取之血液分離的PBMC，使用CD56 MicroBeads, human (MCAS Miltenyi biotec公司)去除NK細胞。將人類肺扁平上皮癌細胞株PC-10(免疫生物研究所) 5×10^6 細胞、與NK細胞已除去之人類PBMC 4.5×10^6 細胞、及Matrigel基底膜基質 (BD公司)混合，移植到NOD scid小鼠(日本Claire、雌、7W)之鼠蹊部皮下。以移植之日當做day 0。於對於小鼠移植之前日，以0.2 mg/隻對於腹腔內投予抗Asialo GM1抗體(和光純藥)。移植2小時後將GPC ERY8-2以30 μ g/隻進行腹腔內投予。GPC ERY8-2之投予於day 0~4之期間共計進行5次。

【0253】 又，於利用PC-10 pre-mix模型之GPC3 ERY10-1之藥效試驗中，實施如下之試驗。從健康正常人自願者抽取之血液所分離之PBMC，使用CD56 MicroBeads, human (MACS Miltenyi biotec公司)去除NK細胞。將人類肺扁平上皮癌細胞株PC-10(免疫生物研究所) 5×10^6 細胞、與NK細胞已除去之人類PBMC 4.5×10^6 細胞、及Matrigel基底膜基質 (BD公司)混合，移植到NOD scid小鼠(日本Claire、雌、7W)之鼠蹊部皮下。以移植之日當做day 0。於對於小鼠移植之前日，以0.2 mg/隻對於腹腔內投予抗Asialo GM1抗體(和光純藥)。移植2小時後將GPC

ERY10-1以30 μ g/隻進行腹腔內投予。GPC ERY10-1之投予於day 0~4、day 7~11、day 14~16之期間共計進行13次。

【0254】 其結果，於GPC3 ERY8-2、或GPC3 ERY10-1投予群，比起對照溶媒(PBS)投予群，明顯地腫瘤增殖受抑制(圖6及7)。

【0255】 又，於其他模型中，係實施GPC3 ERY10-1所致之體內藥效之評價。亦即，於已形成經移植之由PC-10所致腫瘤的NOD scid小鼠，移入於體外培養人類PBMC而使增殖之T細胞。對於該小鼠實施利用投予GPC3 ERY10-1所為之治療(稱為T細胞移入模型)。

【0256】 亦即，於利用PC-10 T細胞移入模型之GPC3 ERY10-1之藥效試驗中，進行如下試驗。將從健康常正人自願者抽取之血液分離之PBMC及T cell activation/ expansion kit/ human(MACS Miltenyi biotec公司)，進行T細胞之擴大培養。混合人類肺扁平上皮癌細胞株PC-10(免疫生物研究所) 1×10^7 細胞、與Matrigel基底膜基質(BD公司)，移植到NOD scid小鼠(日本Claire、雌、7W)之鼠蹊部皮下。以移植之日當做day 0。於對於小鼠移植之前日及day 6、8、12、16、20，以0.2 mg/隻對於腹腔內投予抗Asialo GM1抗體(和光純藥)。移植後第6日，依腫瘤大小及體重實施分群後，將由前述擴大培養獲得之T細胞以 1×10^7 細胞/隻移植到腹腔內。自其後2小時後起，將GPC ERY10-1以30 μ g/隻進行腹腔內投予。GPC ERY10-1之投予於day 7、8、12、16、17共計進行5次。

【0257】 其結果，於該模型亦認為，於GPC3 ERY10-1投予群比起溶媒投予群明顯認為有抗腫瘤作用(圖8)。

【0258】 由以上顯示:以具有靜默型Fc之IgG當做基本骨架並於其附加1個對抗CD3 epsilon之抗體之scFv之形式的一連串分子，於體內明顯發揮抗腫瘤效果。

【0259】 (3)血漿中滯留性之評價

第 84 頁，共 101 頁(發明說明書)

2125-12026AA-PF

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

【0260】 亦即實施如下之PK解析試驗。以30 μ g/隻對於NOD scid小鼠(日本 Claire、雌、8W)之腹腔內投予GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1。投予後，於15min、2小時、1日、2日、7日之各時點，從小鼠之頰靜脈使用血球容積比毛細管(Terumo)進行採血，並製備其血漿。

【0261】 於使GPC3表現之Ba/F3細胞(GPC3/BaF)及使人類CD3 epsilon表現之Ba/F3細胞(CD3/BaF)，添加經適當稀釋之GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1，使與GPC3 ERY9-1、或GPC3 ERY10-1及GPC3/BaF或CD3/BaF反應。將該等細胞洗滌後，添加經FITC標記之2次抗體，將該二次抗體進一步反應。洗滌該細胞後，利用Epics XL流式細胞計數器(Beckman coulter公司)測定於該細胞標記之螢光強度，製作針對各抗體之標準曲線。

【0262】 將從經投予GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1之小鼠經時採取之血液所調製之血漿適當稀釋。與製作上述標準曲線之情形同樣，使該血漿與GPC3/BaF、CD3/BaF反應，測定血漿中存在之GPC3 ERY9-1及GPC3 ERY10-1對於各細胞之結合量。使用測定值與前述標準曲線，計算血漿中之各抗體濃度。

【0263】 其結果可知，GPC3 ERY9-1及GPC3 ERY10-1均於投予後2日後維持10 nM以上之血中濃度(圖9及10)。由該結果顯示GPC3 ERY9-1及GPC3 ERY10-1等一連串分子之血漿中半衰期比起BiTE顯著有改善。

【0264】 (4)癌抗原非依存的細胞激素誘導之靜默Fc之效果

(4-1)具Fc γ R結合型Fc之GPC3 ERY15-1之製作

為了驗證GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1等一連串分子是否

會誘導癌抗原非依存的細胞激素，製作具FcγR結合型Fc之GPC3 ERY15-1(圖17J)。

【0265】 亦即，與上述方法同樣，依照使用附加適當序列之引子之PCR法、及使用QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit(Stratagene公司)之方法等對於該技術領域之人士為公知之方法，製作各插入有編碼為GPC3 ERY15-1_Hh(序列編號：47、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY15-1_Hk(序列編號：48、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的表現載體。

【0266】 將GPC3 ERY15-1_Hh(序列編號：47、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY15-1_Hk(序列編號：48、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、及GPC3 ERY7_L之表現載體同時導入FreeStyle293-F細胞，使GPC3 ERY15-1暫時性表現。將獲得之培養上清液添加到Anti FLAG M2管柱(Sigma公司)，洗滌該管柱後，實施利用0.1 mg/mL FLAG胜肽(Sigma公司)之溶出。將含GPC3 ERY15-1之級分添加到HisTrap HP管柱(GE Healthcare公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度所為之溶出。將含GPC3 ERY15-1之級分超過濾以濃縮後，將該級分添加到Superdex 200管柱(GE Healthcare公司)，僅回收溶出液之單體之GPC3 ERY15-1級分，藉此獲得精製GPC3 ERY15-1。

【0267】 (4-2)癌抗原非依存的細胞激素誘導能力的測定

GPC3 ERY15-1之癌抗原非依存的細胞激素誘導能力，係比較GPC3 BiTE、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1、及catumaxomab之癌抗原非依存的細胞激素誘導能力。將從健康正常人自願者抽取之血液以上述方法製備PBMC。於人類PBMC溶液50 μL(2×10^5 細胞/井)添加製備成40 nM的各抗體50 μL，再添加100 μL的10%FBS/D-MEM。反應液於5%二氧化碳、37°C條件下培養。72小時培養後，回收培養上清液，以使用Human Th1/Th2/Th17 Kit(BD公司)之Cytometric Beads

Array(CBA)法定量培養上清液中分泌之細胞激素。依照附屬實驗步驟之測定方法所進行之試驗係進行三重複。

【0268】 其結果，具FcγR結合型Fc之GPC3 ERY15-1、catumaxomab明確認為有細胞激素誘導，相對於此，不具Fc之GPC3 BiTE、及具靜默型Fc之GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1，未認為細胞激素誘導(圖11)。是以，可認為具靜默型Fc之GPC3 ERY8-2、GPC3 ERY9-1、GPC3 ERY10-1等一連串分子，不會引起癌抗原非依存的細胞激素誘導，為非常高安全性之分子。

【0269】 [實施例4]GPC3 ERY18 L1、L2、L3、L4、S1之製作與探討

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

【0270】 亦即，依照使用與上述方法同樣附加有適當序列之引子的PCR法等該技術領域之人士公知之方法，製作插入有各編碼為GPC3 ERY18 L1_Hh(序列編號：49、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L1_Hk(序列編號：50、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L2_Hh(序列編號：51、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L2_Hk(序列編號：52、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L3_Hh(序列編號：53、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L3_Hk(序列編號：54、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L4_Hh(序列編號：55、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L4_Hk(序列編號：56、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 S1_Hh(序列編號：57、信號序

列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 S1_Hk(序列編號:58、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

【0271】 將以下所示組合之表現載體導入於FreeStyle293-F細胞,使各目的分子暫時性表現。

【0272】 G·目的分子:GPC3 ERY18 L1

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

【0273】 H·目的分子:GPC3 ERY18 L2

表現載體:GPC3 ERY18 L2_Hh(序列編號:51、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY18 L2_Hk(序列編號:52、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、及GPC3 ERY7 L

【0274】 I·目的分子:GPC3 ERY18 L3

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

【0275】 J·目的分子:GPC3 ERY18 L4

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

【0276】 K·目的分子:GPC3 ERY18 S1

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

【0277】 將獲得之培養上清液添加到Anti FLAG M2管柱(Sigma公司)，洗滌該管柱後，實施以0.1 mg/mL FLAG胜肽(Sigma公司)所為之溶出。將含目的分子之級分添加到HisTrap HP管柱(GE Healthcare公司)，洗滌該管柱後，實施利用咪唑之濃度梯度的溶出。將含目的分子之級分超過濾以濃縮後，將該級分添加到Superdex 200管柱(GE Healthcare公司)，僅回收溶出液之單體級分，藉此獲得經精製之各目的分子。

【0278】 評價GPC3 ERY18 L1、GPC3 ERY18L2、GPC3 ERY18L3、GPC3 ERY18L4、GPC3 ERY18S1各分子之體外(in vitro)細胞傷害活性(圖12及13)。其結果，GPC3 ERY18 L1以外的各分子均顯示與GPC3 ERY10-1為同等之活性。具有非scFv之構造之分子顯示同等之細胞傷害活性。在對抗癌抗原(GPC3)之IgG之2條H鏈之C末端分別結合有CD3抗體之VH區、VL區之構造，可期待貢獻於本發明之多胜肽聯合體分子之安定化。

【0279】 [實施例5]GPC3 ERY19-3之製作與探討

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

【0280】 將GPC3 ERY19-3_Hh(序列編號：59、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、GPC3 ERY19-3_Hk(序列編號：60、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、及GPC3 ERY7_L之表現載體同時導入FreeStyle293-F細胞，使暫時性表現GPC3 ERY19-3。將獲得之培養上清液添加到HiTrap rProtein

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

【0281】 評價GPC3 ERY19-3分子於體外的細胞傷害活性。其結果,顯示與GPC3 BiTE具同等活性(圖14)。具Fab狀構造之CD3結合域期待能貢獻於使本發明之多胜肽聯合體分子安定化。

【0282】 [實施例6]僅使用將GPC3 ERY 10-12對於CH3域導入突變進行PROTEIN A精製步驟之多胜肽聯合體之製備

(1)概要

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

【0283】 具體而言係探討2種H鏈之中,使其中之一的H鏈不結合於PROTEIN A之改變。由於該改變,不結合於PROTEIN A之H鏈經同質組合化之分子,由於不結合於PROTEIN A故會通過PROTEIN A層析。另一方面,利用不結合於PROTEIN A之H鏈與保持對於PROTEIN A之結合的H鏈經異組合化之分子,以及保持對於PROTEIN A之結合的H鏈經同質組合化之分子之間對於

PROTEIN A之結合性的不同，據認為可利用PROTEIN A層析分離該等分子。於此時，抗體之Fc域中，由於PROTEIN A與對抗體之血漿中滯留性重要之FcRn所結合之部位重複，故需要維持對於FcRn之結合性，僅選擇性減低對於PROTEIN A之結合性。就如此的改變，吾人發現EU編號435號之His取代為Arg之突變。係驗證除該突變以外，就促進2種H鏈之異組合化之改變而言，藉由組合WO2006/106905記載之突變(其中之一之H鏈之EU編號356號之Asp取代為Lys，且另一H鏈之EU編號439號之Lys取代為Glu)，能否僅以PROTEIN A層析精製GPC3 ERY10-1等多胜肽聯合體分子。

【0284】 (2)抗體基因表現載體之製作與各抗體之表現

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

【0285】 L・目的分子：LALA-G1d

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

【0286】 M・目的分子：LALA-G1d-CD3

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

【0287】 N · 目的分子：LALA-G3S3E-G1d

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

【0288】 O · 目的分子：LALA-S3K-G1d-CD3

於LALA-G1d-CD3(序列編號：64、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)之序列中導入EU編號356號之Asp取代為Lys之突變的LALA-S3K-G1d-CD3(序列編號：66、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)。

【0289】 藉由在GC33(2) H之下游連結LALA-G1d-CD3或LALA-G1d，製作抗人類GPC3抗體H鏈基因NTA1L或NTA1R。於GC33(2) H之下游連結LALA-S3K-G1d-CD3或LALA-G3S3E-G1d，製作抗人類GPC3抗體H鏈基因NTA2L或NTA2R。

【0290】 藉由將NTA1L、NTA1R、NTA2L、NTA2R(H鏈)及GC33-k0(L鏈)之各基因納入動物細胞表現載體，製作該基因之表現載體。依照以下所示組合，將該等載體以該技術領域之人士公知之方法導入FreeStyle293細胞(invitrogen公司)，藉此使下列所示各多胜肽聯合體暫時性表現。如以下所示，將導入之基因之組合以第一H鏈/第二H鏈/L鏈之順序表示，而表示記載多胜肽聯合體之名稱。

NTA1L/NTA1R/GC33-k0

NTA2L/NTA2R/GC33-k0

【0291】 (3)表現樣本之精製與異聯合體形成之評價

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

CM)當做試料。

NTA1L/NTA1R/GC33-k0

NTA2L/NTA2R/GC33-k0

【0292】 於經D-PBS平衡化之rProtein A Sepharose Fast Flow管柱(GE Healthcare)，負載經φ0.22μm濾膜過濾的CM，實施表1所示之以緩衝液洗滌1、2、及溶出1之各步驟。調整CM之負載量，使負載的抗體量成為20 mg/mL resine。利用經分取之溶出級分之尺寸排除層析分析，鑑定溶出級分所含之成分。

【0293】 [表1]

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

【0294】 各溶出級分之尺寸排除層析分析之結果如圖15及表2。值係將溶出峰部的面積以百分比表示記載。使NTA1L/ NTA1R/GC33-k0及NTA2L/NTA2R/GC33-k0表現之CM中，均幾乎未檢測到對抗CD3之同源抗體(NTA1L/GC33-k0，NTA2L/ GC33-k0)。關於對抗GPC3之同源抗體(NTA2R/GC33-k0)，在使NTA1L/NTA1R/GC33-k0之CM中檢測到約76%，相對於此，在使NTA2L/NTA2R/GC33-k0表現之CM中僅檢測到約2%。亦即，除了EU編號435號之His取代為Arg之突變，為了有效率地形成各H鏈之異分子，藉由導入將其中之一之H鏈之多胜肽序列中之EU編號356號之Asp取代為Lys之突變及另一H鏈之多胜肽序列中之EU編號439號之Lys取代為Glu之突變，可以僅由使用PROTEIN A之精製步驟，以98%以上之純度有效率地精製由目的GPC3 ERY10-1及同樣分子形式構成的以異質組合之多胜肽聯合體。

【0295】 [表2]

	CD3 同質抗體	異質抗體	GPC3 同質抗體
NTA1L NTA1R GPC3 KO	0.7	23.5	75.8
NTA2L NTA2R GPC3 KO		98.2	1.8

【0296】 [實施例7]GPC3 ERY 17-2及GPC3 ERY 17-3之製作與探討

(1)GPC3 ERY 17-2及GPC3 ERY 17-3之製作

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

【0297】 亦即，依照該技術領域之人士公知之附加與上述方法同樣之適當序列的引子的PCR等方法，製備插入有編碼為ERY17-2_Hh(序列編號：73、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2_L(序列編號：74、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-3_Hh(序列編號：75、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-3_L(序列編號：76、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)之聚核苷酸的一連串表現載體。

【0298】 將以下所示組合之表現載體導入於FreeStyle293-F細胞，使各目的分子暫時性表現。

【0299】 P・目的分子：GPC3 ERY17-2

由插入於表現載體之聚核苷酸所編碼之多胜肽：GPC3 ERY8-2_Hk、GPC3 ERY7_L、ERY17-2_Hh(序列編號：73、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2_L(序列編號：74、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)

【0300】 Q・目的分子：GPC3 ERY17-3

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

【0301】 (2)GPC3 ERY 17-2及GPC3 ERY 17-3之精製

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

【0302】 (3)GPC3 ERY 17-2及GPC3 ERY 17-3之細胞傷害活性

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

【0303】 (4)使用PC-10 T細胞移入模型之GPC3 ERY17-2之藥效試驗

於體外試驗認為與GPC3 BiTE有同等以上之細胞傷害活性之GPC3 ERY17-2，其體內之藥效評價係使用PC-10 T細胞移入模型實施。亦即，於利用PC-10 T細胞移入模型所為之GPC3 ERY17-2之藥效試驗中，實施如下試驗。使用從健康正常人自願者抽取的血液分離之PBMC及T cell activation/ expansion kit/human(MACS Miltenyi biotec公司)，進行T細胞之擴大培養。將人類肺扁平上皮癌細胞株PC-10(免疫生物研究所) 1×10^7 細胞、與Matrigel基底膜基質(BD公司)混合，移植到NOD scid小鼠(日本Clare、雌、7W)之鼠蹊部皮下。以移植日當做day

0。對於小鼠於移植前日、及day 13、17、21、25以0.2 mg/隻腹腔內投予抗asialo GM1抗體(和光純藥)。移植後第13日依腫瘤尺寸與體重實施分群，於移植後第14日將前述擴大培養獲得之T細胞以 3×10^7 細胞/隻移植到腹腔內。之2小時後起，以30 µg/隻靜脈內投予GPC ERY17-2。GPC ERY17-2之投予於day 14、15、16、17、18共進行5次。

【0304】 其結果，於該模型亦認為GPC3 ERY17-2投予群比起溶媒投予群有明顯的抗腫瘤作用(圖21)。

【0305】 由以上，以對抗癌抗原之IgG當做基本骨架，且單側Fab取代為對抗CD3 epsilon之結合域而得之分子，明顯於體內發揮抗腫瘤效果。

【0306】 [實施例8]GPC3 ERY17-2-M20之製作與探討

(1)GPC3 ERY17-2-M20之製作

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

【0307】 (2)GPC3 ERY17-2-M20之精製

將GPC3 ERY8-2_Hk、GPC3 ERY7_L、ERY17-2-M20_Hh(序列編號：77)、及ERY17-2-M20_L(序列編號：78)之表現載體同時導入FreeStyle293-F細胞，使GPC3 ERY17-2-M20暫時性表現。將獲得之培養上清液以 $\phi 0.22 \mu\text{m}$ 濾膜過濾後，負載於經平衡化之rProtein A Sepharose Fast Flow管柱(GE Healthcare)。實施以表3所示緩衝液洗滌洗淨1、2、及溶出1之各步驟，獲得精製GPC3 ERY17-2-M20。

【0308】 [表3]

平衡化	FreeStyle 293 Expression Medium (Invitrogen), 1% Pen-Strep (Invitrogen)
洗滌 1	15mM 乙酸鈉, 150mM NaCl, pH6.5
洗滌 2	0.3M HCl, 150mM NaCl, pH3.7
溶出 1	2mM HCl, pH2.7

【0309】 (3)GPC3 ERY17-2-M20之細胞傷害活性

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

【0310】 [實施例9]EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3之製作與探討

(1)EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3之製作

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

【0311】 將以下所示組合之表現載體導入 FreeStyle293-F 細胞，使各目的分子暫時過性表現。

【0312】 R・目的分子：EpCAM ERY17-2

由插入於表現載體之聚核苷酸所編碼之多胜肽：EpCAM ERY17_Hk(序列編號：79、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、EpCAM ERY17_L(序列編號：80、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2_Hh、

ERY17-2_L

【0313】 S·目的分子：EpCAM ERY17-3

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

【0314】 (2)EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3之精製

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

【0315】 (3)EpCAM ERY17-2、EpCAM ERY17-3之細胞傷害活性

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

【0316】 [實施例10]導入有CH1/CL界面組合控制之雙專一性抗體之製作與探討

(1)雙專一性抗體之設計

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

【0317】 (2)抗體基因表現載體之製作與各抗體之表現

對於Anti-CD3抗體M12 (H鏈、序列編號：81及L鏈、序列編號：82)、及Anti-GPC3抗體GC33(2)(H鏈、序列編號：83及L鏈、序列編號：84)導入CH1/CL界面組合控制，並為了避免H鏈彼此之組合，也製作導入有凸起配置於空隙中(Knob into Hole)(KiH)(WO1996/027011、Ridgway JB 等人(Protein Engineering (1996) 9, 617-621)、Merchant AM 等人 (Nat. Biotechnol. (1998) 16, 677-681))之改變的雙專一性抗體 (圖24A)。就對照而言，也製作未導入CH1/CL界面組合控制也未導入Knob into Hole(KiH)改變之雙專一性抗體 (圖24B)。具體而言，依照該技術領域之人士公知之方法製作插入有各編碼為M12 之H鏈(序列編號：81)之CH1之數個胺基酸取代為Lys之M12_TH2h(序列編號：85)、L鏈(序列編號：82)之CL之數個胺基酸取代為Glu之M12_TL17(序列編號：86)之聚核苷酸的表現載體。同樣，依照該技術領域之人士公知之方法製作插入有各編碼為GC33(2)之H鏈(序列編號：83)之CH1之數個胺基酸取代為Glu之GC33(2)_TH13k(序列編號：87)、GC33(2)_TH15k(序列編號：88)、L鏈(序列編號：84)之CL之數個胺基酸取代為Lys之GC33(2)_TL16(序列編號：89)、GC33(2)_TL19(序列編號：90)的聚核苷酸之表現載體。

【0318】 將編碼為以下所示序列之表現載體之組合導入FreeStyle293-F細胞，並使各目的分子暫時過性表現。

【0319】 T・目的分子：GM1

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

【0320】 U・目的分子：GM2

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

【0321】 V · 目的分子：GM0

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

【0322】 從獲得之培養上清液，使以使用、rProtein A Sepharose™ Fast Flow(GE Healthcare公司)之該技術領域之人士公知之方法精製抗體。

【0323】 (3)GM1、GM2、GM0細胞傷害活性

檢查GM1、GM2、GM0之各多胜肽聯合體之體外之細胞傷害活性，結果認為GM1及GM2顯示同等之細胞傷害活性，且其細胞傷害活性明顯高於GM0之細胞傷害活性(圖25)。本發明中解明藉由組合CH1/CL界面控制之導入與KiH之改變，能以良好效率製作雙專一性抗體。

【0324】 [實施例11]EGFR ERY17-2之製作與探討**(1)EGFR ERY17-2之製作**

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

【0325】 將以下所示組合之表現載體導入FreeStyle293-F細胞，使各目的分子暫時過性表現。

【0326】 W · 目的分子：EGFR ERY17-2

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

編號：92、信號序列胺基末端19個胺基酸不含於成熟序列)、ERY17-2_Hh、ERY17-2_L

【0327】 (2)EGFR ERY17-2之精製

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

【0328】 (3)EGFR ERY17-2之細胞傷害活性

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

[產業上利用可能性]

【0329】 依照本發明，能提供一種新穎的多胜肽聯合體，其維持BiTE所具有的強抗腫瘤活性、與不誘導癌抗原非依存性細胞激素風暴等安全性上優良性質，而且具有長血中半衰期。本發明之多胜肽聯合體中，藉由取代抗原結合域，而含有該多胜肽聯合體當做有效成分之細胞傷害誘導治療劑會以包含癌細胞在內的各種細胞為標的帶來細胞傷害，能夠治療或預防各種癌症。對於患者不僅安全性高，而且身體的負擔少、便利性也高，可進行理想的治療。

【符號說明】

無。

【序列表】

<110> 中外製藥股份有限公司

<120> 細胞傷害誘導治療劑

<130> C1-A1010Y2-TW

<150> JP 2010-266760

<151> 2010-11-30

<150> JP 2011-121771

<151> 2011-05-31

<150> JP 2011-238818

<151> 2011-10-31

<160> 92

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1812

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atggccggga ccgtgcgcac cgcgtgcttg gtggtggcga tgctgctcag cttggacttc	60
ccgggacagg cgcagcccc gccgcccgcg ccggacgcca cctgtcacca agtccgctcc	120
ttottccaga gactgcagcc cggactcaag tgggtgccag aaactcccg gccaggatca	180
gatttgcaag tatgtctccc taagggccca acatgctgct caagaaagat ggaagaaaaa	240
taccaactaa cagcacgatt gaacatggaa cagctgcttc agtctgcaag tatggagctc	300
aagttcttaa ttattcagaa tgctgcggtt ttccaagagg cctttgaaat tgttgttcgc	360
catgccaaga actacaccaa tgccatgttc aagaacaact acccaagcct gactccacaa	420

gcttttgagt ttgtgggtga atttttcaca gatgtgtctc tctacatctt gggttctgac	480
atcaatgtag atgacatggt caatgaattg ttgacagcc tgtttccagt catctatacc	540
cagctaata ga acccaggcct gcctgattca gccttgga tcaatgagtg cctccgagga	600
gcaagacgtg acctgaaagt atttggaat ttccccaagc ttattatgac ccaggtttcc	660
aagtcactgc aagtcactag gatcttcctt caggctctga atcttggaat tgaagtgatc	720
aacacaactg atcacctgaa gttcagtaag gactgtggcc gaatgctcac cagaatgtgg	780
tactgtctctt actgccaggg actgatgatg gttaaaccct gtggcggta ctgcaatgtg	840
gtcatgcaag gctgtatggc aggtgtggtg gagattgaca agtactggag agaatacatt	900
ctgtcccttg aagaacttgt gaatggcatg tacagaatct atgacatgga gaacgtactg	960
cttggtctct tttcaacaat ccatgattct atccagtatg tccagaagaa tgcaggaaag	1020
ctgaccacca ctgaaactga gaagaaaata tggcacttca aatatcctat cttcttcctg	1080
tgtatagggc tagacttaca gattggcaag ttatgtgccc attctcaaca acgccaatat	1140
agatctgctt attatctga agatctcttt attgacaaga aagtattaaa agttgctcat	1200
gtagaacatg aagaaacctt atccagcga agaagggaa taattcagaa gttgaagtct	1260
ttcatcagct tctatagtgc ttgacctggc tacatctgca gccatagccc tgtggcggaa	1320
aacgacaccc ttgctggaa tggacaagaa ctctggaga gatacagcca aaaggcagca	1380
aggaatggaa tgaaaaacca gttcaatctc catgagctga aatgaaggg ccctgagcca	1440
gtggtcagtc aaattattga caaactgaag cacattaacc agctcctgag aacctgtct	1500
atgccc aaag gtagagttct ggataaaaac ctggatgagg aagggtttga aagtggagac	1560
tgcggtgatg atgaagatga gtgcattgga ggctctggtg atggaatgat aaaagtgaag	1620

aatcagctcc gcttccttgc agaactggcc tatgatctgg atgtggatga tgcgcctgga 1680

aacagtcagc aggcaactcc gaaggacaac gagataagca cctttcaciaa cctcggaac 1740

gttcattccc cgtgaagct tctcaccagc atggccatct cgggtggtgtg cttcttcttc 1800

ctggtgcact ga 1812

<210> 2

<211> 603

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu

1 5 10 15

Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp

20 25 30

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

35 40 45

Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val

50 55 60

Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys

65 70 75 80

Tyr Gln Leu Thr Ala Arg Leu Asn Met Glu Gln Leu Leu Gln Ser Ala

85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<400> 3
atggcgcccc cgcaggtcct cgcgttcggg cttctgcttg ccgcggcgac ggcgactttt 60
gcgcagctc aggaagaatg tgtctgtgaa aactacaagc tggccgtaaa ctgctttgtg 120
aataataatc gtcaatgcc a gtgtacttca gttgggtgcac aaaataactgt catttgctca 180
aagctggctg ccaaagtgtt ggtgatgaag gcagaaatga atggctcaaa acttgggaga 240
agagcaaaac ctgaaggggc cctccagaac aatgatgggc tttatgatcc tgactgcgat 300
gagagcgggc tctttaaggc caagcagtgc aacggcacct ccatgtgctg gtgtgtgaac 360
actgctgggg tcagaagaac agacaaggac actgaaataa cctgctctga gcgagtgaga 420
acctactgga tcatcattga actaaaacac aaagcaagag aaaaacctta tgatagtaaa 480
agtttgcgga ctgcacttca gaaggagatc acaacgcgtt atcaactgga tccaaaattt 540
atcacgagta ttttgtatga gaataatgtt atcactattg atctggttca aaattcttct 600
caaaaaactc agaatgatgt ggacatagct gatgtggctt attattttga aaaagatgtt 660
aaaggtgaat ccttgtttca ttctaagaaa atggacctga cagtaaatgg ggaacaactg 720
gatctggatc ctggtcaaac tttaatttat tatgttgatg aaaaagcacc tgaattctca 780

atgcagggtc taaaagctgg tgttattgct gttattgtgg ttgtggtgat agcagttggt 840
gctggaattg ttgtgctggt tatttccaga aagaagagaa tggcaaagta tgagaaggct 900
gagataaagg agatgggtga gatgcatagg gaactcaatg cataa 945

<210> 4
<211> 314
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Pro Pro Gln Val Leu Ala Phe Gly Leu Leu Leu Ala Ala Ala
1 5 10 15

Thr Ala Thr Phe Ala Ala Ala Gln Glu Glu Cys Val Cys Glu Asn Tyr
20 25 30

Lys Leu Ala Val Asn Cys Phe Val Asn Asn Asn Arg Gln Cys Gln Cys
35 40 45

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

Lys Cys Leu Val Met Lys Ala Glu Met Asn Gly Ser Lys Leu Gly Arg
65 70 75 80

Arg Ala Lys Pro Glu Gly Ala Leu Gln Asn Asn Asp Gly Leu Tyr Asp
85 90 95

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

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

	260		265		270										
Val	Val	Val	Val	Ile	Ala	Val	Val	Ala	Gly	Ile	Val	Val	Leu	Val	Ile
	275					280					285				
Ser	Arg	Lys	Lys	Arg	Met	Ala	Lys	Tyr	Glu	Lys	Ala	Glu	Ile	Lys	Glu
	290					295					300				
Met	Gly	Glu	Met	His	Arg	Glu	Leu	Asn	Ala						
305						310									

<210> 5
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 5

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 6

Ser Gly Gly Gly

1

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 8

Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

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

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 10

Ser Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

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

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 11

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

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

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 12

Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 13
<211> 1125
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 13
atgtggttct tgacaactct gtccttttgg gttccagttg atgggcaagt ggacaccaca 60

aaggcagtga tcacttttga gcctccatgg gtcagcgtgt tccaagagga aaccgtaacc 120

ttgcactgtg aggtgctcca tctgcctggg agcagctcta cacagtggtt tctcaatggc 180

acagccactc agacctcgac cccagctac agaatcacct ctgccagtgt caatgacagt 240

ggtgaatata ggtgccagag aggtctctca gggcgaagtg acccataca gctggaaatc 300

cacagaggct ggctactact gcaggtctcc agcagagtct tcacggaagg agaacctctg 360

gcottgaggt gtcatgcgtg gaaggataag ctggtgtaca atgtgcttta ctatcgaaat 420

ggcaaagcct ttaagttttt ccaactggaat tctaacctca ccattctgaa aaccaacata 480

agtcacaatg gcacctacca ttgctcaggc atgggaaagc atcgctacac atcagcagga 540

atatctgtca ctgtgaaaga gctatttcca gctccagtgc tgaatgcac tgtgacatcc 600

ccactcctgg aggggaatct ggtcaccctg agctgtgaaa caaagttgct cttgcagagg 660

cctggtttgc agctttactt ctccctctac atgggcagca agaccctgcg aggcaggaac 720

acatcctctg aataccaaat actaactgct agaagagaag actctgggtt atactgggtc 780

gaggctgcca cagaggatgg aaatgtcctt aagcgcagcc ctgagttgga gcttcaagtg 840

cttggcctcc agttaccaac tcctgtctgg tttcatgtcc ttttctatct ggcagtggga 900

ataatgtttt tagtgaacac tgttctctgg gtgacaatac gtaaagaact gaaaagaaag 960

aaaaagtggg atttagaaat ctctttggat tctggtcatg agaagaaggt aatttccagc 1020

cttcaagaag acagacattt agaagaagag ctgaaatgtc aggaacaaaa agaagaacag 1080

ctgcaggaag ggggtgcaccg gaaggagccc cagggggcca cgtag 1125

<210> 14

<211> 374

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Trp Phe Leu Thr Thr Leu Leu Leu Trp Val Pro Val Asp Gly Gln

1 5 10 15

Val Asp Thr Thr Lys Ala Val Ile Thr Leu Gln Pro Pro Trp Val Ser

20 25 30

Val Phe Gln Glu Glu Thr Val Thr Leu His Cys Glu Val Leu His Leu

35 40 45

Pro Gly Ser Ser Ser Thr Gln Trp Phe Leu Asn Gly Thr Ala Thr Gln

50 55 60

Thr Ser Thr Pro Ser Tyr Arg Ile Thr Ser Ala Ser Val Asn Asp Ser

65 70 75 80

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

															85																90																95																				
Gln	Leu	Glu	Ile	His	Arg	Gly	Trp	Leu	Leu	Leu	Gln	Val	Ser	Ser	Arg																																																				
															100																105																110																				
Val	Phe	Thr	Glu	Gly	Glu	Pro	Leu	Ala	Leu	Arg	Cys	His	Ala	Trp	Lys																																																				
															115																120																125																				
Asp	Lys	Leu	Val	Tyr	Asn	Val	Leu	Tyr	Tyr	Arg	Asn	Gly	Lys	Ala	Phe																																																				
															130																135																140																				
Lys	Phe	Phe	His	Trp	Asn	Ser	Asn	Leu	Thr	Ile	Leu	Lys	Thr	Asn	Ile																																																				
															145																150																155																160				
Ser	His	Asn	Gly	Thr	Tyr	His	Cys	Ser	Gly	Met	Gly	Lys	His	Arg	Tyr																																																				
															165																170																175																				
Thr	Ser	Ala	Gly	Ile	Ser	Val	Thr	Val	Lys	Glu	Leu	Phe	Pro	Ala	Pro																																																				
															180																185																190																				
Val	Leu	Asn	Ala	Ser	Val	Thr	Ser	Pro	Leu	Leu	Glu	Gly	Asn	Leu	Val																																																				
															195																200																205																				
Thr	Leu	Ser	Cys	Glu	Thr	Lys	Leu	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Leu	Gln																																																				
															210																215																220																				
Leu	Tyr	Phe	Ser	Phe	Tyr	Met	Gly	Ser	Lys	Thr	Leu	Arg	Gly	Arg	Asn																																																				
															225																230																235																240				
Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Gln	Ile	Leu	Thr	Ala	Arg	Arg	Glu	Asp	Ser	Gly																																																				

245

250

255

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

260265270

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

275280285

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

290295300

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

305310315320

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

325330335

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

340345350

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

355360365

Glu Pro Gln Gly Ala Thr

370

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

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

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

<400> 16

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<400> 17
atgggaatcc tgcattctt acctgtcctt gccactgaga gtgactgggc tgactgcaag 60

tccccccagc cttgggggtca tatgcttctg tggacagctg tgctattcct ggctcctgtt 120

gctgggacac ctgcagctcc cccaaaggct gtgctgaaac tcgagcccca gtggatcaac 180

gtgctccagg aggactctgt gactctgaca tgccggggga ctacagccc tgagagcgac 240

tccattcagt ggttcacaa tgggaatctc attcccaccc acacgcagcc cagctacagg 300

ttcaaggcca acaacaatga cagcggggag tacacgtgcc agactggcca gaccagcctc 360

agcgaccctg tgcattctgac tgtgctttct gactggctgg tgctccagac ccctcacctg 420

gagttccagg agggagaaac catcgtgctg aggtgccaca gctggaagga caagcctctg 480

gtcaaggcca cattcttcca gaatggaaaa tccaagaaat tttcccggtc ggatcccaac 540

ttctccatcc cacaagcaaa ccacagtcac agtgggtgatt accactgcac aggaaacata 600

ggctacacgc tgtactcatc caagcctgtg accatcactg tccaagctcc cagctcttca 660

ccgatgggga tcattgtggc tgtggtoact gggattgctg tagcggccat tgttgctgct 720

gtagtggcct tgatctactg caggaaaaag cggatttcag ccaatcccac taatcctgat 780

gaggctgaca aagttggggc tgagaacaca atcacctatt cacttctcat gcaccggat 840

gctctggaag agcctgatga ccagaaccgt atttag 876

<210> 18
<211> 291

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Ile
290

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

<400> 19
atgtggcagc tgctcctccc aactgctctg ctacttctag tttcagctgg catgcggact 60

gaagatctcc caaaggctgt ggtgttcctg gagcctcaat ggtacagggt gctcgagaag 120

gacagtgtga ctctgaagtg ccaggagacc tactcccctg aggacaattc cacacagtgg 180

tttcacaatg agagcctcat ctcaagccag gcctcgagct acttcattga cgctgccaca 240

gttgacgaca gtggagagta caggtgccag acaaacctct ccaccctcag tgacccggtg 300

cagctagaag tccatatcgg ctggctgttg ctccaggccc ctcggtgggt gttcaaggag 360

gaagacccta ttcacctgag gtgtcacagc tggaagaaca ctgctctgca taaggtcaca 420

tatttacaga atggcaaagg caggaagtat tttcatcata attctgactt ctacattcca 480

aaagccacac tcaaagacag cggctcctac ttctgcaggg ggcttggttg gagtaaaaat 540

gtgtcttcag agactgtgaa catcaccatc actcaagggt tgtcagtgtc aaccatctca 600

tcattctttc cacctgggta ccaagtctct ttctgcttgg tgatggtact cctttttgca 660

gtggacacag gactatattt ctctgtgaag acaaacattc gaagctcaac aagagactgg 720

aaggaccata aatttaaatg gagaaaggac cctcaagaca aatga 765

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

<400> 20

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

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

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

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

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

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

<400> 21
atgtggcagc tgctcctccc aactgctctg ctacttctag tttcagctgg catgcggact 60

gaagatctcc caaaggctgt ggtgttcctg gagcctcaat ggtacagcgt gcttgagaag 120

gacagtgtga ctctgaagtg ccaggagacc tactcccctg aggacaattc cacacagtgg 180

tttcacaatg agagcctcat ctcaagccag gcctcgagct acttcattga cgctgccaca 240

gtcaacgaca gtggagagta caggtgccag acaaacctct ccaccctcag tgacccggtg 300

cagctagaag tccatatcgg ctggctgttg ctccaggccc ctcggtgggt gttcaaggag 360

gaagacccta ttcacctgag gtgtcacagc tggaagaaca ctgctctgca taaggtcaca 420

tatttacaga atggcaaaga caggaagtat tttcatcata attctgactt ccacattcca 480

aaagccacac tcaaagatag cggctcctac ttctgcaggg ggcttgttgg gagtaaaaat 540

gtgtcttcag agactgtgaa catcaccatc actcaagggt tggcagtgtc aaccatctca 600

tcattctctc cacctgggta ccaagtctct ttctgcttgg tgatgttact cctttttgca 660

gtggacacag gactatattt ctctgtgaag acaaacattt ga 702

<210> 22

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Gln Trp Tyr Ser Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

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

225 230

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

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 23

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 24
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 24

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

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

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

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

60

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

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

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

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

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 25

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

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

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 26

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

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

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

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

60

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

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

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

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 27
<211> 549
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 27
atggaacagg ggaagggcct ggctgtcctc atcctggcta tcattcttct tcaaggtact 60

ttggcccagt caatcaaagg aaaccacttg gttaaggtgt atgactatca agaagatggt 120

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

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

<400> 28

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Gln Leu Arg Arg Asn
180

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

<400> 29
atggaacata gcacgtttct ctctggcctg gtactggcta cccttctctc gcaagtgagc 60

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

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

<400> 30

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

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

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

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

Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
65 70 75 80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys
85 90 95

Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
100 105 110

Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
115 120 125

Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
130 135 140

Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145 150 155 160

Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
165 170

<210> 31
<211> 624
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 31
atgcagtcgg gcactcactg gagagttctg ggcctctgcc tcttatcagt tggcgtttgg 60

gggcaagatg gtaatgaaga aatgggtggt attacacaga caccatataa agtctccatc 120

totggaacca cagtaatatt gacatgcctt cagtatcctg gatctgaaat actatggcaa 180

cacaatgata aaaacatagg cggatgatgag gatgataaaa acataggcag tgatgaggat 240

cacctgtcac tgaaggaatt ttcagaattg gagcaaagtg gttattatgt ctgctacccc 300

agaggaagca aaccagaaga tgcgaacttt tatctctacc tgagggaag agtgtgtgag 360

aactgcatgg agatggatgt gatgtcgggtg gccacaattg tcatagtgga catctgcatc 420

actgggggct tgctgctgct gggttactac tggagcaaga atagaaaggc caaggccaag 480

cctgtgacac gaggagcggg tgctggcggc aggcaaaggg gacaaaacaa ggagaggcca 540

ccacctgttc ccaaccaga ctatgagccc atccggaag gccagcggga cctgtattct 600

ggcctgaatc agagaagcat ctga 624

<210> 32

<211> 207

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser

1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr

20 25 30

Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 33

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
145 150 155 160

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
165 170 175

Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr
245 250 255

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

Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys
275 280 285

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val

290 295 300

Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
305 310 315 320

Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly
325 330 335

Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala
340 345 350

Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
355 360 365

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
385 390 395 400

Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
405 410 415

Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
420 425 430

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
435 440 445

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg

450 455 460

Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr
465 470 475 480

Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
485 490 495

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ala His His His His His His His His
515 520

<210> 34
<211> 753
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 34

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
145 150 155 160

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
165 170 175

Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr
245 250 255

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

Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys
275 280 285

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
290 295 300

Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
305 310 315 320

Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly
325 330 335

Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala
340 345 350

Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
355 360 365

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
385 390 395 400

Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
405 410 415

Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
420 425 430

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
435 440 445

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
450 455 460

Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr
465 470 475 480

Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
485 490 495

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ala Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
515 520 525

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
530 535 540

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
545 550 555 560

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
565 570 575

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
580 585 590

Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
595 600 605

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
610 615 620

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
625 630 635 640

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
645 650 655

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
660 665 670

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
675 680 685

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
690 695 700

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
705 710 715 720

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
725 730 735

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His His His His His
740 745 750

His

- <210> 35
- <211> 257
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 35

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

Val His Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
20 25 30

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

35 40 45

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
50 55 60

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
65 70 75 80

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
85 90 95

Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
100 105 110

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
115 120 125

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
130 135 140

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys
145 150 155 160

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe
165 170 175

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
180 185 190

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

195 200 205

Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
210 215 220

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
225 230 235 240

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp
245 250 255

Lys

<210> 36
<211> 514
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 36

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
145 150 155 160

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
165 170 175

Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr
245 250 255

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
260 265 270

Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
275 280 285

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
290 295 300

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
305 310 315 320

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
325 330 335

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
340 345 350

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
355 360 365

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
370 375 380

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
385 390 395 400

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
405 410 415

Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
420 425 430

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
435 440 445

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
450 455 460

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
465 470 475 480

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
485 490 495

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
500 505 510

Asp Lys

<210> 37
<211> 629
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 37

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

115					120					125						
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	
130					135					140						
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	
145					150					155					160	
Pro	Val	Thr	Pro	Gly	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	
165					170					175						
Ser	Leu	Val	His	Ser	Asn	Arg	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	
180					185					190						
Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	
195					200					205						
Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	
210					215					220						
Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	
225					230					235					240	
Tyr	Cys	Ser	Gln	Asn	Thr	His	Val	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	
245					250					255						
Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Lys	Leu	Leu	Glu	
260					265					270						
Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	

275 280 285

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
290 295 300

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys
305 310 315 320

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe
325 330 335

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn
340 345 350

Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
355 360 365

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
370 375 380

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
385 390 395 400

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
405 410 415

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
420 425 430

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

435					440					445						
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
450					455					460						
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
465					470					475					480	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
485					490					495						
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
500					505					510						
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	
515					520					525						
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	
530					535					540						
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
545					550					555					560	
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
565					570					575						
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
580					585					590						
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	

595 600 605

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His
610 615 620

His His His His His
625

<210> 38
<211> 613
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 38

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
145 150 155 160

Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
165 170 175

Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
225 230 235 240

Tyr Cys Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr
245 250 255

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

Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys
275 280 285

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val
290 295 300

Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn
305 310 315 320

Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly
325 330 335

Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala
340 345 350

Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly
355 360 365

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
370 375 380

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
385 390 395 400

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
405 410 415

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
420 425 430

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
435 440 445

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
450 455 460

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
465 470 475 480

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
485 490 495

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
500 505 510

Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
515 520 525

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
530 535 540

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
545 550 555 560

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
565 570 575

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
580 585 590

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys
595 600 605

Asp Asp Asp Asp Lys
610

<210> 39
<211> 470
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 39

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

210					215					220					
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
225					230					235					240
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser
				245					250					255	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			260					265					270		
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			275					280					285		
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		290					295					300			
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
305					310					315					320
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
				325					330					335	
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
			340					345					350		
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
		355					360					365			
Pro	Pro	Ser	Arg	Cys	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys

370 375 380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr
450 455 460

Lys Asp Asp Asp Asp Lys
465 470

<210> 40
<211> 238
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 40

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

Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 41
<211> 470
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 41

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

210	215	220
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
225	230	235 240
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser		
	245	250 255
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
	260	265 270
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
	275	280 285
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
	290	295 300
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val		
305	310	315 320
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
	325	330 335
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
	340	345 350
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu		
	355	360 365
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys		

370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His
450 455 460

His His His His His His
465 470

<210> 42
<211> 734
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 42

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

Val His Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
35 40 45

Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu
50 55 60

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile
85 90 95

Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp
100 105 110

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
130 135 140

Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser
145 150 155 160

Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala
165 170 175

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
180 185 190

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
195 200 205

Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu
210 215 220

Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr
225 230 235 240

Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala
245 250 255

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Gly Gly Gly Gly
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
275 280 285

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
290 295 300

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile
305 310 315 320

Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro
325 330 335

Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr
340 345 350

Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
355 360 365

Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser
370 375 380

Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
385 390 395 400

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
405 410 415

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
420 425 430

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

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
450 455 460

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
465 470 475 480

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
485 490 495

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
500 505 510

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
515 520 525

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
530 535 540

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
545 550 555 560

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
565 570 575

Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
580 585 590

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
595 600 605

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
610 615 620

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr
625 630 635 640

Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
645 650 655

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
660 665 670

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
675 680 685

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
690 695 700

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
705 710 715 720

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
725 730

<210> 43
<211> 462
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 43

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

195					200					205						
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
210					215					220						
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	
225					230					235					240	
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	
245					250					255						
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
260					265					270						
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
275					280					285						
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
290					295					300						
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
305					310					315					320	
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
325					330					335						
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
340					345					350						
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	

355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

<210> 44
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 44

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

Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys His His
225 230 235 240

His His His His His His
245

<210> 45
<211> 505
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 45

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

Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala

195					200					205						
Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	
210					215					220						
Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Gly	Gly	
225					230					235					240	
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Ser	
245					250					255						
Ala	Leu	Thr	Thr	Ser	Pro	Gly	Glu	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Arg	Ser	
260					265					270						
Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Glu	
275					280					285						
Lys	Pro	Asp	His	Leu	Phe	Thr	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	
290					295					300						
Ala	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Ile	Gly	Asp	Lys	
305					310					315					320	
Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Ile	Tyr	
325					330					335						
Phe	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	
340					345					350						
Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	

355 360 365

Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
370 375 380

Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
385 390 395 400

Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
405 410 415

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
420 425 430

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
435 440 445

Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
450 455 460

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
465 470 475 480

Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
485 490 495

Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
500 505

<210> 46

<211> 729
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 46

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
370 375 380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser
465 470 475 480

Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser
485 490 495

Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu
500 505 510

Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg
515 520 525

Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys
530 535 540

Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr
545 550 555 560

Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
565 570 575

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
580 585 590

Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
595 600 605

Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
610 615 620

Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
625 630 635 640

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
645 650 655

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
660 665 670

Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
675 680 685

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
690 695 700

Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
705 710 715 720

Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
725

<210> 47
<211> 729
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 47

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145					165					170					175	
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
				180					185					190		
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
			195					200					205			
	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
	210						215					220				
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
225						230					235					240
	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
				245						250					255	
	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			260						265					270		
	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
		275						280					285			
	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
	290						295					300				
	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val

305					310						315					320
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
				325					330					335		
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
			340					345					350			
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
		355					360					365				
Pro	Pro	Ser	Arg	Cys	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	
	370						375				380					
Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
385					390					395					400	
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
			405						410					415		
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
		420							425				430			
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
		435					440					445				
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	
	450					455					460					
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Ser	

465					470						475					480
Ala	Leu	Thr	Thr	Ser	Pro	Gly	Glu	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Arg	Ser	
				485					490					495		
Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Glu	
			500					505					510			
Lys	Pro	Asp	His	Leu	Phe	Thr	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	
		515					520					525				
Ala	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Ile	Gly	Asp	Lys	
		530				535						540				
Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Ile	Tyr	
545				550						555					560	
Phe	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	
			565						570						575	
Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
			580					585						590		
Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Lys	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	
		595					600					605				
Gln	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	
		610				615						620				
Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	

625

630

635

640

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr

645

650

655

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp

660

665

670

Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp

675

680

685

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr

690

695

700

Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

705

710

715

720

Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

725

<210> 48
<211> 470
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 48

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1

5

10

15

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His
450 455 460

His His His His His His
465 470

<210> 49
<211> 600
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 49

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
370 375 380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly

450 455 460

Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
465 470 475 480

Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
485 490 495

Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
500 505 510

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
515 520 525

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
530 535 540

Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
545 550 555 560

Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
565 570 575

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
580 585 590

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
595 600

<210> 50

<211> 584
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 50

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser
465 470 475 480

Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
485 490 495

Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu
500 505 510

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro
515 520 525

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile
530 535 540

Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp
545 550 555 560

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
565 570 575

His His His His His His His His
580

<210> 51
<211> 605
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 51

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
370 375 380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly

450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly
465 470 475 480

Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala
485 490 495

Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
500 505 510

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn
515 520 525

Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile
530 535 540

Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
545 550 555 560

Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe
565 570 575

Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
580 585 590

Val Thr Val Ser Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
595 600 605

<210> 52

<211> 589
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 52

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser
465 470 475 480

Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser
485 490 495

Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu
500 505 510

Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg
515 520 525

Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys
530 535 540

Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr
545 550 555 560

Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
565 570 575

Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His His
580 585

<210> 53
<211> 610
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 53

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
370 375 380

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly

450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys
465 470 475 480

Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys
485 490 495

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
500 505 510

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
515 520 525

Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
530 535 540

Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu
545 550 555 560

Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val
565 570 575

Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
580 585 590

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
595 600 605

Asp Lys

610

<210> 54
<211> 594
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 54

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val
465 470 475 480

Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr
485 490 495

Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala
500 505 510

Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
515 520 525

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
530 535 540

Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu
545 550 555 560

Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
565 570 575

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His
580 585 590

His His

<210> 55
<211> 615
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 55

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val

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

260					265					270						
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
275					280					285						
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
290					295					300						
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
305					310					315					320	
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
325					330					335						
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
340					345					350						
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
355					360					365						
Pro	Pro	Ser	Arg	Cys	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	
370					375					380						
Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
385					390					395					400	
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
405					410					415						
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	

420										425										430																											
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala																																
435										440										445																											
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly																																
450										455										460																											
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly																																
465										470										475										480																	
Gly	Ser	Glu	Val	Lys	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro																																
										485										490										495																	
Lys	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn																																
										500										505										510																	
Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu																																
515										520										525																											
Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr																																
530										535										540																											
Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Gln																																
545										550										555										560																	
Ser	Ile	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala																																
										565										570										575																	
Met	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser																																

580 585 590

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Asp
595 600 605

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
610 615

<210> 56
<211> 599
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 56

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro
485 490 495

Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr
500 505 510

Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe
515 520 525

Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala
530 535 540

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr
545 550 555 560

Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr
565 570 575

Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His
580 585 590

His His His His His His His
595

<210> 57
<211> 610
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 57

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser

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

225	230	235	240
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser			
	245	250	255
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
	260	265	270
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
	275	280	285
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
	290	295	300
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val			
305	310	315	320
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
	325	330	335
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	340	345	350
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	355	360	365
Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys			
	370	375	380
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			

385					390						395					400
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
				405					410					415		
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
			420						425					430		
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
			435					440					445			
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	
			450				455					460				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Lys	
465					470					475					480	
Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Lys	
				485						490					495	
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	
			500						505					510		
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Cys	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	
			515				520					525				
Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	
			530			535					540					
Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Gln	Ser	Ile	Leu	Tyr	Leu	

545

550

555

560

Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val

565

570

575

Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp

580

585

590

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp

595

600

605

Asp Lys

610

<210> 58
<211> 594
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 58

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1

5

10

15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

20

25

30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35

40

45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val
465 470 475 480

Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr
485 490 495

Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala
500 505 510

Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
515 520 525

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
530 535 540

Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu
545 550 555 560

Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
565 570 575

Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His
580 585 590

His His

<210> 59
<211> 704
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 59

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

355					360					365						
Pro	Pro	Ser	Arg	Cys	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	
370					375					380						
Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
385					390					395					400	
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
405					410					415						
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
420					425					430						
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
435					440					445						
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	
450					455					460						
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Lys	
465					470					475					480	
Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Lys	
485					490					495						
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	
500					505					510						
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	

515 520 525

Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
530 535 540

Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu
545 550 555 560

Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val
565 570 575

Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
580 585 590

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
595 600 605

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
610 615 620

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
625 630 635 640

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
645 650 655

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
660 665 670

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

675 680 685

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
690 695 700

<210> 60
<211> 692
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 60

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
225 230 235 240

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val
465 470 475 480

Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr
485 490 495

Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala
500 505 510

Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly
515 520 525

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
530 535 540

Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu
545 550 555 560

Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
565 570 575

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg Thr Val Ala Ala Pro
580 585 590

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
595 600 605

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
610 615 620

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
625 630 635 640

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
645 650 655

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
660 665 670

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
675 680 685

Asn Arg Gly Glu
690

- <210> 61
- <211> 115
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 61

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 62

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 62

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 63
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 63

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

- <210> 64
- <211> 587
- <212> PRT
- <213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 64

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
325 330 335

Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro
340 345 350

Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr
355 360 365

Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe
370 375 380

Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala
385 390 395 400

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr
405 410 415

Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr
420 425 430

Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
450 455 460

Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu
465 470 475 480

Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met
485 490 495

Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg
500 505 510

Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
515 520 525

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr
530 535 540

Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
565 570 575

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
580 585

<210> 65
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 65

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

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

305

310

315

320

Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 66

<211> 587

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 66

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
325 330 335

Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro
340 345 350

Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr
355 360 365

Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe
370 375 380

Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala
385 390 395 400

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr
405 410 415

Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr
420 425 430

Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
450 455 460

Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu
465 470 475 480

Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met
485 490 495

Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg
500 505 510

Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
515 520 525

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr
530 535 540

Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
565 570 575

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
580 585

<210> 67
<211> 141
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 67

Asp Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys
1 5 10 15

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr
35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
100 105 110

Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
115 120 125

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135 140

<210> 68
<211> 179
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68

Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1 5 10 15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
20 25 30

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

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

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
85 90 95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp

100

105

110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg

115120125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser

130135140

Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala

145150155160

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp

165170175

Ser Arg Gly

<210> 69
<211> 173
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69

Asp Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu

151015

Pro Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys

202530

Leu Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu

354045

Lys Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys
50 55 60

Thr Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys
65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys
85 90 95

Asn Gly Val Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val
100 105 110

Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr
115 120 125

Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu
145 150 155 160

Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
165 170

- <210> 70
- <211> 204
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- <400> 70

Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu Pro
1 5 10 15

Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys Leu
20 25 30

Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Ile Ile Lys Ile His Trp Gln Glu Lys
35 40 45

Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys Thr
50 55 60

Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Glu Ser
65 70 75 80

Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys Asn
85 90 95

Gly Ile Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val Thr
100 105 110

Thr Val Asp Pro Lys Asp Ser Tyr Ser Lys Asp Ala Asn Asp Val Thr
115 120 125

Thr Val Asp Pro Lys Tyr Asn Tyr Ser Lys Asp Ala Asn Asp Val Ile
130 135 140

Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Trp Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu
145 150 155 160

Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu
165 170 175

Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu
180 185 190

Gly Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
195 200

<210> 71
<211> 177
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 71

Pro Ser Tyr Thr Gly Gly Tyr Ala Asp Lys Leu Ile Phe Gly Lys Gly
1 5 10 15

Thr Arg Val Thr Val Glu Pro Arg Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser
20 25 30

Val Phe Val Met Lys Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu
35 40 45

Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Arg Ile Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile
50 55 60

Thr Glu Phe Asp Pro Ala Ile Val Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn
65 70 75 80

Ala Val Lys Leu Gly Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser
85 90 95

Val Gln His Asp Asn Lys Thr Val His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys
100 105 110

Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys
115 120 125

Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu
130 135 140

Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe
145 150 155 160

Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe
165 170 175

Leu

- <210> 72
- <211> 19
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> signal 序列

<400> 72

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

Val His Ser

<210> 73
<211> 466
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 73

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

Val His Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
35 40 45

Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu
50 55 60

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile
85 90 95

Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp
100 105 110

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
115 120 125

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
145 150 155 160

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
195 200 205

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
210 215 220

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
245 250 255

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
260 265 270

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
275 280 285

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
290 295 300

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
325 330 335

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
340 345 350

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
355 360 365

Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
370 375 380

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
385 390 395 400

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
405 410 415

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
420 425 430

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
435 440 445

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
450 455 460

Asp Lys
465

<210> 74
<211> 251
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 74

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

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

Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
115 120 125

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
130 135 140

Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
145 150 155 160

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
165 170 175

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
180 185 190

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
195 200 205

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
210 215 220

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
225 230 235 240

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 75
<211> 484
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 75

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

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

Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
115 120 125

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
130 135 140

Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
145 150 155 160

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
165 170 175

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
180 185 190

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
195 200 205

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
210 215 220

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
225 230 235 240

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp Lys Thr His Thr
245 250 255

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
260 265 270

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
275 280 285

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
290 295 300

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
305 310 315 320

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
325 330 335

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
340 345 350

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
355 360 365

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
370 375 380

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
385 390 395 400

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
405 410 415

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
420 425 430

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
435 440 445

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
450 455 460

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp
465 470 475 480

Asp Asp Asp Lys

- <210> 76
- <211> 233
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 76

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

Val His Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val
35 40 45

Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu
50 55 60

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile
85 90 95

Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp
100 105 110

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
115 120 125

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
145 150 155 160

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
195 200 205

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
210 215 220

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230

<210> 77
<211> 466
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 77

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

Val His Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser
20 25 30

Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val
35 40 45

Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60

Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu
85 90 95

Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp
100 105 110

Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
115 120 125

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
145 150 155 160

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
195 200 205

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
210 215 220

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
245 250 255

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
260 265 270

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
275 280 285

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
290 295 300

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
305 310 315 320

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
325 330 335

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
340 345 350

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
355 360 365

Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
370 375 380

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
385 390 395 400

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
405 410 415

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
420 425 430

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
435 440 445

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
450 455 460

Asp Lys
465

- <210> 78
- <211> 251
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 78

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

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

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile
115 120 125

Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
145 150 155 160

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
165 170 175

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
180 185 190

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
195 200 205

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
210 215 220

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
225 230 235 240

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 79
<211> 475
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 79

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

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

Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala
35 40 45

Phe Thr Asn Tyr Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly
50 55 60

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

Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Phe Glu Asp Ser Ala
100 105 110

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

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145 150 155 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
165 170 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
180 185 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
195 200 205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
210 215 220

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
225 230 235 240

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
245 250 255

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
260 265 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
275 280 285

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
290 295 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser
305 310 315 320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
355 360 365

Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
370 375 380

Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
385 390 395 400

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
405 410 415

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro His His His His His His His
465 470 475

- <210> 80
- <211> 239
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 80

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

Val His Ser Glu Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val
20 25 30

Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys
50 55 60

Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 81
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 81

Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
290 295 300

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro
450

- <210> 82
- <211> 216
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 82

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 83
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 83

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 84
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 84

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 85
<211> 453

<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 85

Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
290 295 300

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys
355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser
405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro
450

<210> 86
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 86

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Glu Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

- <210> 87
- <211> 443
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 87

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

- <210> 88
- <211> 443
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 88

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

- <210> 89
- <211> 219
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>

<223> 人工合成的序列

<400> 89

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Lys Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Lys Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Lys Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 90
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 90

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Lys
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Lys Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Lys Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Lys Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 91
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工的序列

<220>
<223> 人工合成的序列

<400> 91

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr
65 70 75 80

Pro Phe Thr Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln
85 90 95

Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr
100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
195 200 205

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
225 230 235 240

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
245 250 255

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
275 280 285

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
290 295 300

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr
305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
325 330 335

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
340 345 350

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
355 360 365

Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
370 375 380

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
405 410 415

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
420 425 430

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
435 440 445

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Ser Pro His His His His His His His His
465 470

- <210> 92
- <211> 233
- <212> PRT
- <213> 人工的序列

- <220>
- <223> 人工合成的序列

<400> 92

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

Val His Ser Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val
20 25 30

Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
35 40 45

Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg
50 55 60

Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg
65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser
85 90 95

Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn
100 105 110

Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr
115 120 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
130 135 140

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145 150 155 160

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
165 170 175

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
195 200 205

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
210 215 220

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230



【發明摘要】

【中文發明名稱】 細胞傷害誘導治療劑

【中文】

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

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種多胜肽聯合體，包括：

- (1) 抗原結合域，
- (2) 包含對Fc γ 受體結合活性低落的Fc區域之域，及
- (3) T細胞受體複合體結合域，其中該T細胞受體複合體結合域為Fv或scFv。

【第2項】 如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，該T細胞受體複合體結合域為T細胞受體結合域。

【第3項】 如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，該T細胞受體複合體結合域為CD3結合域。

【第4項】 如申請專利範圍第1至3項中任一項之多胜肽聯合體，其中，該抗原結合域為二價的抗原結合域。

【第5項】 如申請專利範圍第4項之多胜肽聯合體，其中，該二價的抗原結合域為具有F(ab')₂構造的域。

【第6項】 如申請專利範圍第5項之多胜肽聯合體，其中，構成該具有F(ab')₂構造的域之重鏈恆定區的二個多胜肽分別連結於構成Fc區域的二個多胜肽的任一者。

【第7項】 如申請專利範圍第6項之多胜肽聯合體，其中，CD3結合域連結於構成Fc區域的一個或二個CH₃。

【第8項】 如申請專利範圍第7項之多胜肽聯合體，其中，構成CD3結合域的重鏈Fv片段連結於構成Fc區域的一個的CH₃，構成CD3結合域的輕鏈Fv片段連結於構成Fc區域之另一個CH₃。

【第9項】 如申請專利範圍第8項之多胜肽聯合體，其中，構成CD3結合域之重鏈Fv片段連結於抗體的CH₁域，以及輕鏈Fv片段連結於抗體之CL域。

【第10項】 如申請專利範圍第6項之多胜肽聯合體，其中，CD3結合域連結

於構成F(ab')₂的一個或二個CL。

【第11項】如申請專利範圍第6項之多胜肽聯合體，其中，CD3結合域連結於構成F(ab')₂的一個或二個VH。

【第12項】如申請專利範圍第6項之多胜肽聯合體，其中，CD3結合域連結於構成F(ab')₂的一個或二個VL。

【第13項】如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，CD3結合域為一價。

【第14項】如申請專利範圍第1至3項中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域為一價之scFv及一價之Fab。

【第15項】如申請專利範圍第14項之多胜肽聯合體，其中，一價的scFv以中間為構成CD3結合域之scFv連結於構成Fc區域的一個多胜肽，一價的Fab之重鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域之一個多胜肽，且該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結。

【第16項】如申請專利範圍第1至3項中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域為二價之scFv。

【第17項】如申請專利範圍第16項之多胜肽聯合體，其中，一價的scFv以中間為構成CD3結合域之重鏈Fv片段連結於構成Fc區域的一個多胜肽，另一個一價的scFv以中間為構成CD3結合域之輕鏈Fv片段連結於構成Fc區域的另一個多胜肽。

【第18項】如申請專利範圍第16項之多胜肽聯合體，其中，一價的scFv以中間為構成CD3結合域之scFv連結於構成Fc區域的一個多胜肽，另一個一價的scFv連結於構成Fc區域的另一個多胜肽。

【第19項】如申請專利範圍第1至3項中任一項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域、及T細胞受體複合體結合域各為一價的Fab。

【第20項】如申請專利範圍第19項之多胜肽聯合體，其中，構成抗原結合域的一價Fab的重鏈Fv片段，以中間為CH1區域連結於構成Fc區域的一個多胜肽，該Fab的輕鏈Fv片段與CL區域連結，且構成T細胞受體結合域的Fab的重鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域的另一個多胜肽，該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結。

【第21項】如申請專利範圍第19項之多胜肽聯合體，其中，構成抗原結合域的一價Fab的重鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域的一個多胜肽，該Fab之輕鏈Fv片段與CL區域連結，構成T細胞受體結合域的Fab的輕鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域的另一個多胜肽，且該Fab之重鏈Fv片段與CL區域連結。

【第22項】如申請專利範圍第19項之多胜肽聯合體，其中，構成抗原結合域的一價Fab的重鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域的一個多胜肽，該Fab的輕鏈Fv片段與CL區域連結，構成T細胞受體結合域的Fab的重鏈Fv片段以中間為CL區域連結於構成Fc區域的另一個多胜肽，該Fab之輕鏈Fv片段與CH1區域連結。

【第23項】如申請專利範圍第19項之多胜肽聯合體，其中，構成T細胞受體結合域的一價Fab的重鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域的一個多胜肽，該Fab的輕鏈Fv片段與CL區域連結，構成抗原結合域的Fab的輕鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域的另一個多胜肽，該Fab之重鏈Fv片段與CL區域連結。

【第24項】如申請專利範圍第19項之多胜肽聯合體，其中，構成T細胞受體結合域的一價Fab的重鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域的一個多胜肽，該Fab的輕鏈Fv片段與CL區域連結，構成抗原結合域的Fab的重鏈Fv片段以中間為CL區域連結於構成Fc區域的另一個多胜肽，該Fab之輕鏈Fv片段與CH1

區域連結。

【第25項】如申請專利範圍第19項之多胜肽聯合體，其包括：

(1) 結合於抗原的一價Fab構造的重鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成該Fc區域的一個多胜肽且該Fab構造的輕鏈Fv片段與CL區域連結的抗原結合域；以及

(2) 結合於T細胞受體複合體的一價Fab構造的重鏈Fv片段以中間為CH1區域連結於構成Fc區域之另一個多胜肽且該Fab構造的輕鏈Fv片段與CL區域連結的T細胞受體複合體結合域；

其中，以抗原結合域中的重鏈Fv片段與抗原結合域中的輕鏈Fv片段聯合、或以T細胞受體結合域中的重鏈Fv片段與T細胞受體結合域中的輕鏈Fv片段聯合，控制CH1區域與CL區域的電荷。

【第26項】如申請專利範圍第25項之多胜肽聯合體，其中，連結於T細胞受體複合體結合域中重鏈Fv片段的CH1區域之胺基酸殘基、及連結於抗原結合域中輕鏈Fv片段的CL區域之胺基酸殘基，具有同種電荷。

【第27項】如申請專利範圍第25項之多胜肽聯合體，其中，連結於抗原結合域中重鏈Fv片段的CH1區域之胺基酸殘基、及連結於T細胞受體複合體結合域中輕鏈Fv片段的CL區域之胺基酸殘基，具有同種電荷。

【第28項】如申請專利範圍第25項之多胜肽聯合體，其中，連結於T細胞受體複合體結合域中重鏈Fv片段的CH1區域之胺基酸殘基、及連結於抗原結合域中輕鏈Fv片段的CL區域之胺基酸殘基，具有同種電荷，且連結於抗原結合域中重鏈Fv片段的CH1區域之胺基酸殘基、及連結於T細胞受體複合體結合域中輕鏈Fv片段的CL區域之胺基酸殘基，具有同種電荷。

【第29項】如申請專利範圍第26或28項之多胜肽聯合體，其中，連結於T細胞受體複合體結合域中重鏈Fv片段的CH1區域之胺基酸殘基、及連結於T細胞受

體結合域中輕鏈Fv片段的CL區域之胺基酸殘基，具有異種電荷。

【第30項】如申請專利範圍第27或28項之多胜肽聯合體，其中，連結於抗原結合域中重鏈Fv片段的CH1區域之胺基酸殘基、及連結於抗原結合域中輕鏈Fv片段的CL區域之胺基酸殘基，具有異種電荷。

【第31項】如申請專利範圍第19項之多胜肽聯合體，其中，T細胞受體複合體結合域為T細胞受體結合域。

【第32項】如申請專利範圍第31項之多胜肽聯合體，其中，T細胞受體結合域為CD3結合域。

【第33項】如申請專利範圍第29項之多胜肽聯合體，其中，CH1區域的胺基酸殘基及CL區域的胺基酸殘基選自由下列(a)～(f)所示的1組或2組以上的胺基酸殘基所構成的群組，

(a) CH1區域的胺基酸殘基，EU編號147位的胺基酸殘基，及CL區域的的胺基酸殘基，EU編號180位的胺基酸殘基；

(b) CH1區域的胺基酸殘基，EU編號147位的胺基酸殘基，及CL區域的的胺基酸殘基，EU編號131位的胺基酸殘基；

(c) CH1區域的胺基酸殘基，EU編號147位的胺基酸殘基，及CL區域的的胺基酸殘基，EU編號164位的胺基酸殘基；

(d) CH1區域的胺基酸殘基，EU編號147位的胺基酸殘基，及CL區域的的胺基酸殘基，EU編號138位的胺基酸殘基；

(e) CH1區域的胺基酸殘基，EU編號147位的胺基酸殘基，及CL區域的的胺基酸殘基，EU編號123位的胺基酸殘基；

(f) CH1區域的胺基酸殘基，EU編號175位的胺基酸殘基，及CL區域的的胺基酸殘基，EU編號160位的胺基酸殘基；

且CH1區域的胺基酸殘基與CL區域的胺基酸殘基為具有異種電荷的胺基酸

殘基。

【第34項】如申請專利範圍第33項之多胜肽聯合體，更選自由包含下述(g)所示之胺基酸殘基的群組：

(g)CH1區域的胺基酸殘基，EU編號213位的胺基酸殘基，及CL區域的的胺基酸殘基，EU編號123位的胺基酸殘基。

【第35項】如申請專利範圍第33項之多胜肽聯合體，其中，該具有異種電荷的胺基酸殘基係選自由下述(X)或(Y)任一群組所含的胺基酸殘基：

(X)麩胺酸(E)、天冬胺酸(D)；

(Y)離胺酸(K)、精胺酸(R)、組胺酸(H)。

【第36項】如申請專利範圍第33項中任一項之多胜肽聯合體，其中，該具有異種電荷的胺基酸殘基為，CH1區域的胺基酸殘基且EU編號175位之胺基酸殘基為Lys，CL區域的胺基酸殘基且EU編號180位、131位及160位之胺基酸殘基均為Glu。

【第37項】如申請專利範圍第33項之多胜肽聯合體，其中，該具異種電荷之胺基酸殘基為，CH1區域的胺基酸殘基且EU編號147位及175位之胺基酸殘基為Glu，CL區域的胺基酸殘基且EU編號180位、131位及160位之胺基酸殘基均為Lys。

【第38項】如申請專利範圍第37項之多胜肽聯合體，更為CH1區域的胺基酸殘基且EU編號213位之胺基酸殘基為Glu，CL區域的胺基酸殘基且EU編號123位之胺基酸殘基為Lys。

【第39項】如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域為對於FcγI、FcγIIA、FcγIIB、FcγIIIA及/或FcγIIIB任一個Fcγ受體的結合活性降低的Fc區域。

【第40項】如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域為構成

序列編號：23記載之Fc區域、序列編號：24記載之Fc區域、序列編號：25記載之Fc區域、或序列編號：26記載之Fc區域的胺基酸經過突變的Fc區域。

【第41項】如申請專利範圍第40項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域為構成Fc區域的胺基酸中EU編號指定的下列任一胺基酸：

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

【第42項】如申請專利範圍第40項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域為構成Fc區域的胺基酸中EU編號指定的下列任一胺基酸經過突變：

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

【第43項】如申請專利範圍第42項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域為構成序列編號：23記載之Fc區域的胺基酸經過突變之Fc區域。

【第44項】如申請專利範圍第43項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域為構成Fc區域的胺基酸中EU編號指定的下列任一胺基酸取代為對應的IgG2或IgG4中EU編號對應的胺基酸：

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

【第45項】如申請專利範圍第43項之多胜肽聯合體，其中，該Fc區域為構成Fc區域的胺基酸中EU編號指定的下列任一胺基酸經過突變：

234位、235位、297位。

【第46項】如申請專利範圍第45項之多胜肽聯合體，其中，234位的胺基酸被取代為丙胺酸、235位的胺基酸被取代為丙胺酸、及/或297位的胺基酸被取代為丙胺酸。

【第47項】如申請專利範圍第40項之多胜肽聯合體，其中，構成Fc區域的二個多胜肽序列彼此具有不同的序列。

【第48項】如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，構成Fc區域的二個多胜肽的一個多胜肽的胺基酸殘基中，EU編號指定的349位的胺基酸被取代為半胱胺酸、366位的胺基酸被取代為色胺酸，另一個多胜肽的胺基酸殘基中，EU編號指定的356位的胺基酸被取代為半胱胺酸、366位的胺基酸被取代為絲胺酸、368位的胺基酸被取代為丙胺酸、407位的胺基酸被取代為纈胺酸。

【第49項】如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，構成Fc區域之二個多胜肽其中之一的多胜肽之胺基酸殘基當中，依照EU編號指定之356位之胺基酸被取代為離胺酸，另一多胜肽之胺基酸殘基當中，依照EU編號指定之439位之胺基酸被取代為麩胺酸，且任一者的多胜肽的胺基酸殘基當中，依照EU編號指定之435位之胺基酸被取代為精胺酸。

【第50項】如申請專利範圍第48項之多胜肽聯合體，其中，構成Fc區域的二個多胜肽之羧基末端的序列GK缺失。

【第51項】如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域結合於相同的抗原決定基。

【第52項】如申請專利範圍第51項之多胜肽聯合體，其中，相同的抗原決定基存在於由序列編號：2記載的胺基酸序列所構成的蛋白質中。

【第53項】如申請專利範圍第51項之多胜肽聯合體，其中，相同的抗原決定基存在於由序列編號：4記載的胺基酸序列所構成的蛋白質中。

【第54項】如申請專利範圍第1項之多胜肽聯合體，其中，抗原結合域結合於不同的抗原決定基。

【第55項】如申請專利範圍第54項之多胜肽聯合體，其中，不同的抗原決定基存在於由序列編號：2記載的胺基酸序列所構成的蛋白質中。

【第56項】如申請專利範圍第54項之多胜肽聯合體，其中，不同的抗原決定基存在於由序列編號：4記載的胺基酸序列所構成的蛋白質中。

【第57項】一種聚核苷酸，編碼如申請專利範圍第1至56項中任一項之多胜肽聯合體。

【第58項】一種載體，包含如申請專利範圍第57項之聚核苷酸。

【第59項】一種細胞，包含如申請專利範圍第58項之載體。

【第60項】一種多胜肽聯合體之製造方法，包含培養如申請專利範圍第59項之細胞並從培養上清液分離多胜肽聯合體的步驟。

【第61項】一種細胞傷害誘導治療劑，包含如申請專利範圍第1至56項中任一項之多胜肽聯合體當做有效成分。

【第62項】如申請專利範圍第61項之細胞傷害誘導治療劑，其中，該細胞傷害誘導治療劑為癌症治療劑。

【第63項】如申請專利範圍第62項之細胞傷害誘導治療劑，其中，該癌症為肝癌或肺癌。

【第64項】一種如申請專利範圍第1至56項中任一項之多胜肽聯合體在製備用以治療或預防癌症之藥物的用途。

【第65項】如申請專利範圍第64項之用途，其中，該癌症為肝癌或肺癌。

【發明圖式】

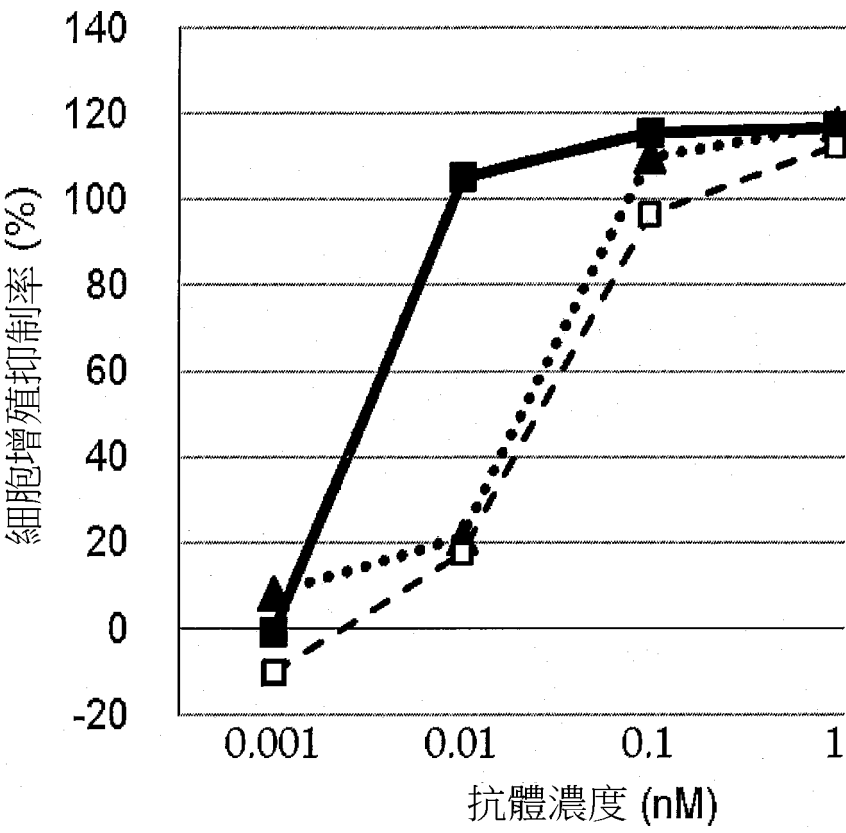


圖1

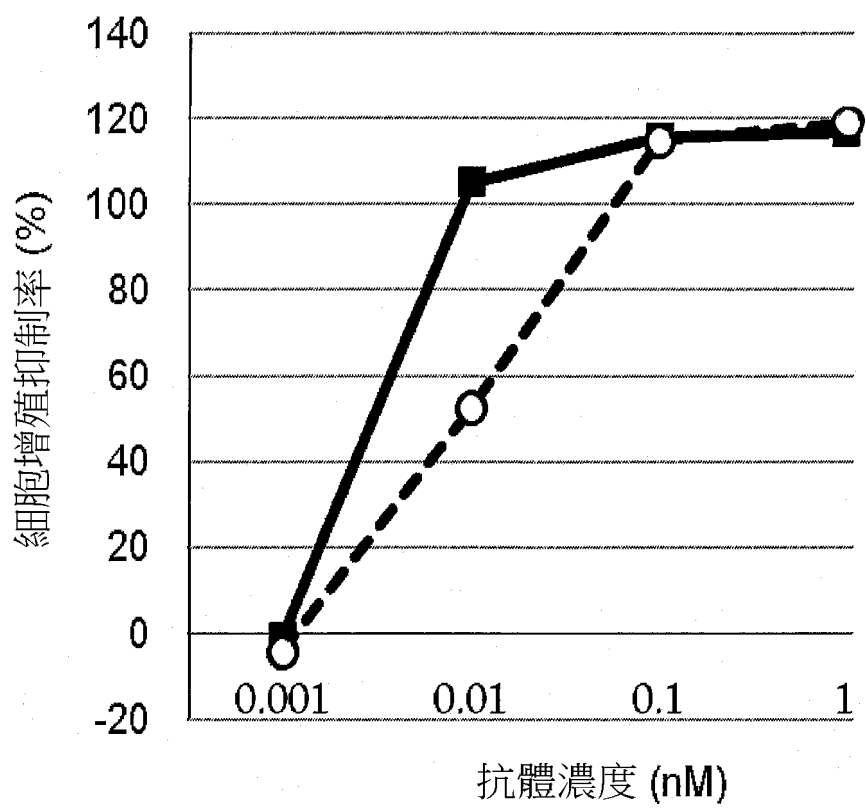


圖2

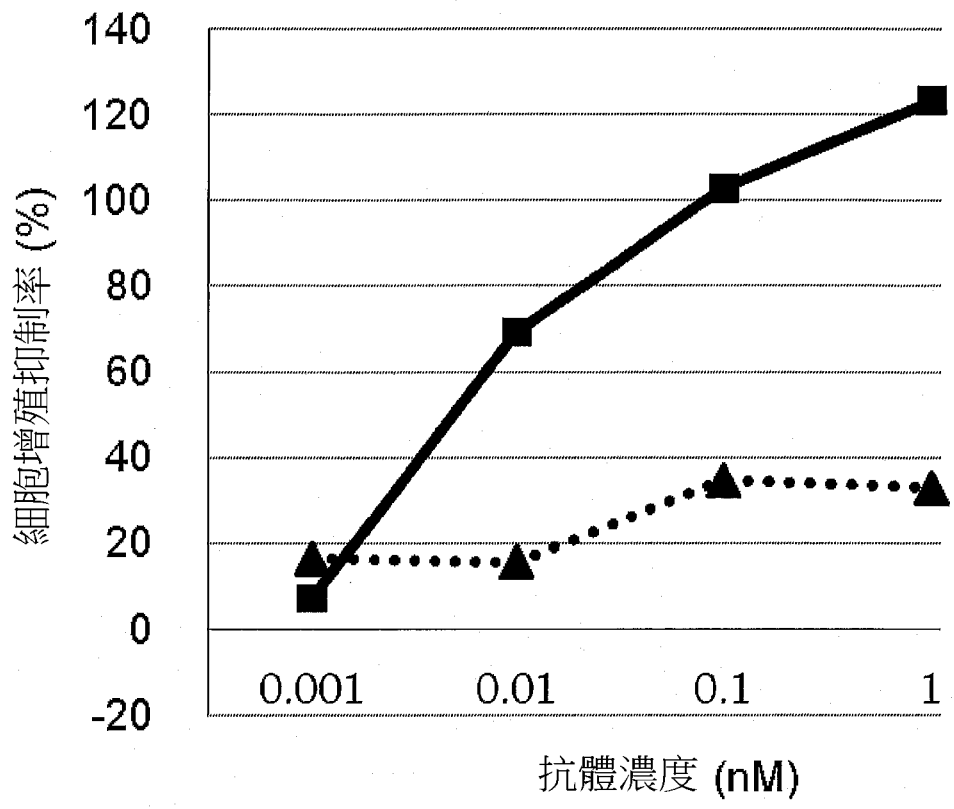


圖3

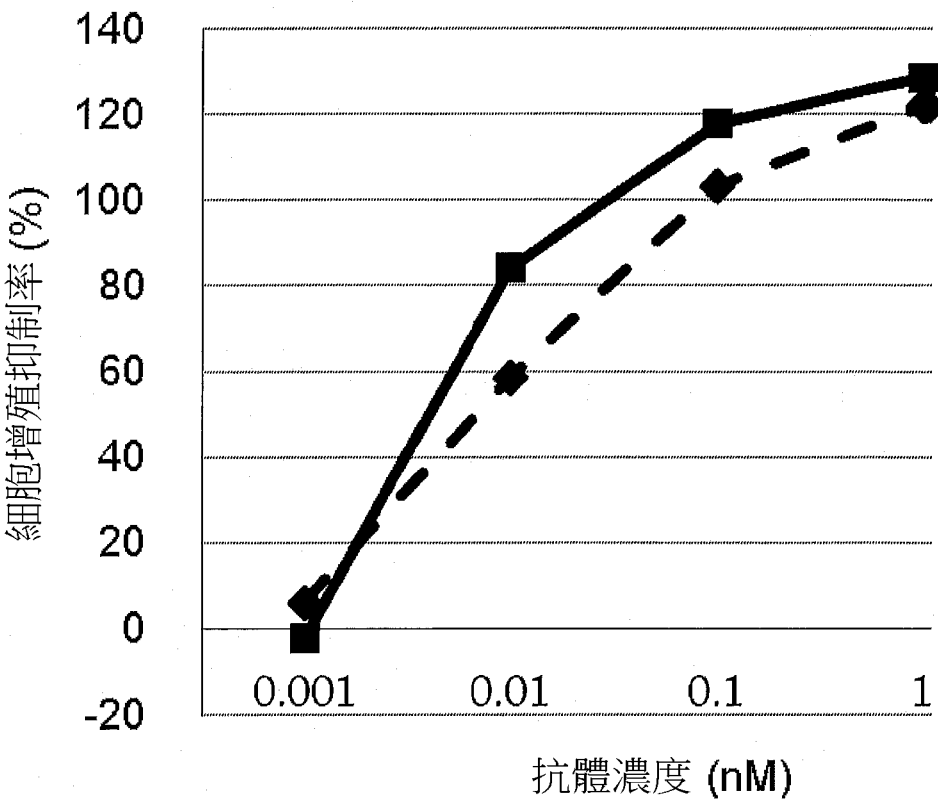


圖4

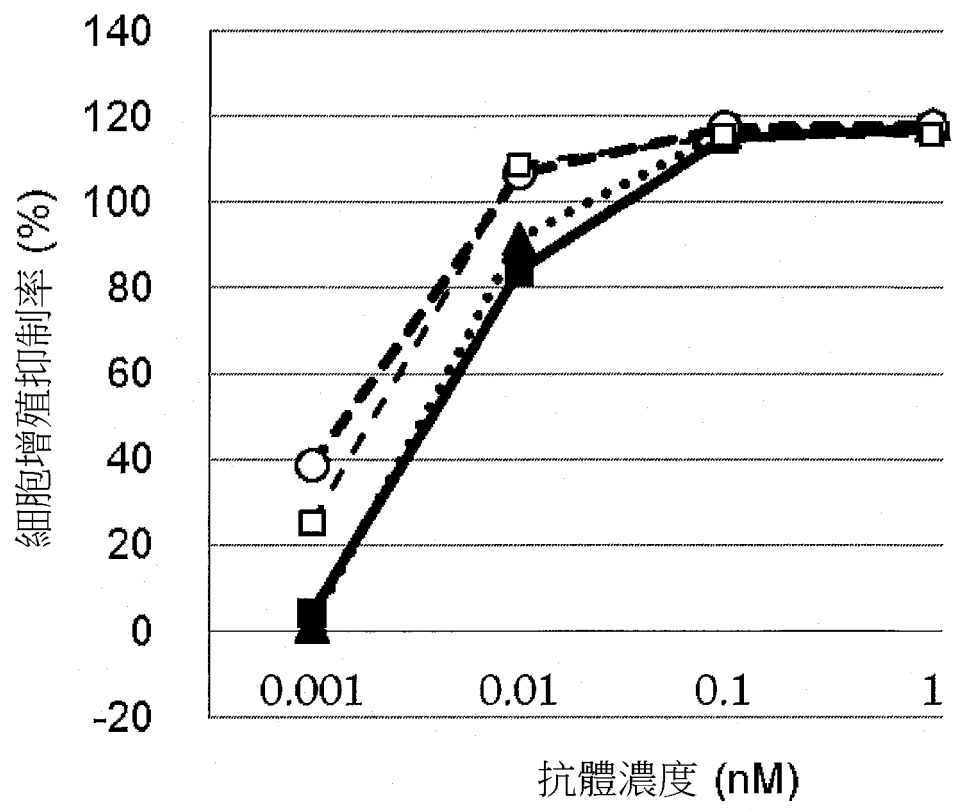


圖5

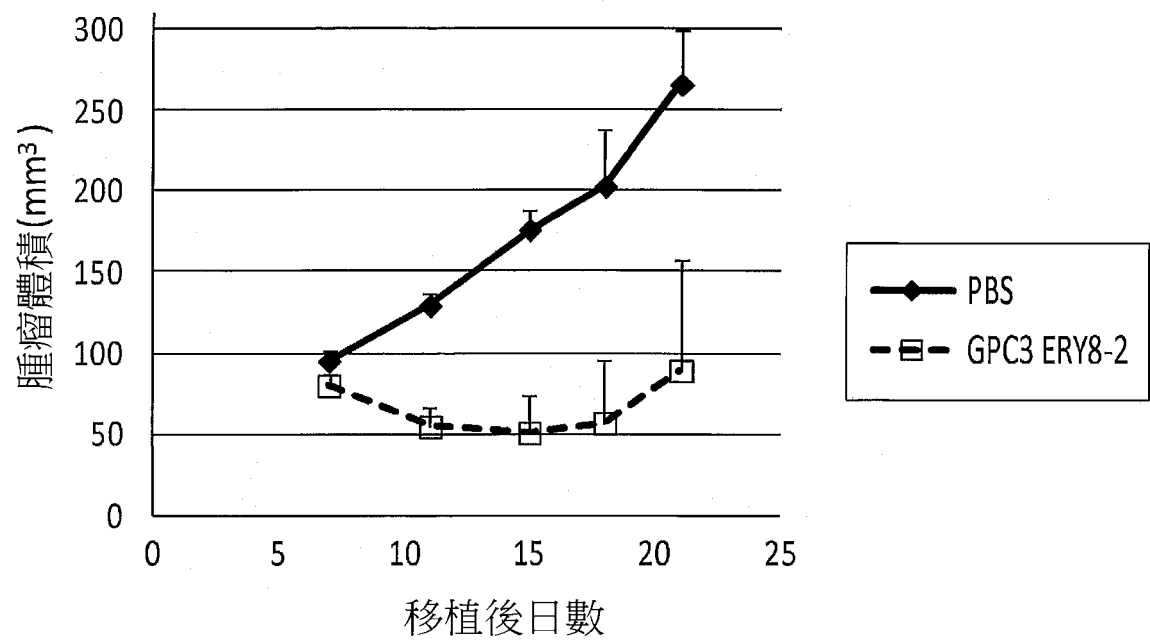


圖6

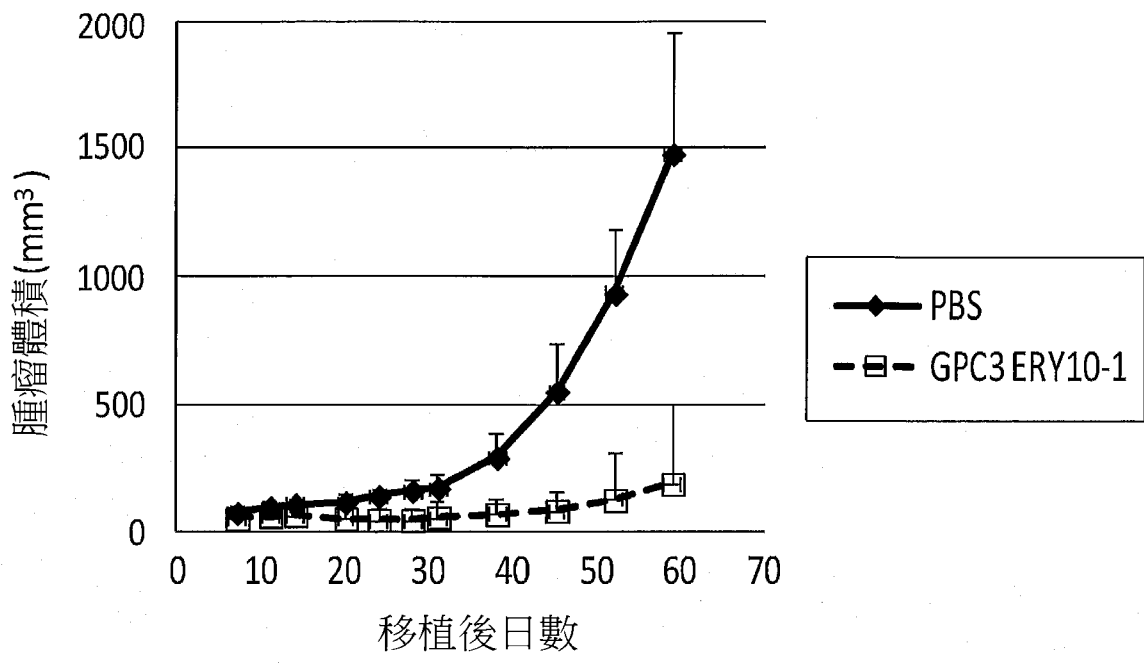


圖7

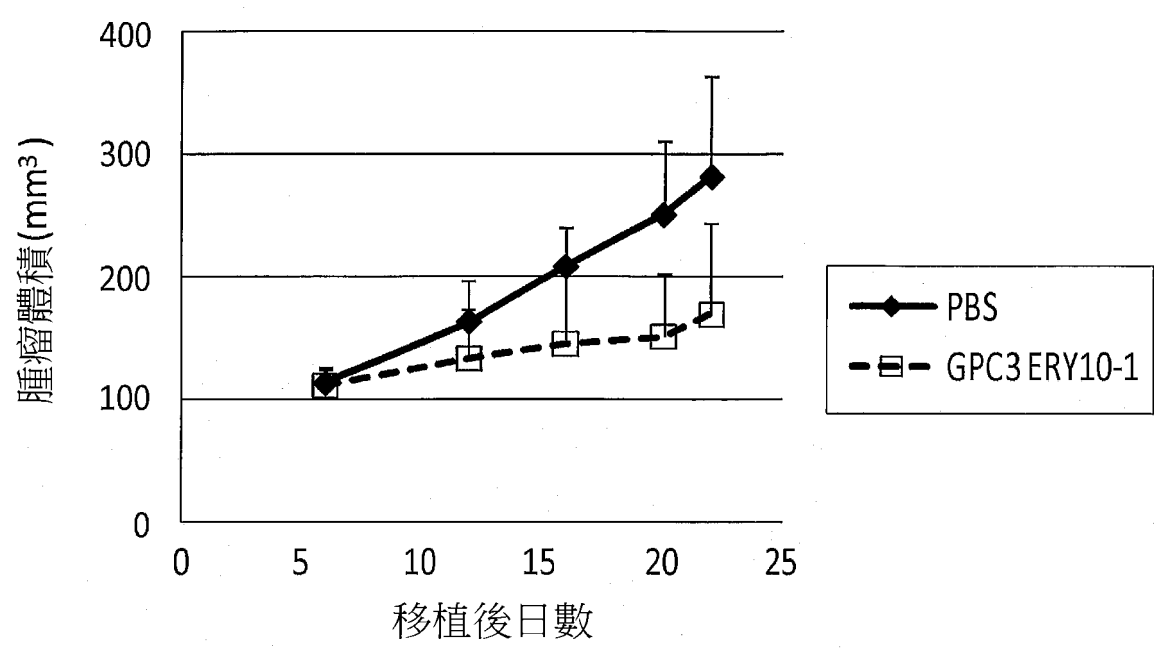


圖8

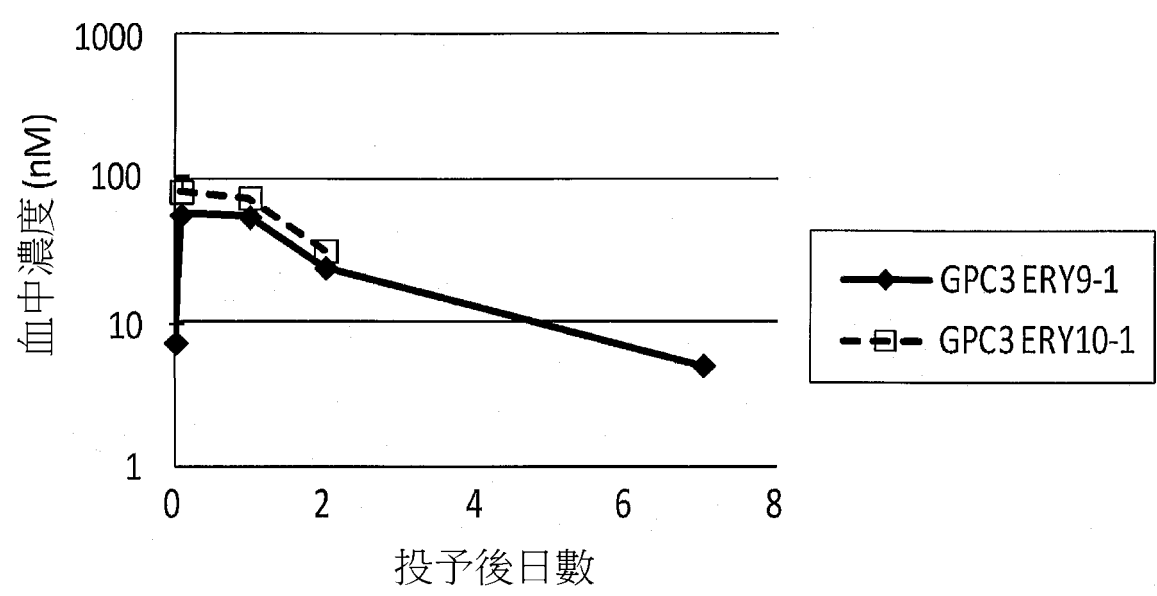


圖9

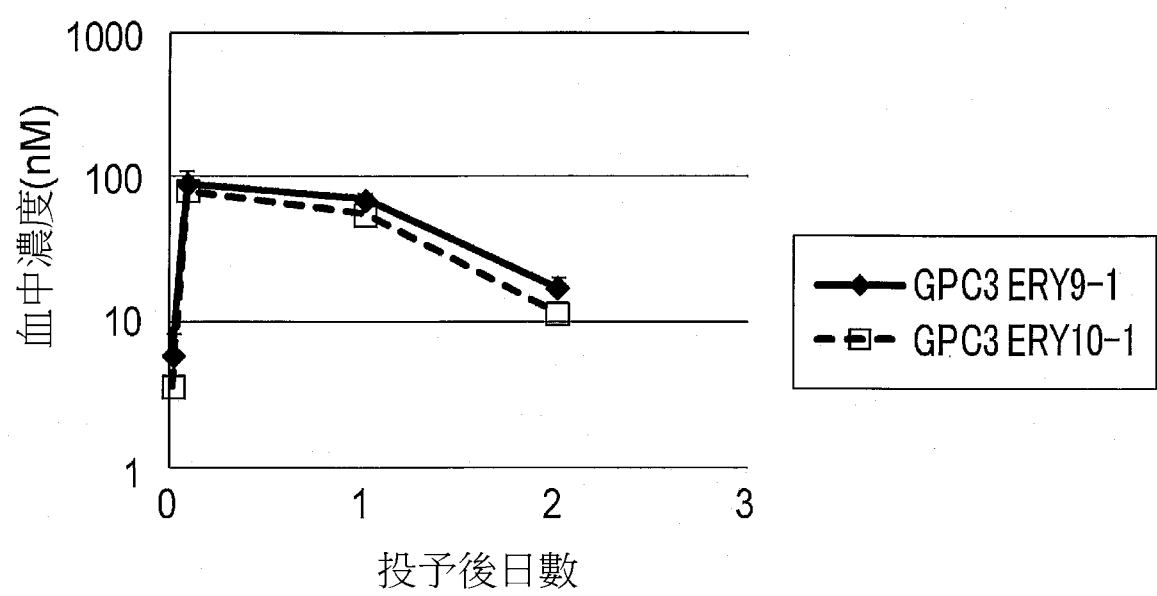


圖10

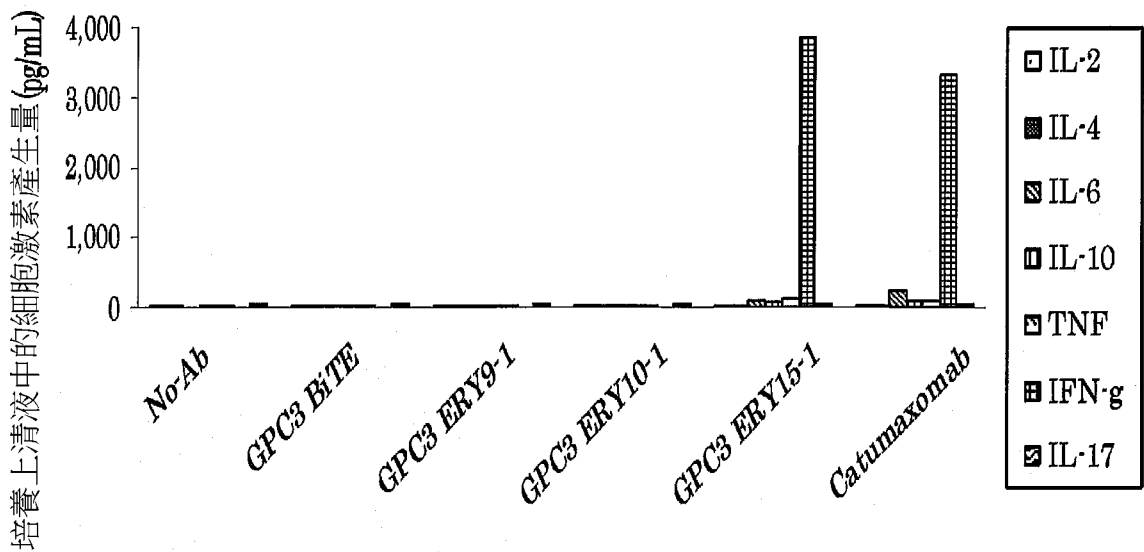


圖 11

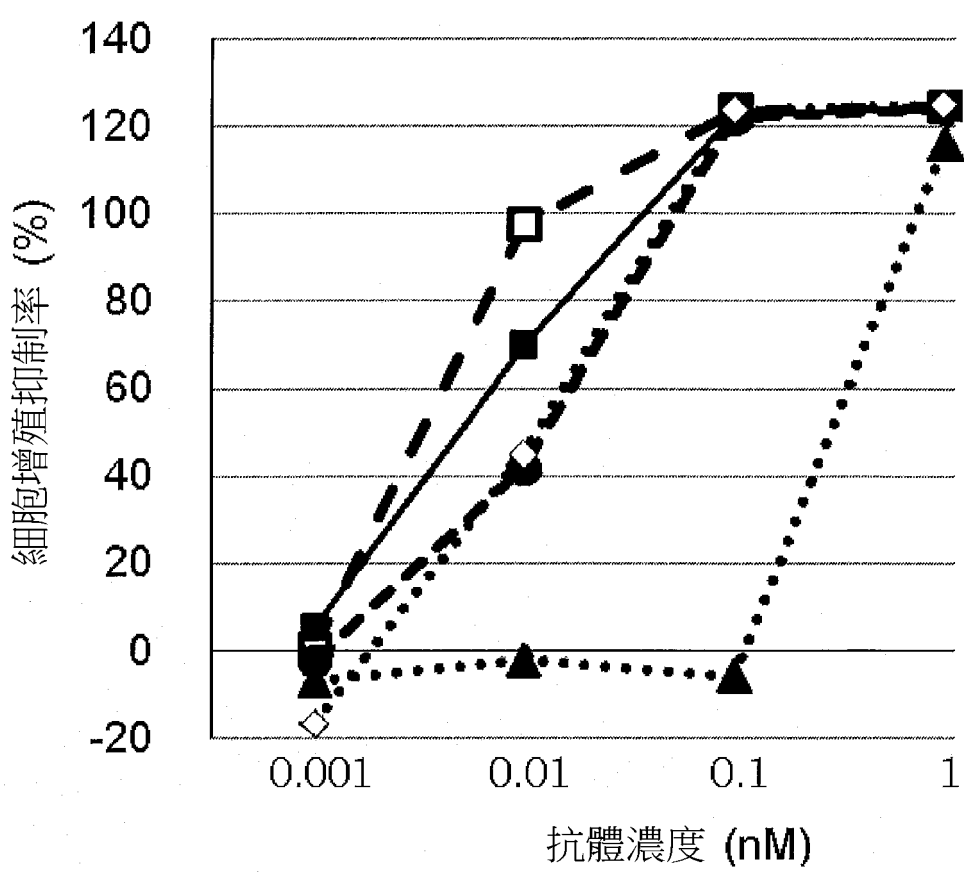


圖12

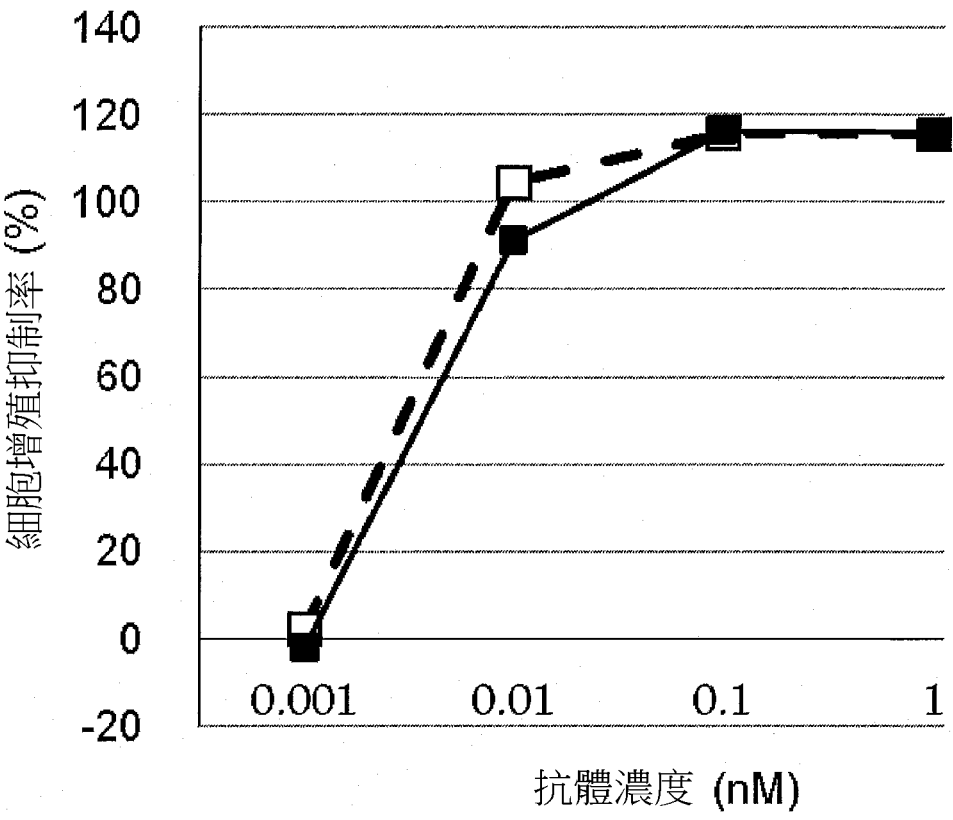


圖13

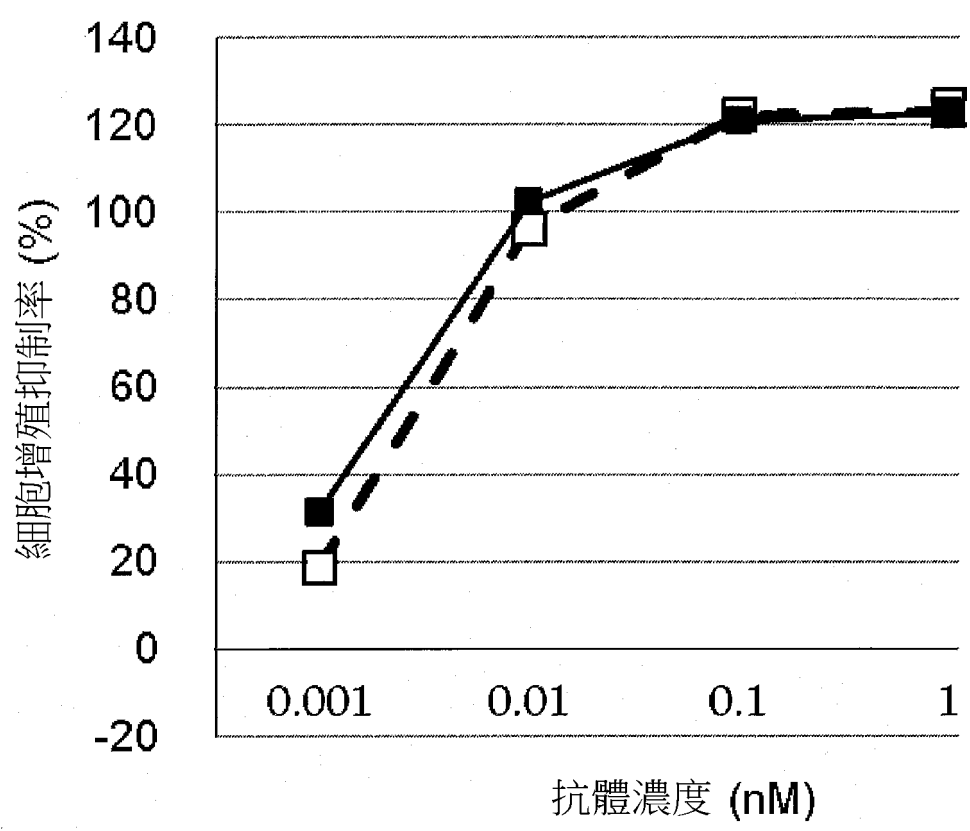


圖14

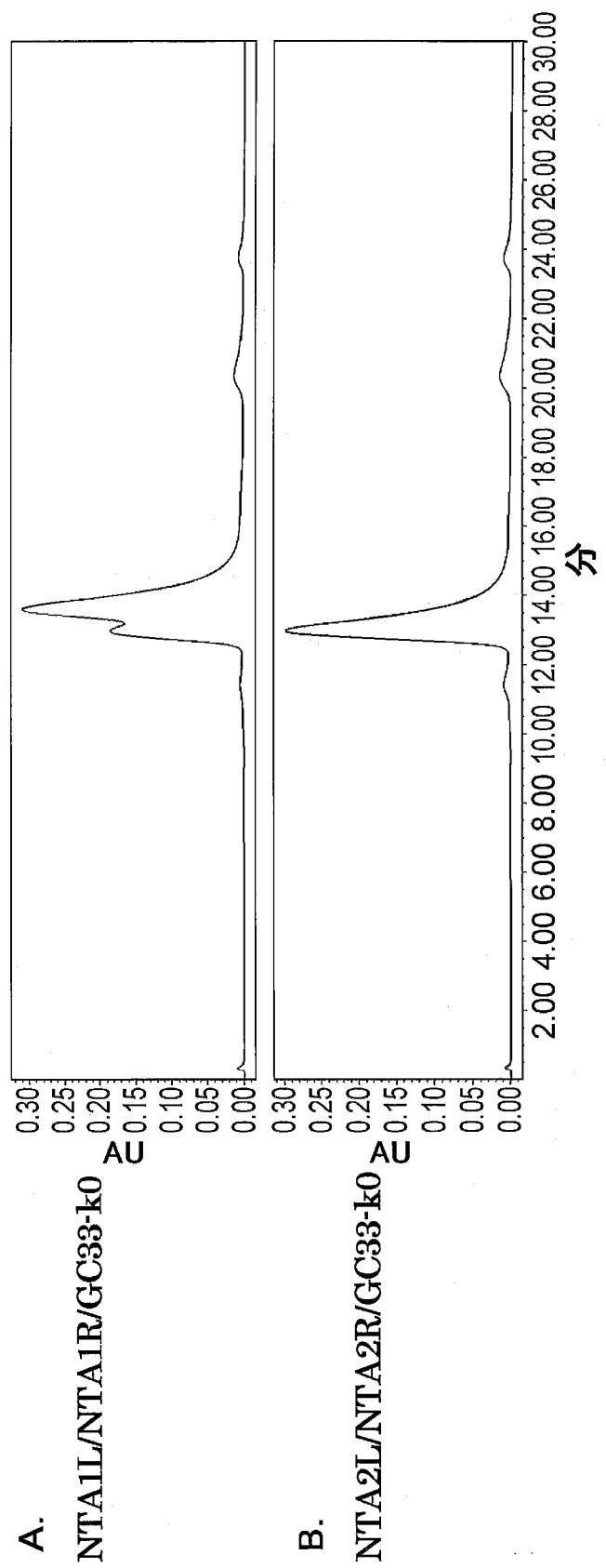


圖15

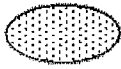
-  抗癌抗原 (GPC3、EpCAM、EGFR) 抗體H鏈可變區域
-  抗癌抗原 (GPC3、EpCAM、EGFR) 抗體L鏈可變區域
-  抗CD3抗體H鏈可變區域
-  抗CD3抗體L鏈可變區域
-  抗體恆定區
-  靜默Fc變異
-  異質Fc組合化變異

圖16

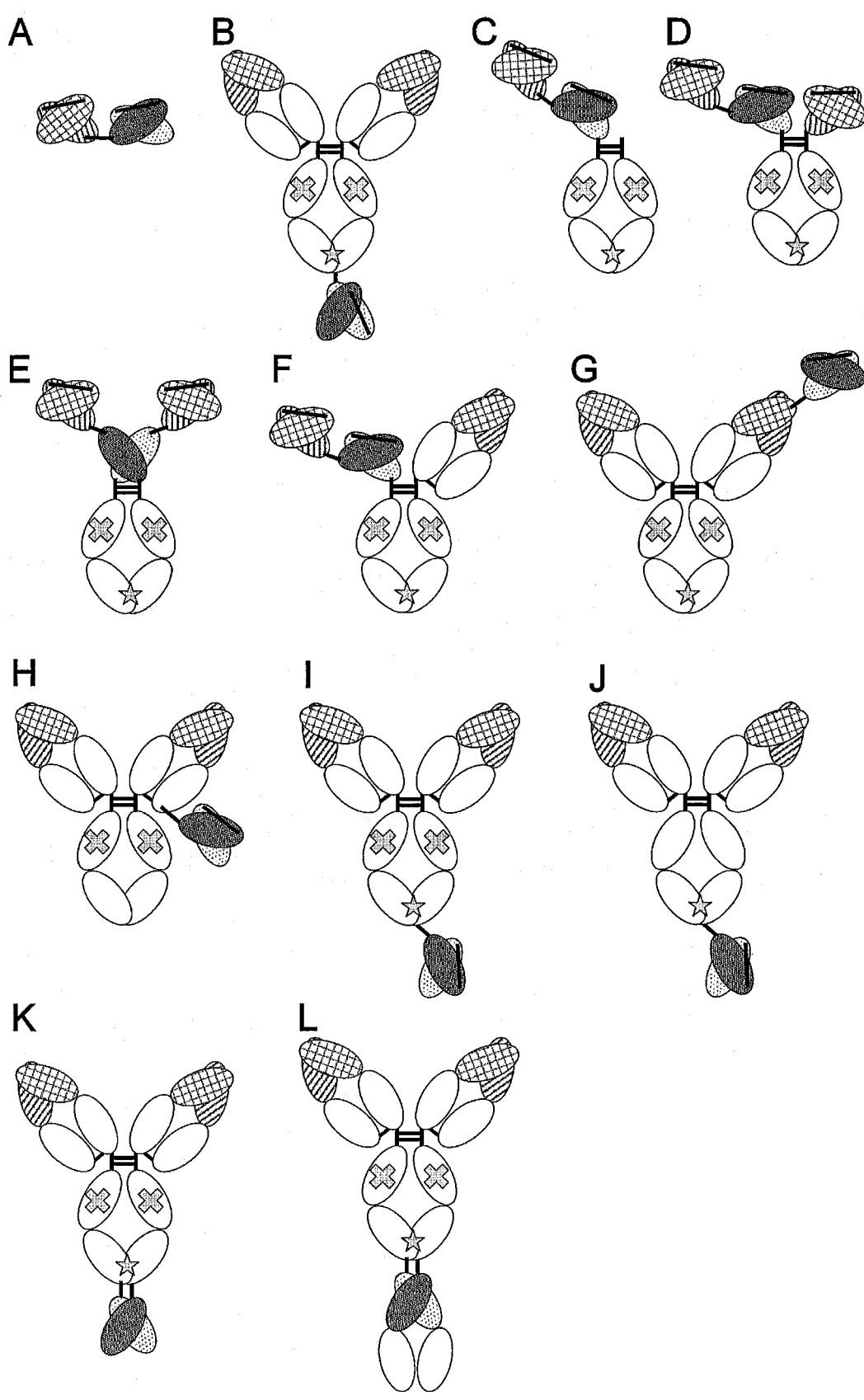


圖17

Kabat	1	2															
EU index	1-2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2						
	8-0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD-																
IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVHDKPSNTKVDKTKVERK--CC																
IgG3	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLG																
IgG4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYTCNVHDKPSNTKVDKRVESKYG--																
Kabat	2																
EU index	2	3	4	5	6	7	8										
	2	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
IgG1	-KTHTCPP-----CPAPELLGGPSVFLFPPPKKDTILMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD																
IgG2	-V-E-CPP-----CPAPPVA-GPSVFLFPPPKKDTILMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVD																
IgG3	DTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPPKKDTILMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVD																
IgG4	---PPCPS-----CPAPEFLGGPSVFLFPPPKKDTILMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVD																
Kabat	2	3															
EU index	8	0	1	2	3	4	5	6	7	8							
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
IgG1	GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG																
IgG2	GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYITLPPSREMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG																
IgG3	GVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYITLPPSREMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSG																
IgG4	GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG																
Kabat	3	4															
EU index	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7							
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
IgG1	QPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (序列編號:23)																
IgG2	QPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (序列編號:24)																
IgG3	QPENNYNTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMEALHNRTQKSLSLSPGK (序列編號:25)																
IgG4	QPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (序列編號:26)																

圖18

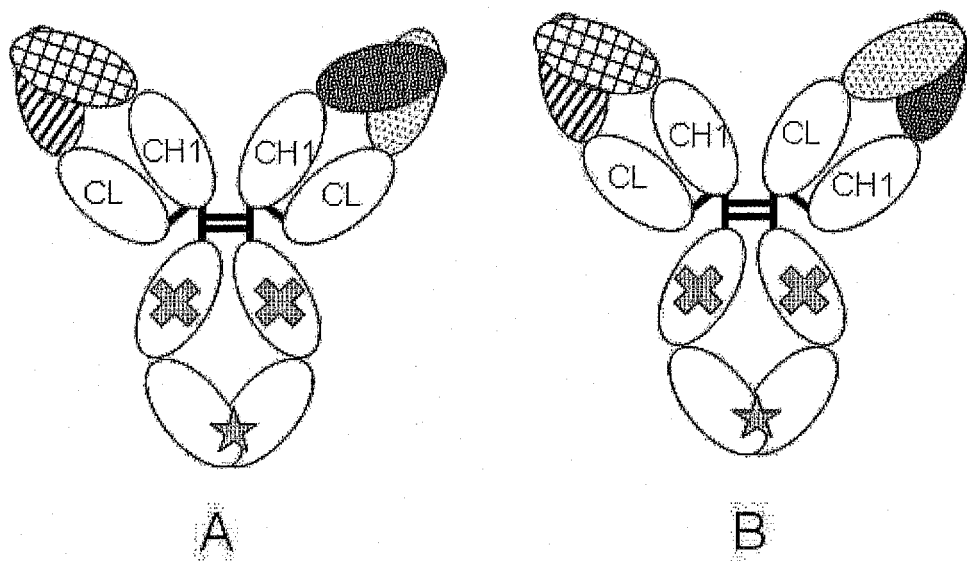


圖19

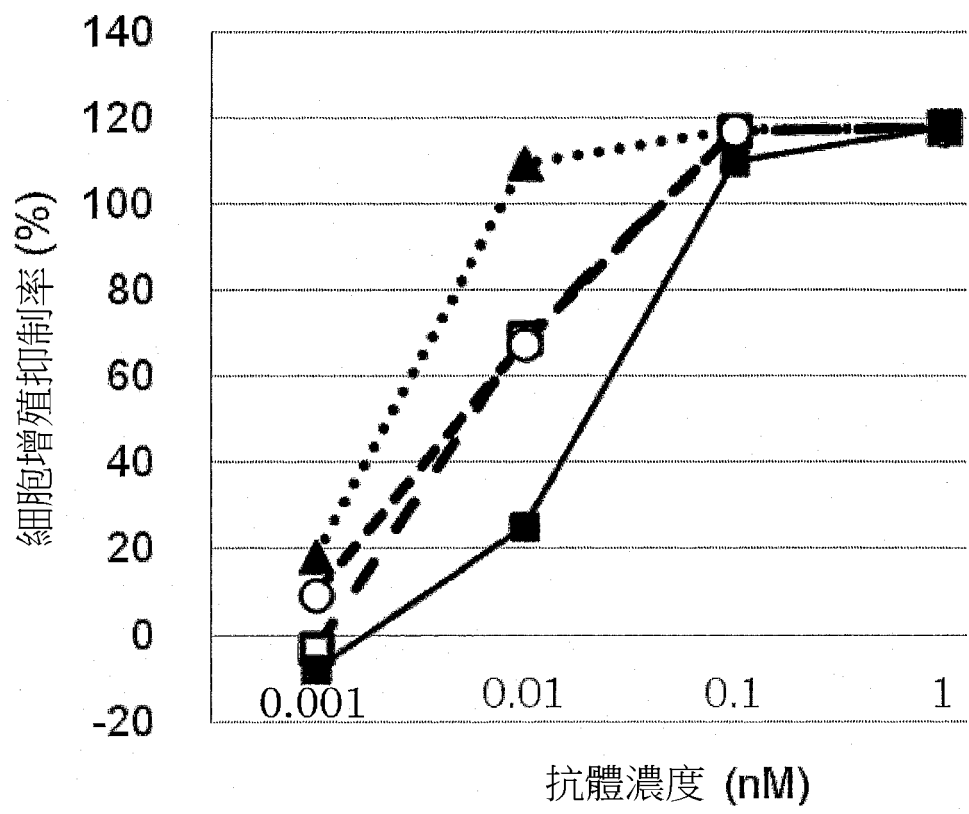


圖20

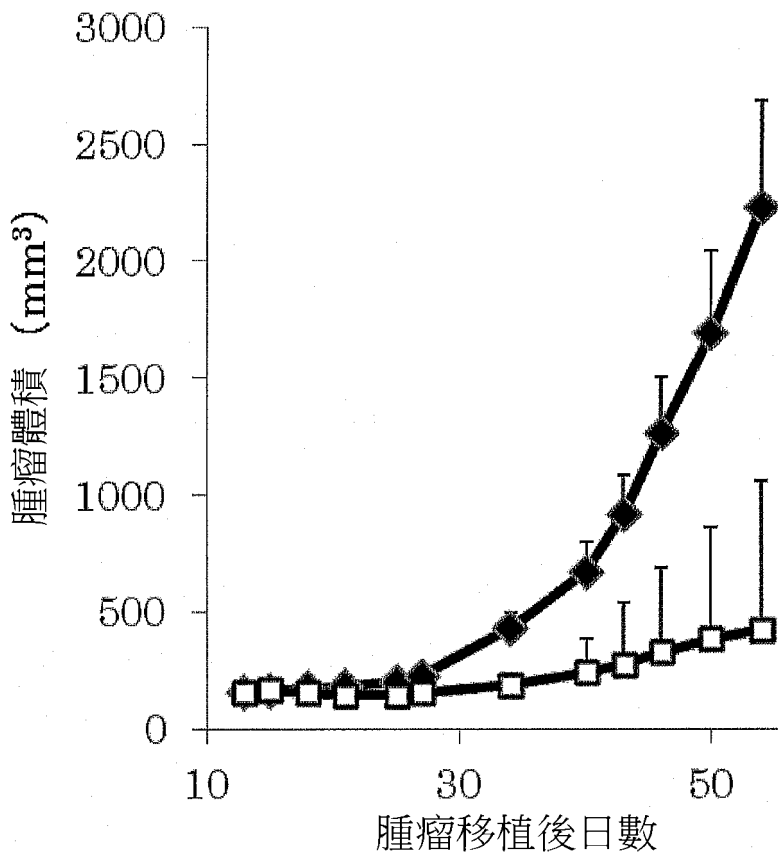


圖21

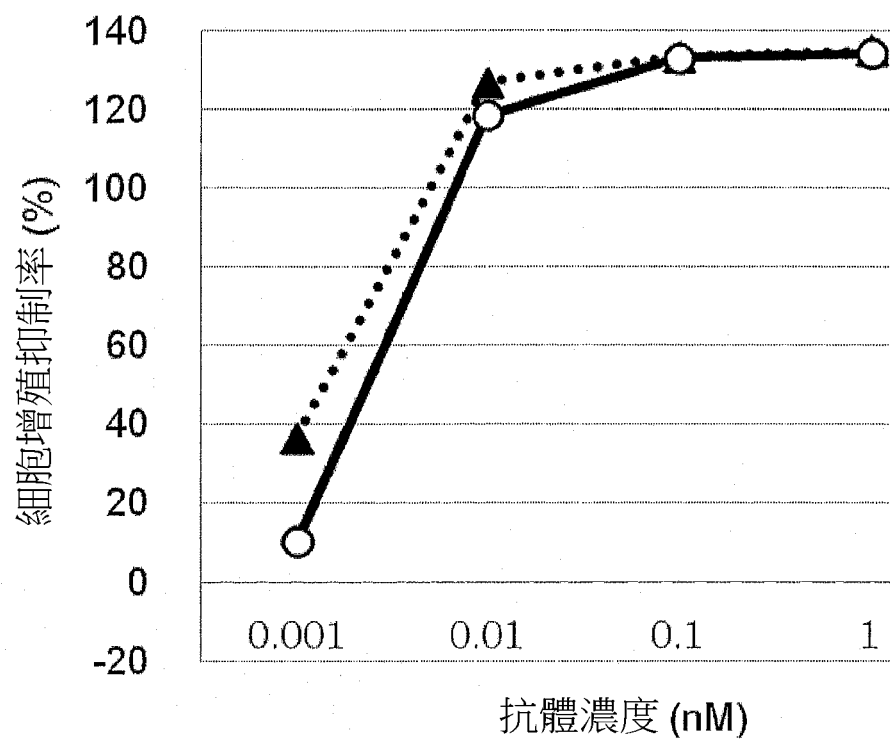


圖22

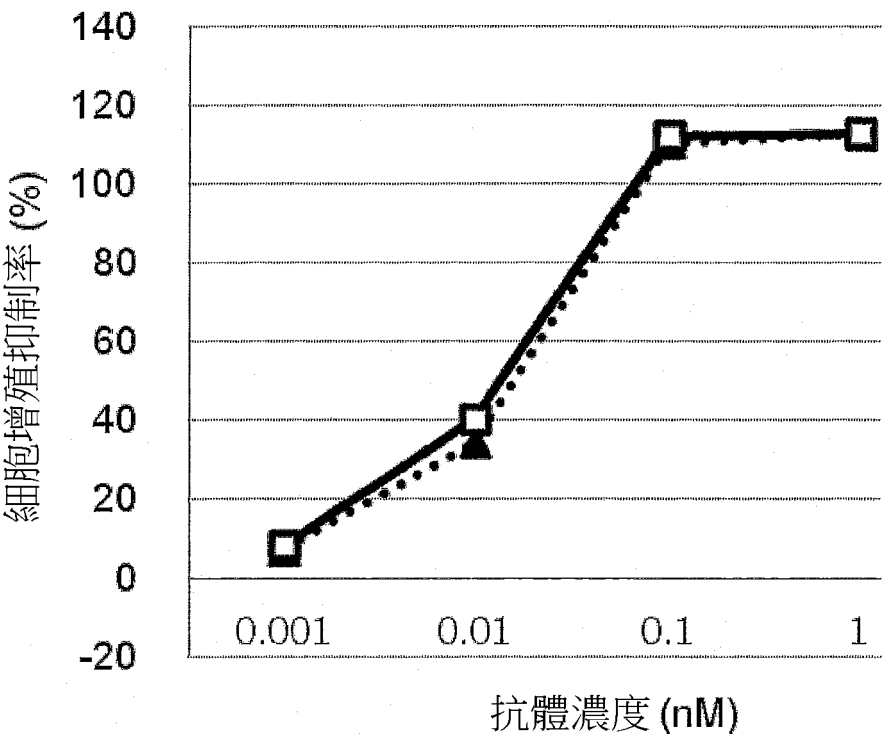


圖23

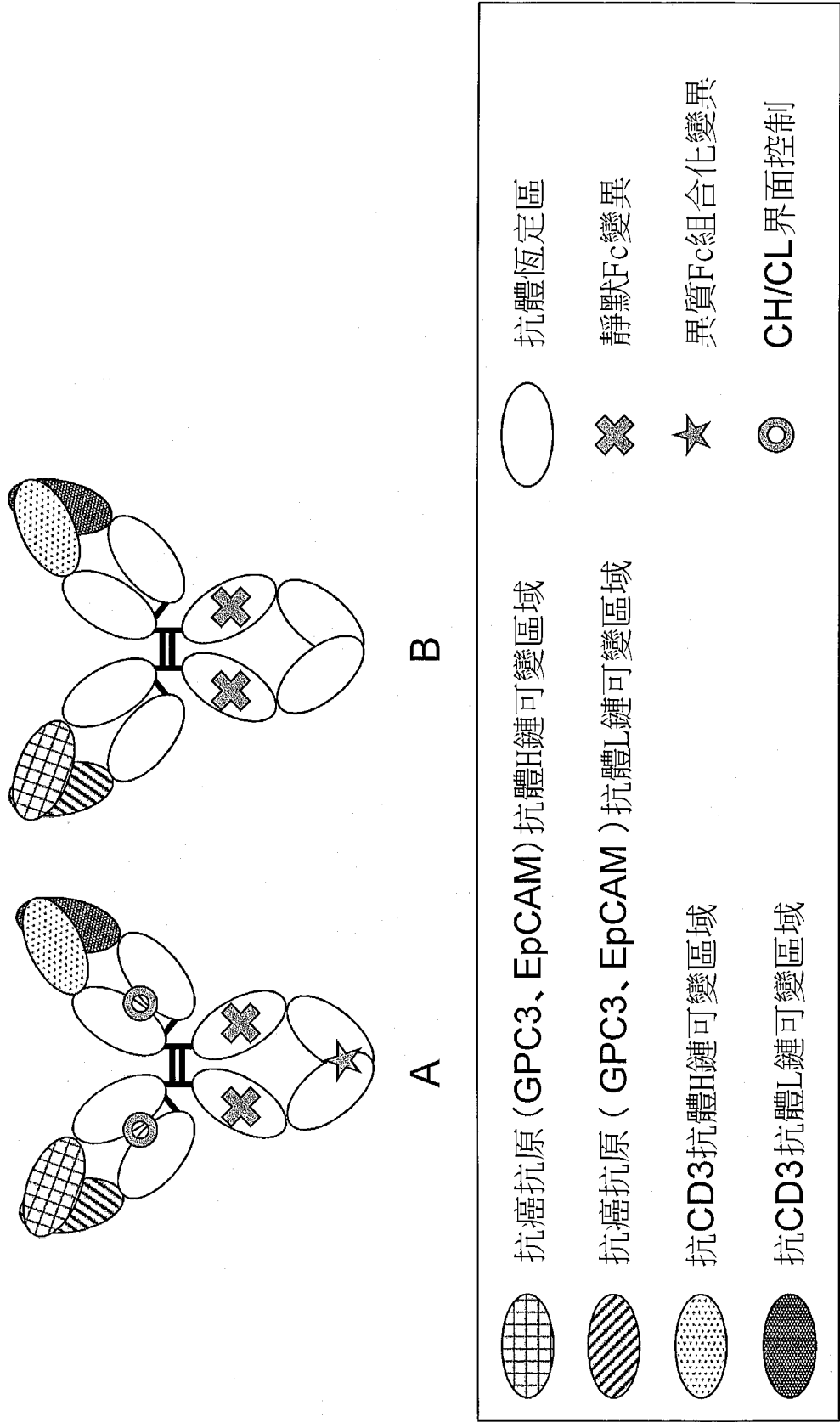


圖24

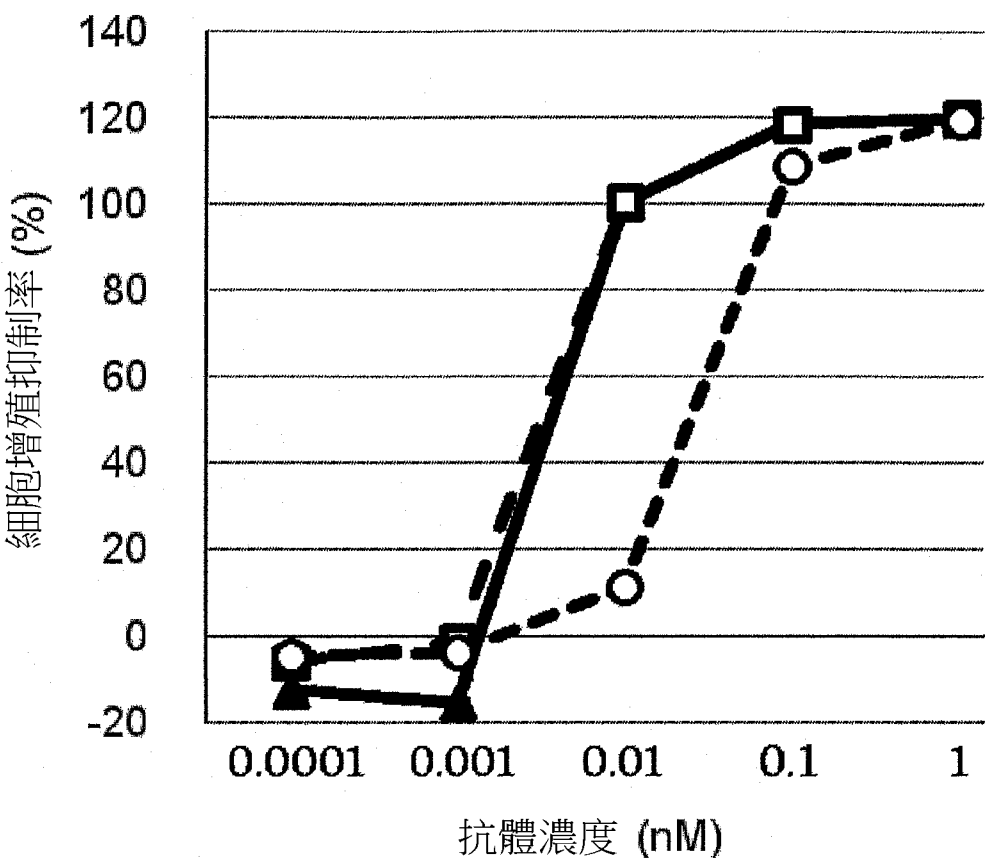


圖25

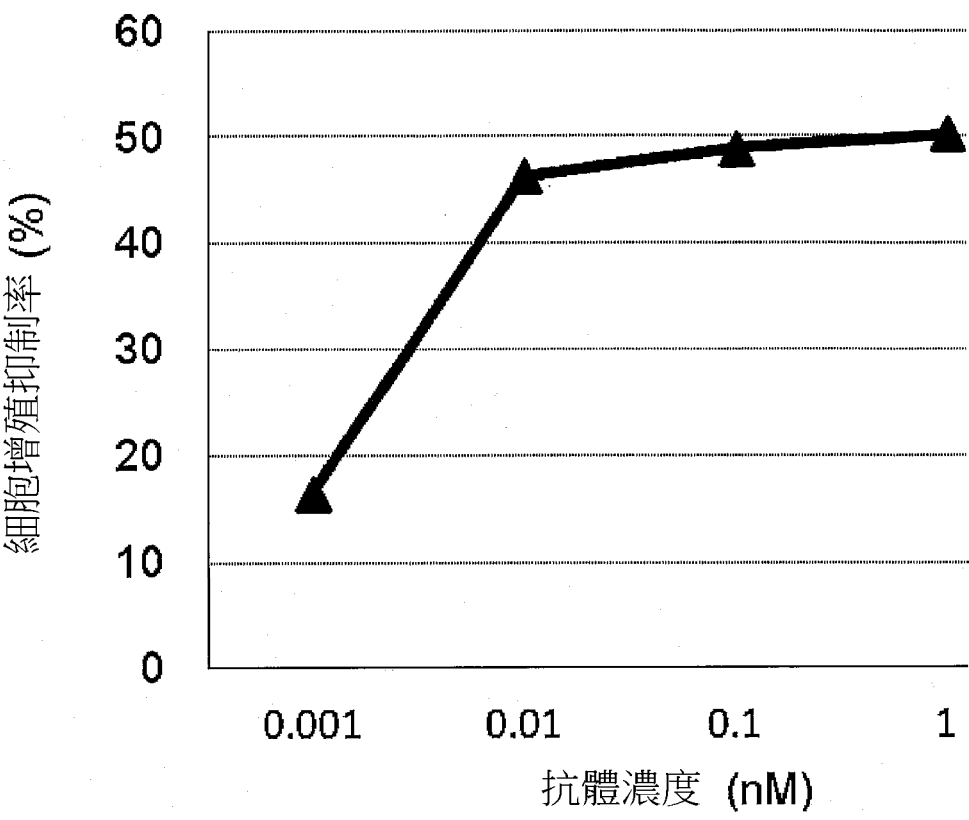


圖26